

V Российский симпозиум с международным участием

Клеточная сигнализация: итоги и перспективы

Казань,
14–17 сентября 2021 года

*тезисы
докладов*



V Russian symposium with international contributions

Cell Signaling: Conclusions and Perspectives

Kazan, September 14–17, 2021

abstracts



MINISTRY OF SCIENCE AND HIGHER EDUCATION OF THE RUSSIAN FEDERATION
RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES
FEDERAL RESEARCH CENTER
“KAZAN SCIENTIFIC CENTER OF THE RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES”
KAZAN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY AND BIOPHYSICS OF THE
KAZAN SCIENTIFIC CENTER OF THE RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES

CELL SIGNALING: CONCLUSIONS AND PERSPECTIVES

V RUSSIAN SYMPOSIUM WITH INTERNATIONAL CONTRIBUTIONS

ABSTRACTS

KAZAN, SEPTEMBER 14–17, 2021

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ
РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
«КАЗАНСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»
КАЗАНСКИЙ ИНСТИТУТ БИОХИМИИ И БИОФИЗИКИ
ФИЦ КАЗНЦ РАН

КЛЕТОЧНАЯ СИГНАЛИЗАЦИЯ: ИТОГИ И ПЕРСПЕКТИВЫ

V РОССИЙСКИЙ СИМПОЗИУМ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

КАЗАНЬ, 14–17 СЕНТЯБРЯ 2021 ГОДА

Симпозиум проводится при финансовой поддержке

- ООО НПФ «ТатХимПродукт»
- ООО НПФ «Биотехнологии»

ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ

ПРЕДСЕДАТЕЛЬ

Гречкин Александр Николаевич, д.х.н., академик РАН,
Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН,
Казань, Россия

УЧЁНЫЙ СЕКРЕТАРЬ

Минибаева Фарида Вилевна, д.б.н., Казанский институт биохимии
и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия

ЧЛЕНЫ ОРГАНИЗАЦИОННОГО КОМИТЕТА

Бекетт Ричард, профессор, Университет КваЗулу-Натал, ЮАР

Бухараева Эля Ахметовна, д.б.н., профессор, Казанский институт
биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия

Карпилова Ирина Юрьевна, к.б.н., Казанский институт биохимии
и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия

Лось Дмитрий Анатольевич, д.б.н., чл.-корр. РАН, Институт физиологии
растений РАН, Москва, Россия

Максимов Игорь Владимирович, д.б.н., Институт биохимии
и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия

Петров Алексей Михайлович, д.б.н., Казанский институт биохимии
и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия

Самигуллин Дмитрий Владимирович, к.б.н., Казанский институт
биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия

Тарчевский Игорь Анатольевич, д.б.н., академик РАН, Казанский
институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия

Тихонов Денис Борисович, д.б.н., чл.-корр. РАН, Институт эволюционной
физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия

Тихонович Игорь Анатольевич, д.б.н., академик РАН, Санкт-
Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Федина Евгения Олеговна, к.б.н., Казанский институт биохимии
и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия

Хузахметова Венера Фаритовна, к.б.н., Казанский институт биохимии
и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия

Чернов Владислав Моисеевич, д.б.н., профессор, Казанский институт
биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия

СОДЕРЖАНИЕ

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

- Роль цитокининов в снижении 24-эпибрассинолидом уровня повреждающего действия окислительного стресса в условиях засоления**
Авальбаев А.М., Аллагулова Ч.Р., Лубянова А.Р., Юлдашев Р.А., Зикрина И.И., Шакирова Ф.М. 2
- Исследование роли гормональной системы и активности генов защитных белков в проявлении протекторных эффектов NO на растения пшеницы при обезвоживании**
Аллагулова Ч.Р., Авальбаев А.М., Юлдашев Р.А., Лубянова А.Р., Масленникова Д.Р., Безрукова М.В., Плотников А.А., Федорова К.А., Ласточкина О.В., Шакирова Ф.М. 4
- Роль фитогормонов в реализации рост-стимулирующего и защитного действия эндофитных бактерий на растения пшеницы**
Аллагулова Ч.Р., Авальбаев А.М., Юлдашев Р.А., Ласточкина О.В. 6
- Зависит ли рост стимулирующее действие ризосферных бактерий от способности растений продуцировать АБК в стрессовых и оптимальных условиях?**
Ахтямова З.А., Архипова Т.Н., Мартыненко Е.В., Нужная Т.В., Кузьмина Л.Ю. 8
- Световой стресс в лишайниках: фотозащита и сигналинг**
Беккет Р.П., Минибаева Ф.В. 10
- Бутират натрия восстанавливает отставленную условно-рефлекторную память о страхе у крыс**
Винарская А.Х., Рощин М.В., Балабан П.М., Зюзина А.Б. 12
- Изменение уровня стигмастерина в проростках пшеницы при действии различных стрессовых факторов**
Валитова Ю.Н., Ренкова А.Г., Хабибрахманова В.Р., Мухитова Ф.К., Рахматуллина Д.Ф., Викторова Л.В., Галеева Е.И., Трифонова Т.В., Пономарева А.А., Минибаева Ф.В. 14
- Роль серотонина, глутамата и оксида азота в формировании условных оборонительных рефлексов у виноградной улитки**
Гайнутдинов Х.Л., Андрианов В.В., Богодвид Т.Х., Головченко А.Н., Дерябина И.Б., Лазутин С.А., Муранова Л.Н., Силантьева Д.И., Шихаб А.В. 16
- Особенности биосинтеза, инактивации и сигналинга ауксина при формировании узорчатой древесины карельской берёзы**
Галибина Н.А., Тарелкина Т.В., Чирва О.В., Мощенская Ю.Л., Никерова К.М., Иванова Д.С., Семенова Л.И., Серкова А.А., Новицкая Л.Л. 18

Спонтанные глутамат- и ГАМК-опосредованные токи в нейронах гиппокампа новорожденных крысят в условиях пренатальной гипергомоцистеинемии	
Гатаулина Э.Д., Курмашова Е.Д.	20
Круговорот абсцисовой кислоты с участием ризосферных бактерий	
Гоголев Ю.В., Гоголева Н.Е., Юзихин О.С., Белимов А.А., Шапошников А.И., Хамо Хамза, Еремеккалиев Т.С., Осипова Е.В., Коннова Т.А.	22
Оценка вирулентности полевых изолятов <i>Microdochium nivale</i>	
Гоголева О.А., Пономарева М.Л., Пономарев С.Н., Мещеров А.Р., Гоголева Н.Е., Петрова О.Е., Осипова Е.В., Гоголев Ю.В., Горшков В.Ю.	23
Влияние адгезии различных по азотфиксирующей эффективности штаммов <i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>viciae</i> на уровни цАМФ и H₂O₂ в клетках корней проростков гороха	
Гончарова А.М., Ломоватская Л.А., Кузакова О.В.	25
Трансформация латентных инфекций, вызываемых пектобактериями, в манифестные: физиологические критерии и молекулярные «игроки»	
Горшков В.Ю., Парфирова О.И., Церс И.Д., Исламов Б.Р., Петрова О.Е., Гоголева Н.Е., Агеева М.В., Воробьев В.Н., Гоголев Ю.В.	26
Лектины как компонент сигнальных систем растения	
Горшкова Т.А.	28
Салициловая кислота индуцирует хитиназа-подобные белки в корнях гороха	
Егорова А.М.	29
Холинергическая регуляция входа кальция в моторное нервное окончание мышцы	
Жиляков Н.В., Самигуллин Д.В.	31
Липидные рафты как принцип организации пресинаптического везикулярного цикла	
Закирьянова Г.Ф., Мухутдинова К.А., Кузнецова Е.А., Петров А.М.	33
Роль P2Y рецепторов в регуляции сигнальных путей в скелетной мышце при трёхсуточной функциональной разгрузке	
Зарипова К.А., Мочалова Е.П., Белова С.П., Шенкман Б.С., Немировская Т.Л.	35
Каспазо-подобная протеаза как фактор механизма самонесовместимости S-РНК типа у петунии (<i>Petunia hybrida</i> L)	
Захарова Е.В., Демьянчук И.С., Соболев Д.С., Зинкевич В.В., Ковалева Л.В.	36
Изменение ядерного и цитозольного кальциевого сигналов в премоторных интернейронах оборонительного поведения виноградной улитки под действием серотонина	
Зюзина А.Б., Смирнов И.В., Балабан П.М.	38

Роль экзополисахаридов пектобактерий в растительно-микробном взаимодействии	
Исламов Б.Р., Горшков В.Ю., Петрова О.Е., Микшина П.В., Бурыгин Г.Л., Кадыйров А.И., Воробьев В.Н., Гоголев Ю.В.	40
Влияние блокады мускариновых холинорецепторов M1 подтипа на синаптическую передачу возбуждения в нервно-мышечных контактах лягушки	
Ковязина И.В., Ленина О.А.	42
Молекулярная сигнализация в клетках <i>Solanum bulbocastanum</i> в ответ на заражение <i>Pectobacterium versatile</i>	
Колубако А.В., Николайчик Е.А.	44
Механизмы действия АТФ и его взаимодействия с сероводородом в тригеминальной системе крысы	
Королёва К.С., Ермакова Е.В., Ситдикова Г.Ф.	46
Анализ про-ноцицептивной роли потенциалзависимых калиевых каналов в регуляции возбудимости менингеальных афферентов тройничного нерва	
Королёва К.С., Ермакова Е.В., Буглинина А.Д., Ситдикова Г.Ф.	48
Изменение редокс-метаболизма в мозге крыс с пренатальной гипергомоцистеинемией	
Краснова А.Н., Сабанцев М.О., Яковлев А.В., Дмитриева С.А.	50
Сигнальные системы, участвующие в регуляции водного обмена растений при их взаимодействии с ризобактериями	
Кудоярова Г.Р., Архипова Т.Н., Мартыненко Е.В.	52
Адренергическая регуляция сократимости миокарда предсердий мышив условиях моделирования гипергомоцистеинемии	
Кунцевич Е.С., Гиляева А.А., Хаертдинов Н.Н., Блохина А.С.	54
Влияние эффекторов Ca²⁺-сигнальной системы и олигосахарина (OSRG) на ИУК-индуцируемое формирование адвентивных корней	
Ларская И.А., Горшков О.В., Трофимова О.И., Горшкова Т.А.	56
Трофотропный эффект неквантового ацетилхолина в норме и на модели хронической воспалительной демиелинизирующей полиневропатии <i>in vitro</i>	
Лопатина Е.В., Гавриченко А.В., Пасатецкая Н.А., Климшин С.И., Соколова М.Г.	57
Участие оксида азота в метилжасмонат-опосредованной регуляции водного обмена растений пшеницы при дефиците воды	
Лубянова А.Р., Васильев И.Д., Безрукова М.В., Шакирова Ф.М.	59
Исследование роли GSK-3 в регуляции митохондриального биогенеза в постуральной мышце крысы в условиях функциональной разгрузки	
Львова И.Д., Шарло К.А., Рожков С.В., Мирзоев Т.М., Шенкман Б.С.	61
НО-опосредованная аутофагия: нитрозилирование белков	
Мазина А.Б., Газизова Н.И., Даминова А.Г., Сибгатуллина Г.В., Минибаева Ф.В.	62

Роль пероксида водорода в снижении негативного действия засухи в растениях пшеницы под влиянием эндофитных бактерий и их композиции с салициловой кислотой	
Роль пероксида водорода в реализации устойчивости растений томата, трансгенных по гену <i>psl</i> и <i>rapA1</i>, при действии <i>Rhizobium leguminosarum</i> в условиях кадмиевого стресса	
Масленникова Д.Р., Чубукова О.В., Вершинина З.Р.	66
Адаптация к стрессорам и эволюция вирулентности у микоплазм: молекулярные основы развития резистентности к фторхинолонам у <i>Acholeplasma laidlawii</i>	
Медведева Е.С., Музыкантов А.А., Костенко В.В., Баранова Н.Б., Маркелова М.И., Сабуни Р.Г., Хуснутдинова Д.Р., Чернова О.А., Чернов В.М.	68
Разнообразие возбудителей розовой снежной плесени и их устойчивость к фунгицидам	
Мещеров А.Р., Гоголева О.А., Пономарева М.Л., Пономарев С.Н., Балкин А.С., Гоголева Н.Е., Петрова О.Е., Осипова Е.В., Гоголев Ю.В., Горшков В.Ю.	70
Анализ экспрессии генов лектинов льна с помощью FIBexDB	
Мокшина Н.Е., Петрова Н.В., Горшкова Т.А.	72
Этилен как фактор восприимчивости растений к возбудителям мягких гнилей	
Моруженкова В.А., Горшков В.Ю., Гоголев Ю.В., Парфирова О.И., Петрова О.Е.	73
Внеклеточные везикулы микоплазм способны проникать в клетки эукариот и индуцировать изменения клеточного протеома	
Музыкантов А.А., Рожина Э.В., Фахруллин Р.Ф., Гомзикова М.О., Золотых М.А., Чернова О.А., Чернов В.М.	75
Роль АТФ-зависимого сигнального пути в регуляции генной экспрессии скелетных мышц при их функциональной разгрузке	
Немировская Т.Л., Белова С.П., Зарипова К.А., Мочалова Е.П.	77
Газообразные сигнальные молекулы в действии.	
Этилен и проблемы сигналинга	
Новикова Г.В., Мошков И.Е.	78
Использование ложного флуоресцентного нейромедиатора FFN511 для визуализации нейротрансмиссии в пресинаптических варикозах предсердия мыши	
Одношивкина Ю.Г., Петров А.М.	79
Анализ экспрессии генов пероксидаз I и III классов во мхе <i>Dicranum scoparium</i> при абиотических стрессах	
Онеле А.О., Мазина А.Б., Лексин И.Ю., Часов А.В., Минибаева Ф.В.	81
Фосфонаты фитопатогенных пектобактерий как участники растительно-микробного взаимодействия	
Парфирова О.И., Горшков В.Ю., Петрова О.Е., Смолобочкин А.В., Исламов Б.Р., Гоголева Н.Е., Гоголев Ю.В.	83

Изучение селективных блокаторов M1 и M2 подтипов мускариновых холинорецепторов в качестве антидотов при отравлении фосфорорганическими пестицидами Петров К.А., Ленина О.А.	85
Киназы с лектиновыми доменами в процессах формирования клеточной стенки у льна: анализ на уровне экспрессии генов Петрова Н.В., Горшкова Т.А.	86
Строгий ответ – древнейший сигнальный путь от бактерий до растений Петрова О.Е., Парфирова О.И., Горшков В.Ю.	87
Изменение цитозольного рН и электрических сигналов у растений картофеля, вызванное различными стрессорирующими воздействиями Печёрина А.А., Агеева М.Н., Гринберг М.А., Здобнова Т.А., Брилкина А.А., Воденев В.А.	89
Контактные зоны мембран эндоплазматического ретикулума и их роль в стрессовом ответе Пономарева А.А., Дмитриева С.А.	91
Применение фотофармакологических подходов для модуляции тормозных постсинаптических токов Пономарева Д.Н., Петухова Е.О., Брежестовский П.Д.	92
Изменение внутриклеточной концентрации ионов хлора и водорода при высокочастотной стимуляции Пономарева Д.Н., Петухова Е.О., Брежестовский П.Д.	94
Сравнительный анализ участия BDNF и proBDNF в регуляции синаптической передачи в моторных синапсах, находящихся на разных стадиях функциональной зрелости Правдивцева Е.С., Молчанова А.И., Богачева П.О., Балезина О.П.	96
Меланины лишайников <i>Cetraria islandica</i> и <i>Lobaria pulmonaria</i>: тесное взаимодействие на пути к защите Рассабина А.Е., Хабибрахманова В.Р., Минибаева Ф.В.	98
Роль GSK-3-зависимого сигналинга в регуляции трансляционной ёмкости в постуральной мышце крысы в условиях функциональной разгрузки Рожков С.В., Шарло К.А., Шенкман Б.С., Мирзоев Т.М.	100
Разнообразие возбудителей серой (крапчатой) снежной плесени и их вирулентность Рязанов Е.А., Мещеров А.Р., Гоголева О.А., Пономарева М.Л., Пономарев С.Н., Горшков В.Ю.	102
Секреция ацетилхолина в нервно-мышечном синапсе: участие пресинаптических рецепторов и кальциевых каналов Самигуллин Д.В., Жилияков Н.В., Архипов А.Ю., Нуруллин Л.Ф., Хазиев Э.Ф.	104
Элементы ГАМКергической сигнализации в процессе развития поперечно-полосатой мышечной ткани млекопитающих Сибгатуллина Г.В., Маломуж А.И.	105

Корреляция внутриклеточной и внеклеточной активности во время развития фокальных эпилептиформных разрядов в зрелом мозге крысы <i>in vivo</i>	
Ситдикова В.Р., Шумкова В.В., Минлебаев М.Г.	107
Роль калиевых каналов в эффектах сероводорода на сократимость гладкомышечных клеток тощей кишки крысы	
Сорокина Д.М., Шайдуллов И.Ф., Ситдикова Г.Ф., Ситдииков Ф.Г.	109
Анализ последовательностей генов ферментов биосинтеза фосфонатов у фитопатогенных бактерий	
Сыромятникова Е.Д., Горшков В.Ю., Парфирова О.И., Гоголев Ю.В.	111
Пролинология. Итоги и перспективы	
Тарчевский И.А.	113
Структурно-функциональная характеристика белка Svx – предполагаемого фактора вирулентности <i>Pectobacterium atrosepticum</i>	
Тендюк Н.В., Горшков В.Ю., Гоголева Н.Е., Коннова Т.А., Осипова Е.В., Гоголев Ю.В.	114
Влияние ограничения двигательной активности на сигнальные маркеры протеостаза в скелетной мышце	
Тыганов С.А., Белова С.П., Мочалова Е.П., Шенкман Б.С.	116
Исследование экспрессии синаптофизина и PSD95 в мотонейронах спинного мозга трансгенных FUS-мышей	
Тяпкина О.В., Нуруллин Л.Ф., Хабибрахманов А.Н., Мухамедьяров М.А.	117
Анализ N-гликопротеомных профилей в различных тканях стебля льна	
Федина Е.О., Ларская И.А., Ибрагимова Н.Н.	119
Вопросы кластерного анализа активности тригеминального нерва в менингеальной оболочке крысы	
Федорина А.И., Гафуров О.Ш.	121
Закисление внутриклеточной среды активирует митофагию и защищает клетки мозга в токсических и наследственных моделях болезни Паркинсона	
Федотова Е.И., Комилова Н.Р., Надеев А.Д., Крицкая К.А., Абрамов А.Ю., Бережнов А.В.	122
Участие 2-арахидоноил-глицерина в регуляции спонтанной и вызванной секреции ацетилхолина в моторных синапсах мышцы	
Хоткина Н.А., Тарасова Е.О., Гайдуков А.Е., Балезина О.П.	124
Применение РНК-секвенирования для поиска потенциальных регуляторов взаимодействия между пектобактериями и растениями	
Церс И.Д., Горшков В.Ю., Гоголева Н.Е., Гоголев Ю.В.	126
Динамика развития ранней неонатальной эпилептической активности вызванной инъекцией эпилептогена <i>in vivo</i>	
Шарипзянова Л., Якупова А., Речапов И., Минлебаев М.	128

Опорная афферентация регулирует экспрессию «медленной» изоформы миозина и биогенез митохондрий и предотвращает вызванную функциональной разгрузкой утомляемость в камбаловидной мышце крысы	
Шарло К.А., Львова И.Д., Тыганов С.А., Шенкман Б.С.	130
Влияние ионотропных глутаматных рецепторов на развитие распространяющейся кортикальной депрессии у крыс с пренатальной гипергомоцистеинемией	
Шахматова В.И., Яковлев А.В.	132
Ранние сигнальные ответы и мессенджеры постуральной мышцы в условиях безопорности	
Шенкман Б.С., Мирзоев Т.М., Вильчинская Н.А.	134
Метод детектирования нейронов и глии при межклеточной передаче митохондрий	
Широкова О.М., Першин В.И., Мухина И.В.	136
Влияние уретана и изофлурана на кортикальный функциональный и гемодинамический ответы в бочонковой коре новорожденной крысы	
Шумкова В.В., Ситдикова В.Р., Минлебаев М.Г.	138
Роль ИУК в повышении эндобактериями <i>B. subtilis</i> 26Д и 10-4 засухоустойчивости яровой мягкой пшеницы сорта Экада 70	
Юлдашев Р.А., Ласточкина О.В., Аллагулова Ч.Р., Авальбаев А.М., Шакирова Ф.М., Дмитриева А.Н., Зикрина И.И.	140
Роль эндогенных тиолов – гомоцистеина и сероводорода в развитии нейрональной сети гиппокампа крыс в онтогенезе	
Яковлев А.В., Ситдикова Г.Ф.	142
Нейроимиджинг-регистрация вызванной фокальной эпилептиформной активности в соматосенсорной коре новорожденной крысы	
Якупова А.И., Шарипзянова Л.С., Минлебаев М.Г.	144
Салицилат- и жасмонат-опосредованная регуляция активности защитных белков в растениях картофеля при обработке <i>Bacillus subtilis</i> и инфицировании <i>Phytophthora infestans</i> в условиях засухи	
Яруллина Л.Г., Цветков В.О., МаксUTOва В.О., Бурханова Г.Ф., Калацкая Ж.Н.	146
АВТОРСКИЙ ИНДЕКС	148

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

Роль цитокининов в снижении 24-эпибрассинолидом уровня повреждающего действия окислительного стресса в условиях засоления

Авальбаев А.М.¹, Аллагулова Ч.Р.¹, Лубянова А.Р.¹, Юлдашев Р.А.¹,
Зикрина И.И.², Шакирова Ф.М.¹

¹ Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия

² Башкирский государственный университет, Уфа, Россия

e-mail: avalbaev@yahoo.com

The role of cytokinins in the reduction of the damaging effect of oxidative stress by 24-epibrassinolide under salinity conditions

Avalbaev A.M.¹, Allagulova Ch.R.¹, Lubyanova A.R.¹, Yuldashev R.A.¹,
Zikrina I.I.², Shakirova F.M.¹

¹ Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Centre, RAS, Ufa, Russia

² Bashkir State University, Ufa, Russia

Брассиностероиды – фитогормоны стероидной природы, пристальное внимание к которым вызвано их ярко выраженными ростстимулирующим и протекторным эффектами. Ранее в наших исследованиях было выявлено, что обработка проростков пшеницы 24-эпибрассинолидом (ЭБ), представителем брассиностероидов, вызывает стойкое двукратное накопление цитокининов (ЦК) на фоне отсутствия какого-либо эффекта на содержание ИУК и АБК. В ходе дальнейших экспериментов нами были получены приоритетные данные о способности ЭБ регулировать содержание ЦК в растениях пшеницы путём усиления новообразования ЦК и торможения активности и экспрессии гена цитокининоксидазы, ключевого фермента деградации ЦК. В связи с этим, можно полагать, что эндогенные цитокинины играют важную регуляторную роль в реализации защитного действия ЭБ на растения пшеницы, поскольку известно, что ЦК характеризуются способностью повышать устойчивость растений. Сравнение эффектов ЭБ и ЦК на физиологические и биохимические параметры растений пшеницы в условиях засоления может помочь в выявлении роли цитокининов в защитном действии ЭБ. Поскольку неблагоприятные факторы приводят к окислительному стрессу, обусловленному нарушением баланса про-/антиоксидантов и усилением перекисного окисления липидов (ПОЛ), то можно ожидать, что активация антиоксидантной защиты фитогормонами может вносить существенный вклад в их протекторный эффект. В данной работе для выявления значения эндогенных ЦК в реализации защитного действия 24-эпибрассинолида, нами был проведён сравнительный анализ влияния ЭБ и цитокинина 6-бензиламинопурина (БАП) на состояние про-/антиоксидантной систем в растениях пшеницы в условиях солевого стресса. Засоление вызывало в растениях более чем двукратное увеличение концентрации активных форм кислорода (АФК) с практически одновремен-

ным существенным возрастанием активности супероксиддисмутазы (СОД) и постепенным увеличением активности пероксидазы, ферментов, участвующих в нейтрализации АФК. Сама обработка ЭБ и БАП (до стресса) привела к небольшому обратимому увеличению концентрации АФК, не приводящей, однако, к повреждению проростков. Это, по-видимому, обусловлено одновременным транзитным повышением активности СОД и пероксидазы в растениях в ходе обработки гормонами. Вместе с тем, небольшой уровень АФК может иметь важное значение для проявления преадаптирующего действия ЭБ и БАП на проростки к последующему стрессу, поскольку известно, что АФК могут выступать в качестве сигнальных молекул в запуске защитных реакций. Можно полагать, что индуцируемые обработкой ЭБ и БАП небольшие обратимые изменения в состоянии про-/антиоксидантной систем способны вносить существенный вклад в преадаптацию растений к последующему стрессу. Действительно, в условиях засоления предобработанные ЭБ и БАП растения в равной степени характеризовались значительно меньшим уровнем продукции АФК и, соответственно, меньшим уровнем активации СОД и пероксидазы в сравнении с необработанными растениями. Таким образом, предобработка ЭБ и БАП способствует сопоставимому снижению уровня повреждающего действия индуцированного засолением окислительного стресса на растения, что нашло отражение в заметном снижении концентрации малонового диальдегида, конечного продукта ПОЛ, и существенном уменьшении экзоосмоса электролитов из тканей предобработанных гормонами растений. Следовательно, эндогенные цитокинины, количественный уровень которых находится под контролем ЭБ, могут вносить определённый вклад в реализацию антистрессового действия 24-эпибрассинолида на растения пшеницы.

Работа выполнена в рамках госзадания АААА-А21-121011990120-7 и при частичной поддержке гранта РФФИ № 20-04-00904.

Исследование роли гормональной системы и активности генов защитных белков в проявлении протекторных эффектов NO на растения пшеницы при обезвоживании

Аллагулова Ч.Р., Авальбаев А.М., Юлдашев Р.А., Лубянова А.Р., Масленникова Д.Р., Безрукова М.В., Плотников А.А., Федорова К.А., Ласточкина О.В., Шакирова Ф.М.

Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия

e-mail: allagulova-chulpan@rambler.ru

The role of the hormonal system and genes of defense proteins in the protective effects of NO on wheat plants during dehydration

Allagulova Ch.R., Avalbaev A.M., Yuldashev R.A., Lubyanova A.R., Maslennikova D.R., Bezrukova M.V., Plotnikov A.A., Fedorova K.A., Lastochkina O.V., Shakirova F.M.

Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Centre, RAS, Ufa, Russia

Исследовали влияние предобработки 3-сут проростков пшеницы *Triticum aestivum* L. донором оксида азота (NO) нитропруссидом натрия (SNP – sodium nitroprusside) в концентрации 200 мкМ на различные физиолого-биохимические показатели при воздействии обезвоживания, моделируемого 12 %-ным ПЭГ. Сравнительный анализ ростовых параметров показал, что обработка SNP оказывала стимулирующее действие на рост проростков пшеницы, о чём судили по их линейным размерам, показателям сырой и сухой массы, и митотическому индексу (МИ) апикальной меристемы корней. ПЭГ-индуцированное обезвоживание вызвало резкое торможение роста проростков, тогда как SNP-предобработка способствовала предотвращению повреждающего действия стресса на рост. Ключевая роль в регуляции роста растений отводится гормональной системе, в связи с чем была проведена оценка содержания цитокининов, ИУК и АБК в предобработанных и необработанных SNP проростках в норме и при обезвоживании. NO оказывал влияние на состояние гормональной системы проростков пшеницы, которое отразилось в двукратном увеличении содержания цитокининов на фоне отсутствия значимых изменений в количестве ИУК и некоторого повышения уровня АБК в нормальных условиях произрастания. Обезвоживание вызвало сдвиги в балансе фитогормонов, связанные с увеличением содержания АБК и падением уровня цитокининов и ИУК. Предобработанные SNP и подвергнутые стрессу проростки характеризовались существенно меньшим накоплением АБК, уменьшением падения количества ИУК и поддержанием концентрации цитокининов на уровне близком к контролю. В условиях водного стресса индуцированное АБК закрытие устьиц способствует уменьшению потерь воды растениями, что отражается в снижении показателя относительного содержания воды (ОСВ) и уменьшения осмотического потенциала клеточно-

го сока, а также к снижению интенсивности транспирации. Предобработка проростков SNP способствовала нормализации показателей водного обмена. Важная роль в формировании засухоустойчивости принадлежит белкам дегидринам и типичному представителю лектинов злаков агглютинину зародыша пшеницы (АЗП). Для выявления участия дегидринов и АЗП в развитии NO-индуцированной устойчивости пшеницы к обезвоживанию был проведён анализ транскрипционной активности генов *TADHN*-дегидрина и АЗП в SNP-предобработанных и подвергнутых обезвоживанию проростках. Засуха индуцировала активность обоих генов, хотя динамика накопления их транскриптов несколько различалась. К 3-м ч стресса наблюдалось 1,5-кратное повышение транскрипции АЗП, которое увеличилось вдвое к 6 ч стресса, а к 9 ч опыта её уровень понизился. Максимальные уровни транскрипции *TADHN* гена выявлялись к 9 ч стресса. Обработка SNP в норме приводила к транзиторному увеличению транскриптов обоих генов к 6 ч обработки. В SNP-предобработанных образцах наблюдалось дополнительное усиление экспрессии *TADHN* гена в ответ на засуху, что может играть свою роль в проявлении протекторного действия NO при обезвоживании. В случае лектина предобработка SNP способствовала снижению стресс-индуцируемого накопления его транскриптов, что может свидетельствовать о вовлечении АЗП в преадаптирующее действие NO к последующему стрессу. Совокупность полученных данных указывает, что важный вклад в рост-стимулирующее и защитное действие оксида азота на растения пшеницы в норме и при обезвоживании может вносить его способность оказывать влияние на скорость деления клеток, состояние гормональной системы проростков, их водный статус, а также экспрессию генов защитных белков.

Работа выполнена в рамках госзадания АААА-А21-121011990120-7 и при поддержке гранта РФФИ № 20-04-00904.

Роль фитогормонов в реализации рост-стимулирующего и защитного действия эндофитных бактерий на растения пшеницы

Аллагулова Ч.Р., Авальбаев А.М., Юлдашев Р.А., Ласточкина О.В.

Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия

e-mail: allagulova-chulpan@rambler.ru

Role of phytohormones in the growth-stimulating and protective effects of endophytic bacteria on wheat plants

Allagulova Ch.R., Avalbaev A.M., Yuldashev R.A., Lastochkina O.V.

Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Centre, RAS, Ufa, Russia

В связи глобальными климатическими изменениями растет частота экстремальных явлений, в частности засухи, отрицательно воздействующей на фундаментальные метаболические процессы растительных организмов, таких как фотосинтез, дыхание, биосинтез белка, что приводит к торможению роста и снижению продуктивности культурных растений, включая пшеницу. В практике для снижения потерь урожая традиционно применяются агрохимикаты, представляющих серьёзную угрозу для здоровья человека и безопасности окружающей среды. Поэтому одной из ключевых проблем становится поиск эффективных и экологически безопасных способов защиты растений. Всё больший интерес вызывает возможность применения полезных рост-стимулирующих микроорганизмов (*PGPB* – *plant growth-promoting bacteria*), в частности, эндофитных бактерий *Bacillus subtilis*, способных колонизировать внутренние ткани своих растений-хозяев и оказывать положительное влияние на их метаболизм в ходе всего жизненного цикла, сохраняя свои защитные свойства в послеуборочный период. Вместе с тем для обоснования практического применения эндофитов необходимо понимание молекулярных механизмов, лежащих в основе их влияния на культурные растения. Ключевая роль в регуляции роста и развития растений, а также формирования их стрессоустойчивости принадлежит гормональной системе. Накоплен большой массив данных, указывающих на то, что важный вклад в проявление рост-стимулирующих и защитных свойств эндофитных бактерий вносит их способность оказывать влияние на состояние гормональной системы своих растений-хозяев, и самим продуцировать широкий спектр различных биологически активных соединений: биосурфактантов, сидерофоров, витаминов, а также веществ с гормональной активностью, таких как ауксины, цитокинины, гиббереллины, АБК. Для бактерий *Bacillus subtilis* характерна способность к синтезу ауксинов, контролирующим развитие сосудистых тканей, растяжение клеток и апикальное доминирование в растениях. Получены данные о благоприятном действии синтезируемой эндофитами ИУК на корневую систему растений, что может способствовать улучшению потребления микро- и

макроэлементов, ускорению роста растений и формированию устойчивости к дефициту влаги. Для представителей рода *Bacillus* выявлена способность продуцировать цитокинины. Получены сведения о стимуляции роста и накопления биомассы при инокуляции растений цитокинин-продуцирующими бактериями. Одним из механизмов, который используется бактериями для стимуляции роста растений, является снижение в них уровня этилена путём дезаминирования его предшественника – 1-аминоциклопропан-1-карбоксилата (АЦК), являющегося источником питания для ряда *PGPB*. Этилен вовлекается в регуляцию выхода из состояния покоя и прорастания семян, однако, если его уровень после прорастания остается повышенным, замедляется рост корней. Утилизация бактериями АЦК способствует снижению уровня этилена в корнях и усилению роста растений. Важная роль в развитии стрессоустойчивости принадлежит АБК, индуцирующей переход растений к состоянию покоя и торможению роста при стрессе. Однако данные о развитии карликовости АБК-дефицитных мутантов, указывает на её необходимость в поддержании нормального роста. В условиях засухи АБК контролирует закрытие устьиц, направленное на поддержание водного статуса растений. Имеются сведения о снижении повреждающего действия засухи в растениях при использовании АБК-продуцирующих штаммов бактерий рода *Bacillus*. Для некоторых представителей эндофитных *PGPB* выявлена способность синтезировать салициловую кислоту (СК) и жасмонаты, играющих важную роль в реакциях фитоиммунитета и развития устойчивости к стрессам за счёт активации СК- и жасмонат-зависимых защитных сигнальных путей. Таким образом, способность эндофитных бактерий оказывать влияние на фитогормональный баланс, может вносить существенный вклад в проявление их рост-стимулирующего и защитного действия на растения пшеницы в условиях засухи, что имеет важное практическое значение.

Работа выполнена в рамках госзадания АААА-А21-121011990120-7, при поддержке гранта РФФИ № 19-016-00035 и Президента РФ № МК-643.2019.11.

Зависит ли рост стимулирующее действие ризосферных бактерий от способности растений продуцировать АБК в стрессовых и оптимальных условиях?

Ахтямова З.А., Архипова Т.Н., Мартыненко Е.В., Нужная Т.В.,
Кузьмина Л.Ю.

Уфимский институт биологии Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия

e-mail: akhtyamovazarina@gmail.com

Does plant growth promotion by rhizosphere bacteria depend on plant ability to produce ABA under stressful and optimal conditions?

Akhtyamova Z.A., Arkhipova T.N., Martynenko E.V., Nuzhnaya T.V.,
Kuzmina L.Yu.

Ufa Institute of Biology, Ufa Federal Research Centre, RAS, Ufa, Russia

Цель настоящей работы состояла в проверке зависимости роста стимулирующего действия ризосферных бактерий от способности растений продуцировать гормон абсцизовую кислоту (АБК), для чего было проведено сравнение реакции на бактериальную обработку у дефицитного по АБК мутанта ячменя Az34 и растений его исходного генотипа (сорта Steptoe) в норме и при действии засоления. Ранее было показано, что в отличие от растений исходного генотипа бактерии не стимулировали, а ингибировали рост мутанта томатов, дефицитного по АБК. Однако эти эксперименты проводили в оптимальных для роста условиях, в то время как роль АБК возрастает в условиях стресса. Кроме того, подобные исследования не проводили на однодольных растениях.

В ризосферу растений ячменя вводили бактерии *Bacillus subtilis* IB-22. За трое суток до начала эксперимента, песок в сосудах насыщали либо раствором Хогланда-Арнона, либо разведённым в нём 100 мМ NaCl. В каждый сосуд помещали по 10 семян, одновременно внося в ризосферу по 1 мл бактериальной суспензии на семя (10^7 КОЕ/мл). Содержание АБК определяли с помощью твёрдофазного иммуноферментного анализа. С помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени определяли уровень транскриптов генов ячменя, ответственных за метаболизм АБК: *HvNCED1* и *HvNCED2*, кодирующих диоксигеназу 9-цис-эпокароотиноидов (ключевой фермент синтеза АБК) и *HvCYP707A1*, кодирующий АБК гидроксилазу, катализирующую распад АБК. Уровень транскриптов *HvNCED1* и *HvNCED2* был на порядок выше в корнях, чем в побегах растений, что свидетельствует о том, что именно корни были источником АБК у растений ячменя этого возраста. Экспрессия гена *HvNCED2* возрастала под влиянием засоления и обработки бактериями, в то время как на уровень транскрипта *HvNCED1* эти воздействия не влияли. Поэтому основное внимание было уделено экспрессии генов *HvNCED2* и *HvCYP707A1* в корнях.

Предварительные эксперименты *in vitro* не выявили способности бактерий данного штамма синтезировать АБК или способствовать её деструкции, а добавление в питательный раствор хлорида натрия не оказывало влияния на эти процессы. Таким образом, было установлено, что бактерии не могут непосредственно влиять на содержание АБК в растениях. Тем не менее, введение бактерий в ризосферу приводило к повышению концентрации АБК в растениях, что в отсутствие стресса проявлялось в накоплении этого гормона в побегах, а на фоне засоления – в корнях. Поскольку было показано, что бактерии способны влиять на метаболизм АБК в самих растениях, дальнейшая работа была посвящена этому вопросу.

Как следовало ожидать, растения дефицитного по АБК мутанта Az34 отличались более низким уровнем этого гормона по сравнению с растениями Steptoe. При этом масса растений Az34, была меньше, чем у Steptoe. Результаты оценки массы растений противоречат исторически сложившимся представлениям о том, что АБК является ингибитором роста растений. Тем не менее, наши результаты соответствуют сведениям о том, что у дефицитного по АБК мутанта арабидопсиса проростки были более мелкими по сравнению с растениями дикого типа.

Засоление повышало уровень АБК в побегах, что сопровождалось снижением устьичной проводимости. Судя по уровню экспрессии генов, накопление АБК было связано с увеличением экспрессии гена *HvNCED2* и снижением *HvCYP707A1* при засолении. Содержание АБК и скорость роста растений возрастали под влиянием бактерий как у растений Az34, так и Steptoe, что также было обусловлено увеличением экспрессии гена *HvNCED2* и снижением экспрессии гена *HvCYP707A1* по сравнению с необработанным бактериями контролем. При этом в отсутствие засоления бактерии вызывали накопление АБК в побегах, а в присутствии NaCl – в корнях, что свидетельствует о влиянии бактерий не только на метаболизм, но и распределение гормона между побегом и корнем. Хотя эффект от действия бактерий более заметно проявлялся у растений сорта Steptoe, их рост стимулирующее действие было заметно также и у мутанта, что было связано с частичной нормализацией его гормонального баланса.

Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ № 20-34-90007.

Световой стресс в лишайниках: фотозащита и сигналинг

Беккет Р.П.¹, Минибаева Ф.В.²

¹ Университет КваЗулу-Натал, Питермарицбург, ЮАР

² Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

email: rpbeckett@gmail.com

Light stress in lichens: photoprotection and signalling

Beckett R.P.¹, Minibayeva F.V.²

¹ University of KwaZulu-Natal, Pietermaritzburg, South Africa

² Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

Lichens are symbiotic organisms, comprising a fungus (the mycobiont) and either an alga or a cyanobacterium (the photobiont). They range in size from tiny crusts less than 1 mm⁻² to pendulous forms that hang more than 2 m from tree branches. Lichenization is one of the most successful ways that fungi use to fulfill their need for carbohydrates, and about 20% of all fungi are lichenized. There are 13,500 species of lichens in the world, but lichenization is almost completely restricted to the Ascomycota. Lichens often grow in places where they are subjected to severe abiotic stresses such as desiccation, temperature extremes and high light intensities. What really makes lichens special, and what separates them from most other eukaryotic organisms, is their ability to tolerate desiccation. However, in addition to desiccation stress, in their natural habitats the light intensities experienced by lichens frequently exceed those that their photobionts can use to generate ATP and NADPH. The excess energy absorbed unavoidably leads to the production of reactive oxygen species (ROS). As a first line of defence, lichen photobionts dissipate excess energy as heat. This dissipation occurs in various ways, collectively referred to as non-photochemical quenching or NPQ. If excess light overwhelms thermal dissipation, the ROS produced can be scavenged using enzymatic or non-enzymatic antioxidants. Furthermore, the “PSII repair cycle” can be used to repair the D1 protein, a key but sensitive component of photosystem II. In addition, lichen mycobionts respond to high light by synthesizing cortical sun-screening secondary metabolites. The first aim of this lecture will be to review how these various mechanisms work together to ensure that lichens can display remarkable tolerance to high light stress. However, in addition to growing in exposed bright habitats, some lichens are rather “shade” species, for example those that grow on tree trunks. Shade lichens are often exposed to rapidly changing light levels, depending on diurnal variations in the angle of sunlight, tree architecture and movements of the branches of the trees. Lichens in such habitats experience rapidly changing levels of irradiance; the relatively brief periods that lichens are exposed to high light levels are known as “sunflecks”. A second aim of this lecture is to review our recent work on how lichens respond to such light environments by modulating NPQ. While NPQ reduces photoinhibition when light intensities are high, excessive NPQ can greatly reduce the quantum yield of photosynthesis

at lower light levels. Our results show that the main difference between sun and shade species is that shade species display a much faster drop or “relaxation” in NPQ at the end of a period of illumination. We suggest that this enables their photobionts to use efficiently the lower light levels that occur once a sunfleck has passed. Even one species can display significant variation, with shade populations displaying faster relaxation than those sampled from more open habitats. Recent studies with crop plants have suggested that fast relaxation of NPQ can increase yields; we suggest that comparative studies of sun and shade lichens may facilitate the bioengineering of other organisms to display accelerated responses to natural shading events.

This work is partly supported by University of KwaZulu-Natal, South Africa, and the government assignment of FRC Kazan Scientific Center of RAS, Russia. Authors are grateful for financial support of the Russian Science Foundation (№ 18-14-00198).

Бутират натрия восстанавливает отставленную условно-рефлекторную память о страхе у крыс

Винарская А.Х., Рошин М.В., Балабан П.М., Зюзина А.Б.

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук, Москва, Россия

e-mail: aliusha1976@mail.ru

Sodium butyrate restores remote long-term fear memory in rats

Vinarskaya A.Kh., Roshchin M.V., Balaban P.M., Zuzina A.B.

Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of RAS, Moscow, Russia

Одной из основных задач современной нейробиологии является изучение биохимических механизмов, лежащих в основе долговременного хранения информации клетками нервной системы. В качестве физиологического субстрата для пластических изменений в функциональных сетях нейронов были предложены обратимые посттрансляционные модификации гистонов.

Недавние исследования показали, что память можно модулировать с помощью ингибиторов гистондеацетилаз (HDAC) во время формирования, консолидации и реконсолидации памяти. В данной работе мы исследовали эффекты ингибирования HDAC во время реконсолидации долговременной обстановочной памяти у крыс. Общая цель этого исследования состояла в том, чтобы изучить способность ингибиторов HDAC восстанавливать угашенную временем память.

Опыты проводили на крысах линий Wistar Long-Evans (самцах и самках), массой 300–500 г, полученных из филиала института биоорганической химии РАН в Пущино. Ингибитор гистондеацетилаз бутират натрия растворяли в физиологическом растворе и вводили внутривентриально в дозе 1.2 г/кг (сразу после напоминания или без напоминания). Контрольным препаратом служил физиологический раствор. Опыты проводили в камере StartleandFearCombinedSystem производства PanLabHarvardApparatus. Внутренняя камера размером 28×28×28 см, куда помещали животное, располагалась на 4 датчиках, фиксирующих движения крысы. В экспериментах использовали определённый вид контекста: тёмные стены + решётчатый пол. Животных обучали и тестировали в одном и том же контексте. При обучении после 120-секундного исследовательского периода предъявляли два электрокожных раздражения лап через решётку пола (1 с, 0.05 мА) с 30-с межстимульным интервалом, после чего следовал 30-с исследовательский период. Через 24 ч после обучения тестировали условно-рефлекторный страх в условном контексте, при этом животных помещали в условный контекст на 180 с. Далее в зависимости от задачи исследования протоколы несколько отличались.

В экспериментах первого типа бутират натрия вводили через 2 недели после обучения. В первой серии объектом служили самки Long-Evans. Через 24 часа после обучения все животные демонстрировали достоверное

увеличение замирания в условном контексте (Т1). Через 12 дней при тестировании в условном контексте (Т2) животные демонстрировали достоверно более слабую реакцию замирания, чем в тесте Т1. Введение бутирата натрия с напоминанием (180 с в условном контексте) приводило к достоверному увеличению замирания в тесте через 24 ч (Т3) по сравнению с тестом Т2. При отсутствии напоминания бутират натрия не оказывал потенцирующего воздействия на память. Таким образом, полученные данные демонстрируют, что способность бутирата натрия восстанавливать слабую память зависит от реактивации памяти, поскольку в отсутствие реактивации улучшения угашенной памяти не наблюдается. Вторая аналогичная серия экспериментов была выполнена на самках и самцах крыс Wistar. Бутират натрия совместно с напоминанием также как и в предыдущем эксперименте улучшал отставленную слабую память.

В экспериментах второго типа бутират натрия вводили через более длительный промежуток времени: 3 месяца после обучения (самки и самцы крыс Wistar) или 5 месяцев после обучения (самки Long-Evans). Введение бутирата натрия совместно с напоминанием через 3 месяца после обучения животным линии Wistar не приводило к улучшению памяти, животные демонстрировали слабую реакцию замирания в условном контексте. Однако животные линии Long-Evans после введения бутирата натрия спустя 5 месяцев после обучения демонстрировали достоверное увеличение реакции замирания и улучшение памяти.

Таким образом, полученные данные демонстрируют, что способность бутирата натрия восстанавливать слабую отставленную условно-рефлекторную память о страхе зависит как от временного периода применения препарата, так и от вида животных. Возможно, нам удалось показать характерные особенности «следов» памяти у крыс разных линий: основываясь на полученных результатах, у крыс Long-Evans «след» памяти хранится в течение более длительного времени.

Работа поддержана грантом № 19-75-10067.

Изменение уровня стигмастерина в проростках пшеницы при действии различных стрессовых факторов

Валитова Ю.Н., Ренкова А.Г., Хабибрахманова В.Р., Мухитова Ф.К., Рахматуллина Д.Ф., Викторова Л.В., Галеева Е.И., Трифонова Т.В., Пономарева А.А., Минибаева Ф.В.

Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

e-mail: yulavalitova@mail.ru

Changes in the level of stigmasterol in wheat seedlings under the influence of various stress factors

Valitova J.N., Renkova A.G., Khabibrakhmanova V.R., Mukhitova F.K., Rakhmatullina D.F., Viktorova L.V., Galeeva E.I., Trifonova T.V., Ponomareva A.A., Minibayeva F.V.

Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

Известно, что растения, в отличие от животных, обладают сложным составом стеринов, многообразие которого определяет широкий спектр функций стеринов в жизнедеятельности растений. Преобладающими мембранными стеринами высших растений являются β -ситостерин, кампестерин, стигмастерин. Структурно стигмастерин похож на ситостерин, но отличается от ситостерина двойной связью в положении С-22, в образовании которой участвует фермент С-22 стерин-десатураза. В последние годы появилась информация о том, что стигмастерин является «стрессовым» стеринном. Показано, что накопление стигмастерина происходит в растениях при ответах на различные стрессовые воздействия, в частности, при бактериальной атаке и при гравитропизме. До настоящего времени тонкие механизмы вовлечения стигмастерина в стрессовые ответы остаются не раскрытыми.

В нашей лаборатории были проведены исследования, посвящённые изучению механизмов вовлечения стигмастерина в стрессовые ответы растительных клеток. Ранее было показано, что действие низкой температуры на проростки пшеницы приводило к увеличению уровня стигмастерина. Действие повышенной температуры приводило к снижению энергетических показателей, изменению редокс-статуса клеток и снижению жизнеспособности, но не вызывало изменений в содержании стигмастерина. Таким образом, стигмастерин оказался нечувствительным к воздействию повышенной температуры, что может свидетельствовать об избирательности «стеринового» ответа на действие абиотических стрессоров. Исследование действия фитогормонов на уровень стигмастерина показало, что при действии АБК и СК на проростки пшеницы были выявлены наиболее заметные изменения содержания стигмастерина. Анализ активности генов С22-стерин десатуразы выявил увеличение активности генов при действии АБК в корнях, но не в листьях. Таким образом, изменение активности генов, кодирующих С-22

стерин десатуразу, при действии фитогормонов носит органоспецифический характер и ещё раз подтверждает участие стигмастерина в различных стрессовых ответах. Обработка проростков пшеницы засолением приводила к снижению энергетических показателей, увеличению содержания H_2O_2 и повышению активности пероксидазы, снижению жизнеспособности клеток и одновременному увеличению содержания стигмастерина в клетках, что может свидетельствовать о вовлечении стигмастерина в стрессовый ответ растительных клеток на засоление.

На основании полученных данных можно заключить, что уровень стигмастерина в растительных клетках чувствителен к действию различных стрессоров, но степень чувствительности отличается в зависимости от характера воздействия.

Работа выполнена в рамках выполнения государственного задания ФИЦ КазНЦ РАН, а также при финансовой поддержке гранта РФФИ № 20-04-00988, гранта Президента РФ МК-264.2020.4

Роль серотонина, глутамата и оксида азота в формировании условных оборонительных рефлексов у виноградной улитки

Гайнутдинов Х.Л., Андрианов В.В., Богодвид Т.Х., Головченко А.Н., Дерябина И.Б., Лазутин С.А., Муранова Л.Н., Силантьева Д.И., Шихаб А.В.

Институт фундаментальной медицины и биологии Казанского (Приволжского) федерального университета, Казань, Россия

e-mail: kh_gainutdinov@mail.ru

The role of serotonin, glutamate and nitric oxide in the elaboration of conditioned defensive reflexes in snail

Gainutdinov Kh.L., Andrianov V.V., Bogodvid T.K., Golovchenko L.N., Deryabina I.B., Lazutin S.A., Muranova L.N., Silant'yeva D.I., Chihab A.W.

Institute of Fundamental Medicine and Biology of Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

Память является одной из основных когнитивных функций. Процессы обучения и памяти лежат в основе изменения поведения. Формирование памяти происходит в несколько стадий: кратковременная память, долговременная память, долгодлящаяся память. Память из кратковременной формы переходит в долговременную, в которой она может храниться длительное время, этот феномен называют консолидацией памяти. Было показано, что формирование долговременной контекстуальной памяти возможно и у виноградной улитки (Балабан П.М. с сотрудниками). Таким примером является формирование условного рефлекса на обстановку, когда животное запоминает выполнение определённого поведения в конкретной обстановке. Было найдено, что консолидированная долговременная память может подвергаться реорганизации в результате напоминания - предъявления обученному животному одного из компонентов ситуации обучения, после контекстуального ознакомления животного с обстановкой. Если животному напомнить предыдущий опыт и вскоре применить блокатор белкового синтеза, то консолидированная память об этом опыте исчезнет. Такой процесс повторной консолидации памяти при напоминании назвали реконсолидацией. Данные литературы демонстрируют, что серотонин (5-НТ) является основным медиатором, который опосредует оборонительное поведение у моллюсков, также актуальными являются исследования роли глутамата и оксида азота в процессах обучения. Поэтому мы провели исследования роли этих систем в формировании условных оборонительных рефлексов у виноградной улитки.

Для исследования роли 5-НТ в реконсолидации и её нарушении улиткам производили внутригемоцельную инъекцию р-ХФА в дозе 2 мг/г веса (растворенного в 0.1 мл солевого раствора для улитки – ФР) за 3 дня до напоминания обстановки. Было продемонстрировано достоверное возрастание

оборонительных реакций в 5–7 раз, когда виноградная улитка находится на шаре, в то же время число оборонительных реакций при тестировании на плоской поверхности достоверно не увеличивается, что демонстрирует обучение. Эти результаты предполагают появление контекстуально зависимой памяти. На следующий день после тестирования, проводили сеанс «напоминания», а затем сразу блокировали биосинтез белка инъекцией анизомицина, а контрольным улиткам вводился ФР. Было показано, что забывания памяти на обстановочный условный рефлекс при напоминании и одновременного ингибирования синтеза белка не происходит, если в нервной системе нарушена серотониновая передача. Данный эффект существенно отличается от прямого действия анизомицина, который блокирует реконсолидацию контекстуальной памяти. Было найдено, что блокирование рецептора NMDA блокатором МК-801 у виноградных улиток ускоряет процесс аверсивного обучения. Было показано, что аппликация донора NO нитропрусида натрия в раствор, омывающий препарат интактных улиток, вызывает нарастающую гиперполяризацию мембраны премоторных интернейронов на 5.5 мВ к 10-й минуте. Аппликация блокатора NO-синтазы L-NAME в раствор, омывающий изолированный препарат улиток, вызывала постепенное снижение в течение 30 мин мембранного потенциала на 5.0 мВ. Таким образом, нами продемонстрировано, что у определённых нейронов блокада синтеза NO (т.е. уменьшение его количества) может вызывать деполяризацию мембраны, а дополнительный NO - гиперполяризацию. Это позволяет высказать предположение о корреляции уровня NO в нейроне с его мембранным потенциалом. Полученные результаты также свидетельствуют о необходимости 5-НТ для процесса реконсолидации памяти на примере виноградной улитки.

Особенности биосинтеза, инактивации сигналинга ауксина при формировании узорчатой древесины карельской берёзы

Галибина Н.А., Тарелкина Т.В., Чирва О.В., Мощенская Ю.Л.,
Никерова К.М., Иванова Д.С., Семенова Л.И., Серкова А.А.,
Новицкая Л.Л.

Институт леса Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», Петрозаводск, Россия

e-mail: karelina.t.v@gmail.com

Peculiarities of biosynthesis, inactivation and signaling of auxin during the formation of figured wood of Karelian birch

Galibina N.A., Tarelkina T.V., Chirva O.V., Moshchenskaya Yu.L.,
Nikerova K.M., Ivanova D.S., Semenova L.I., Serkova A.A., Novitskaya L.L.

Forest Research Institute of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences,
Petrozavodsk, Russia

Ауксин участвует в регуляции множественных морфообразовательных процессов в растительном организме, и его роль в дифференциации проводящих тканей ствола древесных растений хорошо известна. Влияние ауксина на регуляцию морфогенетических процессов во многом определяется его концентрацией и распределением в органах и тканях растения, которые, в свою очередь, являются результатом сложного взаимодействия процессов его транспорта и метаболизма.

На сегодняшний день работ, посвящённых исследованию молекулярно-генетических аспектов метаболизма и сигналинга ауксина в тканях ствола древесных растений, очень мало, при этом изучение активности соответствующих генов в основном проводилось на растениях возрастом менее 5 лет. Мы изучили особенности экспрессии генов, кодирующих основные ферменты биосинтеза (*Yucca*) и конъюгации ауксина (*UGT84B1*, *GH3*) при различных сценариях ксилогенеза у берёзы повислой. Также были идентифицированы гены семейств *ARF* и *HD-ZIPIII*, участвующие в трансдукции ауксинового сигнала, и изучена экспрессия ауксин-зависимого транскрипционного фактора *VpARF5* и его мишени *VpHB8*.

Для исследования были подобраны деревья берёзы повислой, безузорчатые и узорчатые деревья карельской берёзы возрастом 13–15 лет, произраставшие в одинаковых почвенно-климатических условиях на экспериментальных участках Института леса КарНЦ РАН (2 км. от г. Петрозаводск). Все деревья карельской берёзы были высокоствольными, без признаков угнетения ростовых процессов. Ткани ствола для микроскопического и молекулярно-генетического исследования отбирали в период активной деятельности камбия (конец июня – начало июля).

Практически все изученные нами гены продемонстрировали повышенный уровень экспрессии в дифференцирующейся ксилеме узорчатых деревьев

карельской берёзы по сравнению с деревьями берёзы повислой и безузорчатыми деревьями карельской берёзы, формирующими типичную для вида древесину. Интересно, что в стволах узорчатых деревьев мы наблюдали повышенную экспрессию генов *Yucca*, которая, как правило, характерна для ауксин-сверхпродуцирующих фенотипов. Тем не менее, микроскопический анализ тканей показал, что ксилема и флоэма карельской берёзы в зоне формирования аномалий имели черты ауксин-дефицитного фенотипа (сниженная плотность сосудов и повышенная доля паренхимы в ксилеме, нарушение формирования проводящей флоэмы). В этой связи мы предположили, что сверхэкспрессия генов *GH3* и *UGT84B1*, кодирующих ферменты конъюгации ауксина, по-видимому, оказывает более значительное влияние на формирование узорчатой древесины берёзы, нежели повышенная экспрессия генов *Yucca*. Причиной этого, очевидно, являются различия в кинетике ферментативных реакций биосинтеза и метаболизации ауксина. Известно, что ИУК-аминосинтетазы, кодируемые генами семейства *GH3*, классифицируются как ферменты с более быстрой кинетикой по сравнению с флаavin-зависимыми монооксигеназами *Yucca*, участвующими в биосинтезе ауксина. Другой причиной формирования ауксин-дефицитного фенотипа может быть сниженная чувствительность тканей к ауксину и нарушение его сигналинга вследствие пониженного уровня экспрессии *ARF5* и *HB8*, играющих важную роль в дифференциации элементов ксилемы.

Ранее было показано, что формирование узорчатой древесины карельской берёзы ассоциировано со сниженным уровнем ауксина и повышенным уровнем сахаров в зоне дифференциации ксилемы, однако молекулярные механизмы аномального ксилогенеза оставались во многом неясными. Полученные данные согласуются с высказанной ранее гипотезой о том, что формирование аномальной узорчатой древесины может быть связано с влиянием растворимых сахаров (сахарозы, глюкозы) на экспрессию генов, участвующих в гомеостазе и сигналинге ауксина.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-04-00622_а.

Спонтанные глутамат- и ГАМК-опосредованные токи в нейронах гиппокампа новорожденных крысят в условиях пренатальной гипергомоцистеинемии

Гатаулина Э.Д., Курмашова Е.Д.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

Spontaneous glutamate- and GABA-ergic postsynaptic currents in neonatal rat's hippocampal neurons under hyperhomocysteinemia conditions

Gataulina E.D., Kurmashova E.D.

Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

Гипергомоцистеинемия (ГГЦ) – заболевание, связанное с накоплением го-моцистеина (ГЦ) в организме. Высокий уровень в организме коррелирует с нейродегенеративными и сердечно-сосудистыми заболеваниями у взрослых. ГГЦ также встречается у беременных, ГЦ оказывает нейротоксическое действие, тем самым вызывая различные дисфункции мозга у плода.

Один из молекулярных механизмов действия ГЦ – его взаимодействие с НМДА-рецепторами глутамата, что вызывает гипервозбудимость нейрональной сети. Кроме того, ГЦ является антагонистом ГАМК(А) рецепторов на клетках эндотелия гематоэнцефалического барьера (ГЭБ). Данная аминокислота проникает через фетоплацентарный барьер, оказывает нейротоксическое влияние на мозг плода, воздействуя на его возбуждающую и тормозную системы, в частности на ГАМК- и глутамат-опосредованную сигнализацию.

Таким образом, целью данной работы было исследовать влияние пренатальной гипергомоцистеинемии на глутамат- и ГАМК-опосредованные спонтанные токи в нейронах гиппокампа новорожденных крысят.

Для создания хронической модели пренатальной ГГЦ использовалась пищевая метиониновая нагрузка в течение всей беременности самок крыс. Эксперименты проводили на горизонтальных срезах мозга крысят толщиной 400 мкм в первую и вторую недели после рождения. Спонтанные постсинаптические токи регистрировали методом patch-clamp в конфигурации «целая клетка» в режиме «фиксации напряжения». Для изоляции спонтанных ГАМК(А)-эргических и глутамат-эргических-постсинаптических токов, мембранный потенциал клеток фиксировали на потенциале реверсии от -43 мВ до -49 мВ. Чтобы определить изменение баланса возбуждения/торможения, оценивали частоту событий, их соотношение в контроле и условии пренатальной ГГЦ.

Было установлено, что в пирамидальных нейронах гиппокампа крысят с пренатальной ГГЦ в первую и вторую недели после рождения достоверно увеличивалась частота спонтанных глутамат-опосредованных токов. Частота глутамат-опосредованных событий в первую неделю у экспериментальной группы составляла 1.41 ± 0.36 Гц ($n = 13$, $p < 0.05$), в то время как в кон-

трольной группе – 0.41 ± 0.06 Гц ($n = 9$). Во вторую неделю в контроле частота глутамат-опосредованных токов составляла 0.54 ± 0.17 Гц ($n = 12$), а в условиях пренатальной ГГЦ – 2.24 ± 0.51 Гц ($n = 12$, $p < 0.05$). Частота спонтанных ГАМК(А)-опосредованных токов в первую неделю постнатального развития в контроле и ГГЦ группах достоверно не отличались. Однако частота ГАМК(А)-опосредованных токов во вторую неделю постнатального развития в экспериментальной группе была достоверно ниже относительно контроля. В нейронах срезов гиппокампа, полученных от контрольных крысят, частота токов составляла 2.26 ± 0.25 Гц ($n = 12$), а в условиях ГГЦ – 1.62 ± 0.21 ($n = 12$, $p < 0.05$). Кроме того, было рассчитано соотношение глутамат- и ГАМК(А)-опосредованных токов (Глу/ГАМК). В первой возрастной группе Глу/ГАМК соотношение было в 3 раза выше в экспериментальной группе, чем в контроле, и составляло 0.6 ± 0.57 и 0.2 ± 0.02 соответственно. Во вторую неделю в условиях ГГЦ Глу/ГАМК составило 1.5 ± 0.34 , что достоверно выше контроля – 0.4 ± 0.10 .

Таким образом, в условиях пренатальной ГГЦ в нейронах гиппокампа новорожденных крысят преобладают глутамат-опосредованные возбуждающие токи на фоне снижения ГАМК(А)-опосредованных. Следовательно, пренатальная гипергомоцистеинемия сдвигает баланс возбуждения/торможения в сторону возбуждения, что может привести к нарушениям в работе мозга у потомства.

Работа выполнена в рамках гранта РНФ № 20-15-00100.

Круговорот абсцизовой кислоты с участием ризосферных бактерий

Гоголев Ю.В.¹, Гоголева Н.Е.¹, Юзихин О.С.², Белимов А.А.², Шапошников А.И.², Хамо Хамза³, Ермеккалиев Т.С.³, Осипова Е.В.¹, Коннова Т.А.¹

¹ Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

² Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

³ Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

e-mail: gogolev.yuri@gmail.com

Turnover of abscisic acid with the participation of rhizosphere bacteria

Gogolev Y.V.¹, Gogoleva N.E.¹, Yuzikhin O.S.², Belimov A.A.², Shaposhnikov A.I.², Hamo Hamza³, Ermekkaliev T.S.³, Osipova E.V.¹, Konnova T.A.¹

¹ Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

² All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, RAS, Saint-Petersburg, Russia

³ Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

Фитогормон абсцизовая кислота (АБК) играет важную роль в онтогенезе растений и регуляции ответа на факторы абиотического стресса. Являясь достаточно стабильным соединением, АБК способен накапливаться в почве, что может отрицательно сказаться на прорастании семян, подавлять рост корней и повышать чувствительность растений к патогенам. Биологическая трансформация АБК в почве практически не изучена. Ранее были описаны штаммы *Rhodococcus* sp. P1Y и *Novosphingobium* P6W, как ризосферные бактерии, ассимилирующие АБК в качестве единственного источника углерода, и влияющие на концентрации АБК в корнях растений. В нашей работе продукты разложения АБК этими бактериями были выделены, очищены и идентифицированы. Доказательство принадлежности соединений к производным АБК было проведено путём измерения молярной радиоактивности продуктов превращения этого фитогормона, меченного тритием и по спектральным характеристикам дейтерированного препарата. В качестве основных промежуточных соединений определены дегидровмифолиол и новое соединение 1-гидрокси-2,6,6-триметил-4-оксо-2-циклогексен-1-уксусная кислота. На основании полученных данных сделан вывод, что путь бактериальной деградации и ассимиляции АБК начинается с постепенного укорачивания ацильной части молекулы. Подобный путь превращения АБК описан впервые.

Ранее было показано, что внесение радиоактивной АБК в почву приводит к быстрой деградации соединения почвенной микрофлорой, что указывает на ведущую роль микроорганизмов в круговороте данного фитогормона в природных экосистемах. Результаты наших исследований раскрывают механизм предполагаемой биоконверсии АБК.

Оценка вирулентности полевых изолятов *Microdochium nivale*

Гоголева О.А.², Пономарева М.Л.², Пономарев С.Н.², Мещеров А.Р.²,
Гоголева Н.Е.¹, Петрова О.Е.¹, Осипова Е.В.¹, Гоголев Ю.В.¹,
Горшков В.Ю.¹

¹ Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

² Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

e-mail: gogolewaoa@yandex.ru

Virulence evaluation of *Microdochium nivale* field isolates

Gogoleva O.A.², Ponomareva M.L.², Ponomarev S.N.², Mescherov A.R.²,
Gogoleva N.E.¹, Petrova O.E.¹, Osipova E.V.¹, Gogolev Yu.V.¹,
Gorshkov V.Yu.¹

¹ Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

² Tatar Research Institute of Agriculture, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

Розовая снежная плесень – это заболевание растений, вызываемое грибом *Microdochium nivale* (Fr.) Samuels & I.C. Hallett, которое характерно для регионов, где снежный покров сохраняется не менее 60 дней. Инфицирование озимых культур происходит осенью, а развитие заболевания – под снежным покровом. Весной, сразу после таяния снега, растения, поражённые *Microdochium nivale*, покрыты белым, а позднее розоватым мицелием. Заболевание приводит к значительным потерям урожая. В последние годы отмечается расширение ареала патогена и увеличение разнообразия растений-хозяев. Несмотря на широкое распространение заболевания, слабо изучена вирулентность *Microdochium nivale*. Поэтому **целью** нашего исследования стала оценка вирулентности штаммов рода *Microdochium* и характеристика симптомов заболевания.

Исследование проводили на изолятах полученных в 2019-2020 с озимых культур, поражённых снежной плесенью. Было получено 157 изолятов отнесенных к роду *Microdochium* на основании морфологических характеристик, из них 21 изолят, выделенный в 2019 г, был идентифицирован с помощью метабаркодирования участка ITS2 рибосомальной РНК.

Оценку вирулентности в отношении восприимчивого сорта озимой ржи Огонек проводили визуально: наличие некроза на стеблях и листьях, образование бурого пигмента на корнях; и по морфометрическим показателям: длина, количество и масса корней и побегов. Более 50% исследованных изолятов в процессе развития инфекции, в разной степени, вызывали некроз стебля и листовой пластины, пигментацию корней, уменьшение длины и массы корней и побегов. Была обнаружена положительная корреляция между изменением длины корня и побега, массой корня и побега, некрозом листьев и стеблей и с пигментацией корней. На основании полученных данных

провели распределение исследованных изолятов по степени вирулентности с использованием кластерного анализа. Все исследованные на вирулентность изоляты были разделены на 4 группы: высоковирулентных, умеренно вирулентных, низковирулентных и авирулентных штаммов. Кроме того, у изолятов нами оценена активность нескольких экстраклеточных ферментов (целлюлаза, ксиланаза, протеаза, амилаза, арабинофуранозидаса, инвертаза), которые потенциально могут выступать в качестве факторов вирулентности, и проанализировано наличие корреляций между ферментативными активностями и вирулентностью. Корреляций при этом нами выявлено не было, что предположительно свидетельствует о вариабельности стратегий индукции патогенеза у разных изолятов.

На следующем этапе исследования был проведён скрининг на вирулентность среди 136 изолятов *Microdochium nivale* выделенных в 2020 году в отношении трёх озимых зерновых культур: пшеницы, ржи и тритикале. Скрининг проводился методом инокуляции сегментов отсечённых листьев соответствующих озимых культур. В результате было показано, что наиболее устойчивой к инфекции была тритикале, в её отношении наименьшее количество изолятов проявили высокую и умеренную вирулентность. Наименьшая устойчивость была характерна для пшеницы, в её отношении большая часть изолятов проявляла высокую, умеренную или слабую вирулентность.

Из 136 протестированных изолятов в отношении всех 3 видов зерновых культур высокую вирулентность проявили 8 изолятов, 5 проявили умеренную вирулентность, 22 – слабую вирулентность, и 13 были авирулентны. Только один штамм проявлял высокую вирулентность в отношении пшеницы, но был авирулентен к ржи и тритикале.

Таким образом, изоляты *Microdochium nivale* сильно дифференцированы по степени вирулентности как между собой, так и в отношении разных видов озимых злаковых культур.

Исследование поддержано мегагрантом № 075-15-2019-1881 министерства науки и высшего образования РФ.

Влияние адгезии различных по азотфиксирующей эффективности штаммов *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* на уровни цАМФ и H_2O_2 в клетках корней проростков гороха

Гончарова А.М., Ломоватская Л.А., Кузакова О.В.

Сибирский институт физиологии и биохимии растений, Иркутского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия

e-mail: alvlad87@mail.ru

The effect of adhesion of strains of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*, different in nitrogen-fixing efficiency on cAMP and H_2O_2 levels in pea seedling root cells

Goncharova A.M., Lomovatskaya L.A., Kuzakova O.V.

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, IRC SB RAS (SIFIB SB RAS), Irkutsk, Russia

В настоящее время вызывает интерес изучение молекулярных механизмов, лежащих в основе бобово-ризобияльного симбиоза и, в частности, способности бактерий рода *Rhizobium* влиять на работу сигнальных систем бобовых на ранних этапах взаимодействия.

Исходя из этого, целью нашего исследования было изучить интенсивность адгезии различных по азотфиксирующей эффективности штаммов *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*, а также их способность модулировать уровни сигнальных молекул, цАМФ и H_2O_2 в клетках корней проростков гороха *Pisum sativum*.

Наблюдения в течение 360 минут показали, что наиболее интенсивная адгезия ризобий наблюдалась к концу этого периода. При этом, эффективный штамм проявлял более интенсивную адгезию по сравнению с неэффективными по этому показателю. Это приводило к увеличению концентрации цАМФ в клетках корней проростков гороха. Причём в варианте с эффективным штаммом наиболее интенсивное возрастание уровня цАМФ наблюдалось в участках корней проростков гороха, содержащих зачатки и молодые волоски. По литературным данным, именно эти участки являются наиболее восприимчивыми для ризобияльной инфекции. В отличие от эффективного, исследованные неэффективные штаммы вызывали лишь незначительное возрастание уровня этой молекулы, причём во всех участках корней проростков гороха. Таким образом, такое распределение цАМФ свидетельствует о важной роли этой сигнальной молекулы на начальных этапах формирования бобово-ризобияльного симбиоза.

При этом уровень H_2O_2 подавлялся в зонах, содержащих корневые волоски разной степени зрелости под влиянием всех испытуемых штаммов *Rhizobium leguminosarum*. Такое распределение пероксида водорода, вероятно, способствует повышенной колонизации и вторжению мутуалиста в эти участки корня.

Трансформация латентных инфекций, вызываемых пектобактериями, в манифестные: физиологические критерии и молекулярные «игроки»

Горшков В.Ю., Парфинова О.И., Церс И.Д., Исламов Б.Р., Петрова О.Е., Гоголева Н.Е., Агеева М.В., Воробьев В.Н., Гоголев Ю.В.

Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

e-mail: gvy84@mail.ru

The transformation of latent pectobacteria-caused infection to the typical ones: physiological criteria and molecular players

Gorshkov V.Y., Parfirova O.I., Tsers I.D., Islamov B.R., Petrova O.E., Gogoleva N.E., Ageeva M.V., Vorob'ev V.N., Gogolev Y.V.

Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

Пектобактерий, возбудителей мягких гнилей растений, традиционно воспринимают как злостных вредителей, использующих «грубую силу» при колонизации хозяина. Эта сила выражается продукцией ферментов, разрушающих растительную клеточную стенку. Несмотря на существенный наступательный арсенал, пектобактерии редко вызывают патологии. Большая часть продукции культурных растений контаминирована пектобактериями; при этом мягкие гнили развиваются далеко не всегда. В целом, взаимодействие этих патогенов и растений носит, по-видимому, не столько антагонистический, сколько мутуалистический характер.

Способов контроля мягких гнилей не существует, как и полностью иммунных к пектобактериям сортов. Информация по мягким гнилям, накопленная, в том числе в нашей лаборатории, свидетельствует, что попытка создания новых пестицидов и иммунных сортов вряд ли сможет препятствовать развитию этих заболеваний в связи с большим адаптивным потенциалом пектобактерий. При этом возможность контроля поведения патогена, а не попытка его уничтожения, может принести плоды для агропроизводства. Переход от силового действия в отношении паразита к дипломатической тактике имеет важное преимущество: последняя не накладывает селективного давления на патоген и поэтому не способствует появлению его новых высокоагрессивных форм. Для внедрения такого подхода необходимо иметь представление о механизмах переключения латентной бессимптомной формы взаимодействия в типичные инфекции. Кроме того, поскольку «поведение» паразита во многом определяется совокупностью ответов хозяина, необходимо понимать физиологию всей интегрированной надорганизменной патосистемы при разных формах взаимодействия.

Этим научным проблемам посвящены наши исследования. Их методической основой является транскриптомное профилирование, позволяющее выявлять гены, продукты которых потенциально определяют характер (мутуалистиче-

ский или антагонистический) развития патосистемы. Затем роли продуктов этих генов оцениваются нами с применением оригинальных тест-систем и множества различных подходов: нокаут и клонирование генов, различные виды хроматографии и микроскопии, ЯМР и т.д. Полученные результаты позволили нам выявить, во-первых, ранее не охарактеризованные детерминанты взаимодействия пектобактерий и растений и, во-вторых, молекулярные «переключатели», которые трансформируют латентную инфекцию в антагонистическую форму взаимодействия.

Исследование поддержано грантом РНФ № 19-14-00194.

Лектины как компонент сигнальных систем растения

Горшкова Т.А.

Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

e-mail: gorshkova@kibb.knc.ru

Lectins as a component of plant signaling systems

Gorshkova T.A.

Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

Растения считаются чемпионами среди всех типов организмов по разнообразию сложных углеводов. Перечень многочисленных функций этих соединений включает формирование различных сигналов, в том числе химических и механических. Посредниками при передаче таких сигналов могут выступать лектины – белки, содержащие углевод-связывающие домены, но не осуществляющие каталитических реакций с углеводами. Лектины присутствуют в различных царствах живого, но некоторые их семейства особенно распространены в растениях. Общее число генов белков с лектиновыми доменами в растительных геномах составляет несколько сотен. Лектины разнообразны по строению углевод-связывающих доменов, согласно которому они группируются в два десятка различных семейств. Лектины растений широко используются в прикладном плане – от использования в качестве инструментов для выделения гликозилированных белков животных, как конканавалин А, до применения в качестве ядов, как рицин. При этом биологические функции и механизмы действия лектинов в самом растении изучены слабо и известны лишь для единиц, да и то, в основном, по аналогии со сходными белками животных. Шире других известна защитная функция лектинов, связанная с распознаванием углеводных мотивов различных патогенов, но большинство генов лектинов экспрессируется и в отсутствии инфицирующих организмов. Некоторые лектины могут накапливаться в тканях растений (в основном, в семенах), но многие присутствуют в минорных количествах.

Для растений характерно расширенное представительство лектинов, содержащих киназный домен, что напрямую связывает эти белки с функционированием сигнальных систем. Большинство таких лектинов имеет трансмембранный домен и локализовано таким образом, что киназный домен находится в цитоплазме, а углевод-связывающий – за пределами плазмалеммы, где имеет возможность для взаимодействия с основной углевод-содержащей структурой растительной клетки – клеточной стенкой. Изучение представленности генов белков с лектиновыми доменами в геномах льна и кукурузы и транскриптомный анализ экспрессии этих генов позволили нам выявить приуроченность экспрессии многих из них к клеткам, формирующим клеточную стенку определённого типа. Разрабатываются подходы для изучения специфических взаимодействий лектинов и полисахаридов из клеточных стенок различных типов. Полученные данные обсуждаются в докладе в привязке к современным представлениям о сигнальной роли лектинов.

Работа поддержана грантом РФФ № 20-64-47036.

Салициловая кислота индуцирует хитиназа-подобные белки в корнях гороха

Егорова А.М.

Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

e-mail: egorova@kibb.knc.ru

Salicylic acid induces chitinase-like proteins in pea roots

Egorova A.M.

Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FCR Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

Корни растений находятся в постоянном контакте с микроорганизмами, населяющими ризосферу почвы, среди которых представлены как дружественные, так и патогенные виды. Эти взаимоотношения играют важную роль в жизни растений, поскольку от их характера зависит выживание и рост растений. Расшифровка механизмов устойчивости растений к патогенным обитателям почвы поможет в поиске новых, в том числе биологических способов защиты растений и тем самым - повышения урожая сельскохозяйственных видов и снижения химической нагрузки на почву. Одним из ключевых игроков в защитных реакциях растений на действие патогенов является салициловая кислота (СК). Механизм действия и ответная защитная реакция растений при участии СК хорошо изучена на надземных органах, тогда как в отношении корней остается много вопросов. В листьях СК вызывает индукцию глюконаз, хитиназ и PR белков, обладающих прямым антипатогенным действием. О разнице в ответной реакции листьев и корней на действие различных факторов (в том числе СК) говорят многие исследователи фитоиммунитета.

Нами было выявлено, что обработка проростков гороха СК приводит к значительному изменению протеомов корней. Повышалось содержание ряда защитных белков (АБК-зависимый белок) и ферментов, участвующих в синтезе антипатогенных соединений (0), а также трёх не идентифицированных белков с молекулярной массой 34 кДа и pI4.4-4.7.

В настоящее время эти белки были идентифицированы. Они оказались изоформами хитиназ. Была изучена временная зависимость влияния СК на их синтез. Оказалось, что они относятся категории белков раннего ответа – активации синтеза этих хитиназ происходит уже через 12 ч, причём наиболее значительно изменялось содержание белка 1203. Через 72 ч его содержание повышалось в среднем в 18 раз. Содержание двух других белков 1207 и 1209 повышалось в 11 и 15 раз соответственно.

Использование метода *de novo* секвенирования позволило идентифицировать эти белки как гликозид-гидролазы сем. 18. Анализ доменной организации показал, что они содержат консервативный домен, характерный для гликозид-гидролаз семейства 18 (GH18) – суперсемейства хитиназа-подобных

белков. По структуре исследуемые нами белки сходны как с хитиназами 2, так и с нарбонинами – так называемыми 2S глобулинами бобовых.

Был проведён поиск генов, кодирующих эти белки и обнаружены кандидаты с высокой степенью гомологии друг к другу. Мы выбрали три гена с высокой степенью гомологии, поскольку пептиды, идентифицированные в белках, были одинаковыми. Анализ экспрессии генов Psat1g147600, Psat1g149120 (84% идентичности с Psat1g147600), Psat1g149040 (66%), показал, что экспрессия гена Psat1g147600 повышалась уже через 6 часов действия СК, и достигала максимума через 24ч, с последующим снижением через 72 ч. Экспрессия гена Psat1g149040 также повышалась уже через 6 часов действия СК, повышаясь через 12 ч, а затем снижалась. Активация экспрессии гена Psat1g149120 происходила позднее (через 24 ч действия СК) по сравнению с двумя предыдущими генами и повышалась в меньшей степени. Полученные результаты позволили нам заключить, что СК-индуцируемые хитиназы в корнях гороха кодируются разными генами, и они активируются с разницей во времени. Основной вклад в повышение содержания белков вносит ген Psat1g147600, который, по нашим данным, кодирует белок 1203.

Анализ хитиназной активности показал, что исследуемые нами белки не проявляют хитиназную активность в отношении использованного субстрата – гликоль хитина. Это может быть связано с аминокислотной заменой в каталитическом центре белка.

То, что синтез выявленных нами белков многократно возрастает при действии СК, а также при взаимодействии растений с патогенами (данные литературы), говорит об их важнейшей роли в защитном ответе именно в корнях растений.

Работа выполнена в рамках гранта РФФИ № 20-016-00238.

Холинергическая регуляция входа кальция в моторное нервное окончание мышцы

Жиляков Н.В.¹, Самигуллин Д.В.^{1,2}

¹ Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

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

e-mail: kiosak71@gmail.com

Cholinergic regulation of calcium entry into the mouse motor nerve ending

Zhilyakov N.V.¹, Samigullin D.V.^{1,2}

¹ Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

² A. N. Tupolev Kazan National Research Technical University, Kazan, Russia

В двигательных синапсах животных и человека передача сигнала осуществляется химическим посредником ацетилхолином (АХ). Изменение количества выделяемого АХ из нервного окончания за счёт активации холинергических рецепторов на пресинаптической мембране является одним из механизмов регуляции (ауторегуляции) процесса передачи сигнала. К настоящему моменту установлено, что к рецепторам, способным осуществлять такую регуляцию, относятся ионотропные никотиновые (нХР) и метаботропные мускариновые рецепторы (мХР). Многие исследователи полагают, что их активация влияет на вход Ca^{2+} в пресинаптическую клетку, за счёт чего происходят изменения в процессах нейросекреции. Данный механизм был хорошо изучен на синапсах холоднокровных, тогда как в отношении синапсов теплокровных наличие этого механизма до сих пор оставалось не выясненным. Целью настоящего исследования стало изучение влияния активации нХР и мХР на вход Ca^{2+} в моторное нервное окончание млекопитающих.

Исследование проводили на изолированном нервно-мышечном препарате m. Levatoraurislongus мышцы. Для оценки изменений пресинаптического уровня кальция применяли флуоресцентный кальций-чувствительный краситель OregonGreen 488 ВАРТА-1. Регистрацию изменений интенсивности флуоресцентных сигналов осуществляли при помощи фотометрической установки на базе микроскопа Olympus BX-51 с водноиммерсионным объективом x40 и высокоскоростной камеры Neuro CCD SMQ (RedshirtImaging).

Активация мХР мускарином в концентрации 10 мкМ приводила к достоверному уменьшению амплитуды кальциевого транзientа на $21.0 \pm 4.5\%$ ($p < 0.05$, $n = 8$), в то время как их блокада при помощи атропина 10 мкМ, напротив, приводила к её увеличению на $19.0 \pm 3.9\%$ ($p < 0.05$, $n = 8$). Применение специфических блокаторов мХР М1 (пирензипин, 10 мкМ) и М2 (метоктрамин, 1 мкМ) подтипов также вызывало увеличение входа кальция в нервную терминаль на $16.3 \pm 3.3\%$ ($p < 0.05$, $n = 8$) и $19 \pm 3.9\%$ ($p < 0.05$,

$n = 7$), соответственно. При этом эффект мускарина на фоне действия как неспецифического, так и специфических антагонистов полностью устранялся.

Применение агониста нХР тартрат никотина (10 мкМ) приводило к достоверному увеличению амплитуды кальциевого транзientа на $13.7 \pm 4.3\%$ ($p < 0.05$, $n = 8$). В случае блокады рецепторов путём аппликации неспецифического блокатора тубокурарина, вход кальция в моторное нервное окончание не претерпевал достоверных изменений. Однако, блокатор нХРнейронального типа дигидро-бета-эритроэдин (1 мкМ) вызывал снижение входа Ca^{2+} в двигательную терминаль на $12.9 \pm 1.5\%$ ($p < 0.05$, $n = 15$), при этом на фоне действия этого агента эффекты никотина отсутствовали.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что, действительно, активация холинергических никотиновых и мускариновых рецепторов приводит к разнонаправленным эффектам на вход кальция в двигательное нервное окончание. Кроме того, данные настоящего исследования демонстрируют наличие эндогенной регуляции входа кальция в моторных синапсах мышцы посредством активации мускариновых и никотиновых рецепторов.

Работа поддержана грантом РФФИ № 19-04-00490.

Липидные рафты как принцип организации пресинаптического везикулярного цикла

Закирьянова Г.Ф.^{1,2}, Мухутдинова К.А.^{1,2}, Кузнецова Е.А.¹, Петров А.М.^{1,2}

¹ Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

² Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия

e-mail: fysio@rambler.ru

Lipid rafts as a principle for organization of presynaptic vesicle cycle

Zakyrjanova G.F.^{1,2}, Mukhutdinova K.A.^{1,2}, Kuznetsova E.A.¹, Petrov A.M.^{1,2}

¹ Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

² Kazan State Medial University, Kazan, Russia

Липидные рафты – это островки в мембране, которые обогащены холестерином и внутри которых латеральная подвижность молекул меньше, чем в окружающей мембране. За счёт более плотной упаковки липидов и «распрямлённых» жирнокислотных хвостов липидов, липидные рафты имеют большую толщину по сравнению с мембранной в липид-неупорядоченном состоянии. С одной стороны, липидные рафты – динамичные нанометровые структуры, которые могут быстро формироваться и затем сливаться (коалесценция) в липидные платформы, достигающие микрометровых размеров. С другой стороны, в ряде клеток и (или) их частях липидные рафты обладают большей стабильностью, что вероятно определяется особенностями взаимодействия компонентов рафтов с элементами цитоскелета и внеклеточного матрикса, а также уникальной композицией мембран. В частности, пресинаптические мембраны характеризуются высоким содержанием холестерина и сфинголипидов. Более того мембраны синаптических везикул, сотни и тысячи которых группируются в нервных окончаниях, содержат крайне высокую концентрацию холестерина. Генетический дефицит в синтезе нейронального холестерина и его доставке к нейронам, также как и наследственные нарушения образования определённых сфинголипидов, крайне сильно сказываются на синаптической передаче, в частности, функционировании пресинаптического аппарата. В свою очередь, это во многом объясняет наблюдаемые когнитивные и двигательные нарушения при альтерациях обмена липидных компонентов рафтов. Основное значение липидных рафтов для пресинаптического аппарата, возможно, связано с их ролью в протекании везикулярного цикла, который повторяется многократно, чтобы поддержать освобождение нейромедиатора в течение синаптической активности *in vivo*.

Пресинаптический везикулярный цикл состоит из нескольких последовательных этапов: экзоцитоз синаптических везикул, их эндоцитоз, заполнение везикулы нейромедиатором и сопутствующими молекулами, включение везикулы в определённую функциональную популяцию (пул), мобилизация (доставка) везикулы из пула к сайтам экзоцитоза (активные зоны), сцепление

и докирование с активной зоной, и затем снова экзоцитоз. Каждый из этих этапов реализуется за счёт взаимодействия специфичного набора белков с мембранами синаптических везикул, активной зоны и пери-активной зоны (участки эндоцитоза). При этом существует несколько вариантов протекания каждого этапа везикулярного цикла. Интересно, что ключевые белки, опосредующие этапы везикулярного цикла, с высоким сродством взаимодействуют с холестерином, что важно для их функционирования и кластеризации. Такая холестерин-зависимая кластеризация белков экзо-эндоцитозного цикла может быть важна для создания правильно ориентированных в мембране компактных «площадок» для множественных белок-белковых и белок-липидных взаимодействий между соседними мембранами. Кроме того, белок-липидная композиция сайтов экзоцитоза, эндоцитоза, синаптических везикул, принадлежащих к разным пулам, может отличаться и сохранять свою идентичность несмотря на множественные циклы экзо-эндоцитоза синаптических везикул. Это предполагает наличие разных сортов липидных микродоменов, смешение между которыми сильно ограничено. Какие механизмы могут предотвращать перемешивание белок-липидного состава мембран внутри одного пресинаптического нервного окончания остаются неизвестными. Следует отметить, что по длине аксона формируются множество пресинаптических расширений, содержащих активные зоны и скопления синаптических везикул. Однако эффективность нейротрансмиссии в отдельных пресинаптических варикозах и активных зонах может сильно отличаться. Вероятным механизмом этого может быть гетерогенность в способности формировать липидные рафты и поддерживать их целостность. Подобная гетерогенность может создаваться за счёт существования локальных механизмов, контролирующих преобразование холестерина в окисленные его формы, которые могут непосредственно менять функционирование мембранных микродоменов и покидать мембраны, уменьшая, таким путём, локально концентрацию холестерина. Другие компоненты рафтов также могут подвергаться превращениям в ходе синаптической активности, которая таким образом может управлять липидной композицией мембран.

На сегодняшний день исследования роли липидных рафтов в пресинаптическом везикулярном цикле сильно ограничены подходами. Частичное удаление холестерина с помощью метил-бета-циклодекстрина позволило получить первые данные о значимости рафтов для процессов экзоцитоза, эндоцитоза и транспорта синаптических везикул. Однако этот подход не совсем специфичен, вследствие способности этого агента удалять и другие липиды, а также проникать в клетки путём эндоцитоза. Исследования с помощью сторонних подходов, таких как окисление мембранного холестерина и гидролиз мембранного сфингомиелина, должны привнести новые данные о специфичной роли этих двух основных компонентов липидных рафтов в протекании рециклирования синаптических везикул.

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда № 21-14-00044.

Роль P2Y рецепторов в регуляции сигнальных путей в скелетной мышце при трёхсуточной функциональной разгрузке

Зарипова К.А., Мочалова Е.П., Белова С.П., Шенкман Б.С., Немировская Т.Л.

Государственный научный центр РФ Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, Москва, Россия

e-mail: katsu.no.himitsu@gmail.com

Role of P2Y dependent signalling in rat soleus muscle under hindlimb unloading

Zaripova K.A., Mochalova E.P., Belova S.P., Shenkman B.S., Nemirovskaya T.L.

Institute of Biomedical Problems, RAS, Moscow, Russia

Проверяли гипотезу о том, что накопление АТФ в мышце при её функциональной разгрузке активирует сигнальный каскад, который регулирует экспрессию генов. Мы предположили, что при разгрузке мышц выходящий из клетки через паннексиновые каналы АТФ взаимодействует с P2Y пуринергическими рецепторами и (возможно, через IP3/IP3K/IP3R сигнальный путь) регулирует экспрессию E3 лигаз (MuRF1, Atrogin-1/MAFbx) и работу некоторых маркеров белкового метаболизма. Для этого блокировали P2Y2 и P2Y1 рецепторы (чувствительные к адениловым нуклеотидам) при вывешивании крыс разными ингибиторами. 32 самца крыс линии Wistar случайным образом были распределены на 4 группы по 8 крыс в каждой гр.: контроль (К), 3-суточное вывешивание (В), 3-суточное вывешивание с введением ингибитора P2Y2 рецепторов AR-C 118925XX (10 мг/кг в день, внутривнутрибрюшинно) (А), 3-суточное вывешивание с введением неселективного ингибитора семейства P2Y-рецепторов MRS2179 (25 мг/кг в день, внутривнутрибрюшинно) (М). Исследовали *m. soleus*. Обнаружено достоверное повышение АТФ только гр. В на 62% по сравнению с гр. контроля ($p < 0,05$). Уровень экспрессии мРНК убиквитина, E3-лигаз MuRF1 и Atrogin-1 был повышен в гр. В по сравнению с гр. К (на 114%, 82% и 151% соответственно, $p < 0,05$). Однако, мы обнаружили более низкое содержание мРНК убиквитина и Atrogin-1 в гр. А (на 66% и 51% соответственно, $p < 0,05$) относительно гр. В., и сниженное содержание мРНК MuRF1 в гр. М (на 35%, $p < 0,05$) относительно гр. В. Содержание фосфорилированного белка эукариотического фактора элонгации 2 (p-eEF2/t-eEF2) было достоверно повышено в группе В (на 181%, $p < 0,05$) относительно гр. К. Однако содержание p-eEF2 в гр. А было на 51% снижено относительно гр. В ($p < 0,05$).

Вывод: Ингибирование P2Y1 рецепторов приводит к снижению экспрессии MuRF1 в скелетной мышце, а введение ингибитора P2Y2 рецепторов приводит к снижению экспрессии Atrogin-1 и убиквитина и содержанию фосфорилированного белка eEF2. Таким образом, мы видим, что сигнальные ответы на ингибирование пуринергических рецепторов различаются.

Работа выполнена при финансировании гранта РФФИ № 20-015-00138.

Каспазо-подобная протеаза как фактор механизма самонесовместимости S-RNК типа у петунии (*Petunia hybrida* L)

Захарова Е.В.¹, Демьянчук И.С.², Соболев Д.С.², Зинкевич В.В.¹,
Ковалева Л.В.²

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия

² Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия

e-mail: zakharova_ekater@mail.ru

Caspase-like protease as determinant of S-RNase-based self-incompatibility-induced PCD in petunia (*Petunia hybrida* L)

Zakharova E.V.¹, Demyanchuk I.S.², Sobolev D.S.², Zinkevich V.V.¹,
Kovaleva L.V.²

¹ All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology, Moscow, Russia

² Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia

Самонесовместимость (СН) – генетически детерминированный репродуктивный барьер, препятствующий инбридингу и тем самым обеспечивающий поддержание видового разнообразия растений. Для петунии (*P. hybrida* L) характерна СН S-RNКазного типа, механизм которой до сих пор активно исследуется. Самонесовместимая пыльца, также как совместимая, быстро прорастает на рыльце пестика. Совместимые пыльцевые трубки растут в течение 24 ч в проводниковых тканях пестика до завязи с последующим оплодотворением, в то время как самонесовместимые пыльцевые трубки растут в течение 6–8 ч и останавливаются примерно на расстоянии 8 мм от поверхности рыльца. Используя различные методы, включая анализ TUNEL, мы недавно установили, что программируемая гибель клеток (ПКС) является фактором механизма СН у петунии.

В данной работе мы анализировали активность каспазо-подобных протеаз (КПП). Для этого использовали два метода: спектрофотометрический анализ (каспазо-подобную активность определяли в экстрактах пестиков и оценивали по расщеплению флуорогенного субстрата каспазы Ac-DEVD-AMC), второй метод – прижизненная окраска активных ферментов КПП в растущих *in vivo* пыльцевых трубках. Результаты исследования выявили равномерно низкий уровень каспазо-подобной активности в тканях пестика, сопровождающий рост пыльцевых трубок после совместимого опыления в течение 24 ч. Напротив, характер каспазо-подобной активности при самонесовместимом опылении был совершенно иной: прорастание и рост самонесовместимых пыльцевых трубок в рыльце и столбике в первые 2 ч и сопровождался резким повышением каспазо-подобной активности, уровень которой в последующие 4 ч возрастал ещё в 5–6 раз. В этот период активность ферментов в системе пыльца-пестик возрастала почти в 8 раз. Используемый нами метод визуализация КПП позволил экспериментально продемонстрировать, что

наблюдаемая активность КПП в системе пыльца–пестик петунии находится именно в самонесовместимых пыльцевых трубках, а не в клетках пестика. Активность КПП была обнаружена в 90% *in vivo* растущих самонесовместимых пыльцевых трубках уже через 2 ч после опыления. В совместимых пыльцевых трубках активность КПП отсутствовала. Полученные результаты дают основание заключить, что активность КПП локализуется в цитоплазме пыльцевой трубки и, скорее всего, в ядре.

В целом, наши результаты свидетельствуют о том, что каспазная активность является фактором гибели (ПКС) самонесовместимых пыльцевых трубок при функционировании механизма СН S-РНКазного типа у петунии.

Изменение ядерного и цитозольного кальциевого сигналов в премоторных интернейронах оборонительного поведения виноградной улитки под действием серотонина

Зюзина А.Б., Смирнов И.В., Балабан П.М.

Федеральное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

e-mail: lucky-a89@mail.ru

Nuclear and cytosolic calcium signals changes in the premotor interneurons of avoidance behavior under serotonin

Zuzina A.B., Smirnov I.V., Balaban P.M.

Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of RAS, Moscow, Russia

Важная роль серотонина в долговременных синаптических перестройках в нервной системе беспозвоночных была четко установлена достаточно давно, однако внутриклеточные процессы, запускаемые серотонином, до сих пор остаются достаточно неясными. Учитывая способность серотонина влиять на внутриклеточную сигнализацию путём регуляции высвобождения кальция, играющего важную роль в контроле экспрессии ядерных генов, данное исследование было направлено на изучение взаимосвязи между воздействием серотонина и изменением кальциевых сигналов (ядерного и цитозольного) в премоторных интронеуронах оборонительного поведения виноградной улитки.

С этой целью были применены методы оптической регистрации изменения внутриклеточной концентрации ионов кальция. Нейроны виноградной улитки после снятия тонких оболочек инъецировались кальций-чувствительным красителем OregonGreen 488 BAPTA-1 (Eugene, OR, USA). Для инъекции использовались низкоомные стеклянные электроды (сопротивление при заполнении 2 М ацетатом калия составляло 3–4 МОм), заполненные 0,25% раствором Орегона в 0,1 М КСl. Инъекция осуществлялась путём подачи коротких (0,1–0,5 с) пульсов давления (10–50 PSI) в электрод. Для визуализации в электрод добавлялся биологически инертный краситель Fast Green (0,05%). Инъекцию прекращали, когда сома нейрона приобретала отчетливо зеленоватую окраску (вследствие Fast Green). После инкубации препарат помещался под объектив эпифлуоресцентного микроскопа и в нейрон вводился стандартный микроэлектрод для внутриклеточной регистрации. Затем изображение флуоресцирующих нейронов, заполненных оregonом, проецировалось на высокочувствительную CCD камеру, и изменение светимости нейронов, отражающее изменение внутриклеточной концентрации кальция, регистрировалось при помощи комплексной установки NeuroCCD (RedShirtImaging, USA). Запись внутриклеточной электрической активности нейрона в ответ на электрическую стимуляцию нервов осуществлялась параллельно оптической регистрации при помощи соответствующих стандартных методов.

Мы определили, как меняется кальциевый сигнал в премоторных интронейронах оборонительного поведения при стимуляции второго кожного или интестинального нервов при потенцирующем воздействии серотонина. Было проведено три эксперимента с применением однократной аппликации серотонина совместно с тетанизацией одного из нервов. Во всех экспериментах после аппликации серотонина наблюдалось кратковременное увеличение амплитуды ВПСП и одновременное увеличение ядерного и цитозольного кальциевых сигналов, в ответ на стимуляцию нерва. Ядерный и цитозольный кальциевые сигналы при этом имели схожую амплитуду, однако, во всех экспериментах привыкание цитозольного кальциевого сигнала происходило быстрее ядерного по мере уменьшения амплитуды ВПСП. Увеличение количества аппликаций серотонина с одного до пяти раз существенно увеличивало выраженность долговременной потенциации синаптических ответов в премоторных интронейронах. В трёх из пяти экспериментах, где было применено 5 аппликаций серотонина совместно с тетанизацией нерва, наблюдалась долговременная потенция ВПСП в течение 1 часа. Поскольку выраженные кальциевые сигналы изначально сопровождали только высокоамплитудные ВПСП, в двух из трёх экспериментах потенцирующее воздействие привело к вызову потенциала действия в ответ на стимуляцию нерва. Вызванные стимуляцией нерва ядерный и цитозольный кальциевые сигналы также демонстрировали увеличение амплитуды после применения серотонина. Интересно отметить, что только в одном эксперименте ядерный и цитозольный кальциевые сигналы оставались на потенцированном уровне в соответствие с потенцированной амплитудой ВПСП, в двух других экспериментах происходило падение амплитуды оптического кальциевого сигнала при одновременном сохранении амплитуды ВПСП. В оставшихся двух экспериментах с пятью аппликациями серотонина наблюдалось кратковременное увеличение амплитуды ВПСП и одновременно схожее по динамике изменение ядерного и цитозольного кальциевых сигналов.

Таким образом, амплитуда кальциевых сигналов, сопровождающих ВПСП в премоторных интронейронах, потенцируется при воздействии серотонина. Ядерный и цитозольный кальциевые сигналы характеризуются при этом схожей амплитудой и различной динамикой (ядерный сигнал затухает медленнее).

Работа поддержана грантом № 20-75-00090.

Роль экзополисахаридов пектобактерий в растительно-микробном взаимодействии

Исламов Б.Р.¹, Горшков В.Ю.¹, Петрова О.Е.¹, Микшина П.В.¹,
Бурыгин Г.Л.², Кадыйров А.И.³, Воробьев В.Н.¹, Гоголев Ю.В.¹

¹ Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

² Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, Саратов, Россия

³ Институт энергетики и перспективных технологий Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

e-mail: bah-islam80@mail.ru

The role of pectobacterial exopolysaccharides in plant-microbial interaction

Islamov B.R.¹, Gorshkov V.Y.¹, Petrova O.E.¹, Mikshina P.V.¹,
Burygin G.L.², Kadyrov A.I.³, Vorob'ev V.N.¹, Gogolev Y.V.¹

¹ Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

² Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Saratov, Russia

³ Institute of Energy and Advanced Technologies, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

Во время колонизации сосудов ксилемы фитопатогенная бактерия *Pectobacterium atrosepticum* образует «многоклеточные» структуры – бактериальные эмболы, которые необходимы для колонизации сосудов ксилемы. Формирование подобных многоклеточных структур обычно связано с образованием внеклеточного матрикса, основным компонентом которого являются экзополисахариды (ЭПС). Однако ЭПС пектобактерий не были описаны до наших исследований. В связи с этим, целью данной работы было получить чистый препарат ЭПС пектобактерий, расшифровать структуру регулярного звена полимера и выяснить роль ЭПС в растительно-микробном взаимодействии.

ЭПС *Pba* выделяли из бесклеточных супернатантов голодающих культур и фракционировали с помощью гель-проникающей хроматографии. Нами выявлено две основные фракции полимеров с молекулярными массами от 100 до 800 кДа, и менее 50 кДа. Мы акцентировали своё внимание на доминирующую фракцию полимеров (от 100 до 800 кДа). Структуру регулярного звена доминирующей фракции полимеров устанавливали с помощью ЯМР спектроскопии. Нами были проанализированы одномерные (¹H, ¹³C, ¹³C JMOD), двумерные гетероядерные (HSQC, HMBC) и гомоядерные (COSY, TOCSY, ROESY) ЯМР-спектры. Показано, что регулярное звено ЭПС представляет собой пентасахарид, остов которого состоит из остатков α-галактопиранозы, α-маннопиранозы и α-рамнопиранозы, соединенных 1,2 и 1,4 типами связи. К α-маннопиранозильному остатку в положении О-3 присоединена боковая цепь, включающая α-галактопиранозу и 10-и-углеродный разветвленный моносахарид эрвиниозу, соединенные 1,3-связью.

Далее на ЭПС пектобактерий нами были наработаны специфичные поликлональные антитела, с помощью которых мы продемонстрировали, что ЭПС действительно входят в состав матрикса бактериальных эмболов.

С помощью вискозиметрии нами было показано, что ЭПС пектобактерий увеличивают вязкость водных растворов. При этом увеличение вязкости, по всей видимости, было связано со способностью этих полимеров формировать агрегаты. При низких концентрациях (0,5 мг/мл) молекулы ЭПС формировали два типа частиц с гидродинамическими радиусами ~10 и ~60 нм. При увеличении концентрации полимера размер более крупных частиц (~60 нм) монотонно увеличивался до ~500 нм (при концентрации 50 мг/мл). Кроме того, при концентрации от 25 мг/мл и выше в растворе формировались очень крупные частицы более 8000 нм. Формирование агрегатов, по крайней мере отчасти, обеспечивали ацетильные группы, входящие в состав ЭПС. Деацетилирование ЭПС приводило к уменьшению гидродинамического радиуса частиц ЭПС.

Кроме того, ЭПС пектобактерий могут осуществлять детоксикацию АФК, которые активно образуются в инфицированных пектобактериями растениях, в том числе в сосудах первичной ксилемы, где формируются эмболы. Добавление ЭПС снижало интенсивность окисления салицилата натрия в ходе реакции Фентона.

Помимо этого, мы выяснили, что ЭПС влияют на иммунитет растений. При этом они служат в качестве иммуносупрессоров, подавляющих накопление АФК и образование каллозы, индуцируемых обработкой элиситорами количественного иммунитета.

Таким образом, в нашем исследовании были впервые описаны ЭПС пектобактерий, расшифрована их молекулярная структура и показано, что они входят в состав матрикса бактериальных эмболов. Продемонстрировано, что ЭПС пектобактерий обладают структурными свойствами, которые обеспечивают успешную колонизацию сосудов за счёт повышения вязкости ксилемного сока. Кроме того, выяснено, что исследуемые полимеры служат в качестве фитоиммуносупрессоров, подавляющих развитие иммунного ответа у растений.

Исследование структурных свойств ЭПС поддержано грантом РФФИ № 19-34-90124; определение антиоксидантных и иммунных свойств выполнено при финансовой поддержке РНФ № 19-14-00194.

Влияние блокады мускариновых холинорецепторов M1 подтипа на синаптическую передачу возбуждения в нервно-мышечных контактах лягушки

Ковязина И.В.¹, Ленина О.А.²

¹ Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

² Институт органической и физической химии им. А. Е. Арбузова Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

e-mail: irina.kovязина@list.ru

The influence of M1 muscarinic receptors blockade on the synaptic transmission in frog neuromuscular contacts

Kovязина I.V.¹, Lenina O.A.²

¹ Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

² Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

В настоящее время функционирование нервно-мышечного синапса принято рассматривать как систему, находящуюся под гомеостатическим контролем, то есть реагирующую на факторы, дестабилизирующие проведение возбуждения с нерва на мышцу и препятствующие генерации потенциала действия (ПД) мышечного волокна и мышечным сокращениям. Ретроградный контроль нейросекреции со стороны мышечного волокна может осуществляться с участием эндоканнабиноидов, эндостатина, эфринов, а также свободных радикалов (АФК, NO и т.д.), которые образуются в мышце при сократительной активности.

Нейрональные ацетилхолиновые рецепторы Н- и М- типов являются мишенью для АФК и NO, то есть степень их активности может в значительной степени варьировать в функционирующих и «парализованных» нервно-мышечных препаратах. Известно, что мускариновые рецепторы M1 подтипа присутствуют в нервно-мышечных синапсах позвоночных и участвуют в регуляции нейросекреции.

Целью данной работы было сравнить эффекты блокатора мускариновых холинорецепторов (ХР) M1 подтипа на амплитуду постсинаптических сигналов в нервно-мышечных препаратах портняжной мышцы лягушки с инактивированными Na⁺ каналами (μ -конотоксин РША, PeptideIns., Japan) и на вероятность генерации ПД мышечного волокна в нервно-мышечных препаратах, обездвиженных инкубированием миозинкиназы реагентом ВНС (3-(N-butylethanimidoyl)-4-hydroxy-2H-chromen-2-one, Hit2Lead/Chembridge, SanDiego, CA, USA), а также силу мышечных сокращений.

Исследования проводились на изолированных нервно-мышечных препаратах лягушки *Rana ridibunda*. Вызванные и спонтанные потенциалы концевой пластинки (ПКП) и ПД мышечного волокна регистрировались методом внутриклеточного микроэлектродного отведения в условиях ритмической

стимуляции двигательного нерва (0.5 до 100 имп/с). Сила мышечных сокращений измерялась при непрямой стимуляции нервно-мышечного препарата.

В работе показано, что в присутствии селективного блокатора рецепторов M1 подтипа VU-0255035 (100 нМ) наблюдалась более выраженная депрессия амплитуд постсинаптических ответов по сравнению с контролем. При стимуляции нерва с частотой 70 Гц в интактных препаратах наблюдалась фасилитация секреции в начале пачки стимулов: до $111.0 \pm 5.7\%$ к 15 стимулу, отсутствующая после блокады M1 рецепторов. Амплитуда ПКП к 40-му стимулу на фоне инактивации M1 XP также была на 10% ниже, чем в контроле. При этом, сила мышечных сокращений, вызванных стимуляцией с частотой 70 Гц, наоборот, была на 30% выше, чем в контроле. По-видимому, это связано с повышенной вероятностью генерации ПД мышечного волокна, наблюдаемой для первых 15 стимулов в высокочастотной пачке импульсов в присутствии VU-0255035.

При частоте стимуляции нерва 10 Гц не было отмечено достоверных различий в вероятности генерации ПД мышечного волокна в контроле и в присутствии VU-0255035. Это наблюдение коррелирует с незначительным снижением амплитуд ПКП при этой частоте стимуляции нерва как в контроле, так и при блокаде M1 XP.

Таким образом, блокада мускариновых рецепторов M1 подтипа оказывала разнонаправленные эффекты на изменение амплитуд ПКП в обездвиженных нервно-мышечных препаратах и вероятность генерации ПД, а также силу мышечных сокращений при высокочастотной стимуляции двигательного нерва. Механизмы, обуславливающие эти особенности сопряжения синаптических процессов и мышечных сокращений, являются предметом дальнейших исследований.

Поддержано грантом РФФИ № 20-04-00571.

Молекулярная сигнализация в клетках *Solanum bulbocastanum* в ответ на заражение *Pectobacterium versatile*

Колубако А.В., Николайчик Е.А.

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

e-mail: kolubakoav@yandex.by

Molecular signaling in *Solanum bulbocastanum* cells in response to *Pectobacterium versatile* infection

Kolubako A., Nikolaichik Y.

Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

Pectobacterium versatile – некротрофный патоген растений семейства Пасленовые, способный вызывать как болезни вегетирующих растений, снижающие урожайность, так и мягкие гнили клубней при хранении. Поскольку на данный момент не существует устойчивых к этому патогену сортов картофеля, исследование взаимодействий патосистемы картофель-пектобактерии с целью поиска факторов устойчивости растений остается актуальным.

Объектом настоящего исследования являлись растения дикого клубне-носного вида картофеля *Solanum bulbocastanum*, к которому, в отличие от *S. tuberosum*, применима технология вирус-индуцируемого сайленсинга.

Как показывают данные кПЦР, в растениях *S. bulbocastanum* при заражении патогеном *P. versatile* наблюдается снижение экспрессии генов *AAO3* и *NCED3*, кодирующих ферменты биосинтеза абсцизовой кислоты и повышение экспрессии гена *CYP707A1*, кодирующего гидроксилазу, инактивирующую АБК. Наблюдается также ингибирование жасмонатной сигнализации, о чём свидетельствует сверхэкспрессия негативного регулятора жасмонат-зависимых генов *JAZ3* и уменьшение количеств транскриптов *COI1*, гена регулятора, направляющего JAZ на деградацию, а завершает картину сниженная экспрессия гена липоксигеназы *LOX*, подконтрольной вышеназванным регуляторам и находящейся в конце регуляторной цепи. Противоположная картина наблюдается для генов, вовлечённых в салицилатную сигнализацию. Повышена экспрессия гена регуляторного белка NPR1, транскрипционного фактора TGA и подконтрольного ему гена защитного белка PR1 с антибактериальной активностью. Помимо прочего, повышена экспрессия гена MAP-киназы SIPK, индуцируемой салициловой кислотой.

Показано снижение экспрессии генов транскрипционных факторов WRKY6, WRKY65 и WRKY71 при заражении *P. versatile*. Сайленсинг *WRKY65* показал, что продукт этого гена участвует в подавлении экспрессии генов салицилатной сигнализации, начиная с сигнального NPR1, вплоть до PR1.

Подытоживая вышесказанное, нужно отметить, что заражение растений *S. bulbocastanum* бактериальным патогеном *P. versatile* приводит, предположительно, к снижению количеств абсцизовой кислоты и подавлению

жасмонат-зависимых генов. Салицилатная же сигнализация активируется, что приводит к запуску иммунного ответа, в том числе реакции гиперчувствительности. Такая стратегия эффективна против биотрофных патогенов, но является неоптимальной для борьбы с некротрофными патогенами, к коим относится *P. versatile*. Такая перенастройка сигнализации под действием *P. versatile* может определять успешность этого патогена при заражении растений картофеля.

Механизмы действия АТФ и его взаимодействия с сероводородом в тригеминальной системе крысы

Королёва К.С., Ермакова Е.В., Ситдикова Г.Ф.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

e-mail: k.s.koroleva@yandex.ru

The mechanisms of action of ATP and its interaction with hydrogen sulfide in the trigeminal system of the rat

Koroleva K.S., Ermakova E.V., Sitdikova G.F.

Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

Мигрень – хроническое заболевание, характеризующееся комплексом симптомов, включающих одностороннюю пульсирующую и продолжительную головную боль, часто сопровождающуюся тошнотой или рвотой, а также повышенной реакцией на световые или звуковые раздражители. Мигрень с её сложным патогенезом, включающим изменения со стороны нервной, иммунной и сердечно-сосудистой систем и ограниченной эффективностью медикаментозного лечения, представляет собой одну из актуальнейших проблем современной медицины.

Клинические и экспериментальные наблюдения свидетельствуют о ведущем вкладе тройничного нерва и сосудов оболочек головного мозга в формировании ноцицептивного сигнала при мигрени. Согласно пуринергической теории мигрени, предложенной Бернстоком, экстраклеточный АТФ вызывает вазодилатацию сосудов и таким образом провоцирует приступ мигрени. Кроме того, АТФ непосредственно стимулирует первичные нервные окончания, расположенные в твёрдой оболочке головного мозга, что приводит к повышению частоты генерации потенциалов действия в тройничном нерве, оказывая, таким образом, про-ноцицептивное действие. Однако, рецепторные механизмы действия АТФ в афферентах тройничного нерва и его влияние на тучные клетки в менингеальных оболочках недостаточно изучены. В научной литературе появляется всё больше данных об участии эндогенного газообразного посредника сероводорода (H₂S) в процессах ноцицепции. Иммуногистохимическими методами была показана экспрессия фермента синтеза H₂S – цистатионин-β-синтазы (ЦБС) в нейронах сенсорных ганглиев (спинномозговых и ганглиях тройничного нерва). Однако, данные о роли H₂S в ноцицептивной системе противоречивы. Однако, данные о влиянии H₂S на пуринергические механизмы ноцицепции и, в частности, при мигрени отсутствуют.

Цель исследования – анализ рецепторных механизмов влияния АТФ в периферических окончаниях тройничного нерва, а также выявление эффектов H₂S на АТФ-зависимые мишени, опосредующие генерацию ноцицептивного сигнала.

В ходе исследования были использованы: электрофизиологический метод регистрации потенциалов действия в тройничном нерве, флуоресцентный метод регистрации Са-сигналов изолированных нейронов тройничного ганглия, гистологический метод оценки дегрануляции тучных клеток.

Было показано, что эффекты АТФ связаны с активацией P2X3 рецепторов, а также включают дегрануляцию тучных клеток и высвобождение провоспалительных медиаторов, таких как АТФ и серотонин. Представленный каскад реакций может поддерживать высокий уровень АТФ, а также активировать рецепторы серотонина в периферических афферентах и, как следствие, обеспечивать длительную болевую импульсацию в тройничном нерве. Мы также проанализировали взаимодействие между АТФ и газомедиатором H₂S, который может синтезироваться в тройничных нейронах и оказывать собственные эффекты. Оказалось, что донор H₂S вызывает активацию электрической активности тройничного нерва за счёт преимущественно активации TRPV1 рецепторов. Однако, при этом донор H₂S полностью предотвращал АТФ-вызванное увеличение импульсации в тройничном нерве крысы. В основе этого эффекта лежит снижение амплитуды входящих токов через P2X3 рецепторы и подавление АТФ вызванных кальциевых сигналов в нейронах тройничного ганглия. Кроме того, H₂S снижал базовый уровень АТФ в оболочках головного мозга и предотвращал АТФ-вызванную дегрануляцию тучных клеток. Полученные данные свидетельствуют о возможной анти-ноцицептивной роли H₂S, особенно в случае развития хронического воспалительного процесса, оказывающего вклад в патогенез мигрени. Выявленные нами молекулярные механизмы прямого и непрямого про-ноцицептивного действия АТФ, также анти-ноцицептивное действие H₂S могут быть использованы в качестве терапевтических мишеней для разработки препаратов для лечения и/или профилактики мигрени.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ № 20-15-00100.

Анализ про-ноцицептивной роли потенциалзависимых калиевых каналов в регуляции возбудимости менингеальных афферентов тройничного нерва

Королёва К.С., Ермакова Е.В., Буглинина А.Д., Ситдикова Г.Ф.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

e-mail: k.s.koroleva@yandex.ru

Analysis of the pro-nociceptive role of voltage-gated potassium channels in the regulation of excitability of meningeal afferents of the trigeminal nerve

Koroleva K.S., Ermakova E.V., Buglinina A.D., Sitdikova G.F.

Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

Мигрень – хроническое заболевание, характеризующееся комплексом симптомов, включающих одностороннюю пульсирующую и продолжительную головную боль, часто сопровождающуюся тошнотой или рвотой, а также повышенной реакцией на световые или звуковые раздражители. Мигрень с её сложным патогенезом, включающим изменения со стороны нервной, иммунной и сердечно-сосудистой систем и ограниченной эффективностью медикаментозного лечения, представляет собой одну из актуальнейших проблем современной медицины.

Клинические и экспериментальные наблюдения свидетельствуют о ведущем вкладе тройничного нерва и сосудов оболочек головного мозга в формировании ноцицептивного сигнала при мигрени.

Непосредственно формирование боли при мигрени связано с активацией натриевых и калиевых ионных каналов в периферических нервных окончаниях в менингеальных оболочках, иннервируемых волокнами тройничного нерва. Возникающие в окончаниях нерва потенциалы действия (ПД) передаются в ствол мозга и далее в вышестоящие центры боли в ЦНС. Широко известно, что потенциал-управляемые Na^+ -, K^+ - и Ca^{2+} -каналы, рН-чувствительные ионные каналы (ASIC), TRP-каналы, лиганд-управляемые P2X, НМДА, АМПА и каинатные рецепторы участвуют в патогенезе боли. И если роль TRP, ASIC-каналов и P2X-рецепторов в механизме боли установлена, то роль K^+ -каналов в передаче ноцицептивной информации остается мало изученной. Калиевые каналы представляют собой гетерогенную группу, включая потенциал- и лиганд-активируемые. Спектр потенциал-активируемых каналов отвечает за реполяризацию мембранного потенциала во время генерации спайка, тогда как другие формируют мембранный потенциал покоя. Интерес к K-каналам также обусловлен тем, что различные типы K-каналов экспрессируются в ключевых структурах, вовлечённых в патогенез мигрени (афферентах тройничного нерва, нейронах тройничного ганглия и тригеминоцervикального комплекса, сосудах оболочек головного мозга). Однако на данный момент

роль калиевых каналов в механизмах боли и в частности, боли при мигрени изучена недостаточно.

Цель настоящего исследования – выяснение роли потенциал-зависимых К-каналов в ноцицептивной активности тройничного нерва крысы.

В ходе исследования были использованы: электрофизиологический метод регистрации потенциалов действия в тройничном нерве.

Мы показали, что блокатор Kv1 4-аминопиридин (4-АП, но не блокатор тетраэтиламмония, ТЭА) вызывает длительную и удивительно регулярную генерацию потенциалов действия (ПД) в волокнах тройничного нерва. Это «пульсирующее» возбуждение не наблюдалось в сомах изолированных нейронов тройничного нерва, что позволяет предположить, что для запуска спайковой активности необходимы дополнительные входные сигналы. Применение 4-АП увеличивало частоту ПД низкой амплитуды, но также «пробуждало» обычно малоактивные ПД большой амплитуды. Пульсирующее возбуждение тройничного нерва полностью блокировалось блокатором натриевых каналов ТТХ и значительно снижалось в присутствии Напроксена (нестероидного противовоспалительного препарата), при этом он был нечувствителен к агонисту 5-НТ1 Суматриптану. В присутствии 4-АП, внеклеточный АТФ и капсаицин вызвали дополнительные продолжительные эффекты возбуждения, что подразумевает сенсibilизацию нейронов, вызванную 4-АП. В соответствии с состояниями, подобными мигрени, 4-АП (но не ТЭА) способствовал высвобождению медиатора мигрени CGRP из мозговых оболочек. Этот связанный с мигренью эффект 4-АП блокировался Напроксеном и уменьшался Суматриптаном. Взятые вместе, наши данные предлагают новый механизм нейронального происхождения пульсирующей боли тройничного нерва.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ № 20-515-53005.

Изменение редокс-метаболизма в мозге крыс с пренатальной гипергомоцистеинемией

Краснова А.Н.¹, Сабанцев М.О.¹, Яковлев А.В.¹, Дмитриева С.А.²

¹ Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

² Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

e-mail: sankovik00@gmail.com

Redox metabolism in the brain of rats with prenatal hyperhomocysteinemia

Krasnova A.N.¹, Sabantsev M.O.¹, Yakovlev A.V.¹, Dmitrieva S.A.²

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

² Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

Гипергомоцистеинемия рассматривают в настоящее время, как фактор повышенного риска целого ряда акушерских осложнений, таких, как привычное невынашивание беременности, гестозы, тромбофилия и нарушения кровообращения плаценты, которые ведут к гипоксии плода и могут приводить к выкидышам. Повышенный уровень гомоцистеина в крови матери, за счёт его способности легко проникать через плацентарный и гематоэнцефалический барьеры, может приводить к различным патологиям развития плода: нарушениям формирования нервной трубки, врожденным порокам сердца и другим. В условиях пренатальной гипергомоцистеинемии хроническая гипоксия плода и высокие концентрации редокс-активных метаболитов гомоцистеина индуцируют в тканях мозга окислительные повреждения белков и липидов, увеличение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} , нарушают целостность нейрональных мембран и приводят к гибели нейрональных клеток. Считается, что нарушение редокс-метаболизма при пренатальной гипергомоцистеинемии, могут наблюдаться в тканях мозга на протяжении довольно длительного периода постнатального развития. В связи с этим, целью настоящей работы было изучение влияния пренатальной гипергомоцистеинемии на изменение редокс-метаболизма в тканях мозга крыс в течение первых месяцев постнатального развития.

В работе использовали описанную ранее модель пренатальной гипергомоцистеинемии, индуцированную повышенным поступлением метионина в организм матери с пищей. Все экспериментальные протоколы при работе с животными соответствовали этическим нормам по гуманному обращению с животными, принятыми в Казанском федеральном университете (одобрены Локальным этическим комитетом КФУ (протокол № 8 от 05.05.2015).

В первые недели постнатального развития в тканях мозга крыс с пренатальной гипергомоцистеинемией развивается окислительный стресс, который сопровождается усилением окислительной модификации белков, повышением уровня перекисного окисления липидов, изменением активности антиоксидантных ферментов (СОД, каталазы, глутатионпероксидазы,

глутатионредуктазы). Проведённое исследование показало, что у крыс с пренатальной гипергомоцистеинемией с возрастом наиболее значительно увеличивался уровень спонтанной окислительной модификации белковых молекул. Окислительная модификация белков вовлечена в клеточную сигнализацию и является одним из ранних и наиболее надежных маркеров окислительного стресса. При недостаточной работе систем протеолиза, от которых зависит удаления поврежденных белковых молекул, в клетке могут накапливаться высокомолекулярные агрегаты карбонилированных белков. Мы полагаем, что редокс-индуцированные нарушения структурной целостности и функциональной активности белковых молекул могут оказывать негативное влияние на ещё незрелые структуры мозга в пренатальный и ранний постнатальный периоды и приводить к когнитивным нарушениям при дальнейшем развитии.

Сигнальные системы, участвующие в регуляции водного обмена растений при их взаимодействии с ризобактериями

Кудоярова Г.Р., Архипова Т.Н., Мартыненко Е.В.

Уфимский институт биологии Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия

e-mail: guzel@anrb.ru

Signaling systems involved in the control of water relations in plants during their interaction with rhizobacteria

Kudoyarova G.R., Arkhipova T.N., Martynenko E.V.

Ufa Institute of Biology, Ufa Federal Research Centre, RAS, Ufa, Russia

Известно, что многие ризосферные бактерии активируют рост растений. Это их свойство объясняют, в частности, способностью бактерий синтезировать фитогормоны стимулирующего типа действия, а также разрушать гормоны-ингибиторы и их предшественники. Активация роста растений под влиянием ризосферных бактерий увеличивает площадь листьев, с которых испаряется вода, способствуя возрастанию транспирации, что может привести к снижению оводненности листьев. Тем не менее, этого не происходит, и во многих публикациях сообщается о том, что присутствие в ризосфере ростстимулирующих бактерий не снижает содержания воды в растениях. Эти результаты свидетельствуют о том, что бактерии влияют не только на рост растений, но и на водный обмен. Однако сведения о сигнальных системах, участвующих в регуляции водного обмена растений при их взаимодействии с бактериями, не достаточны и противоречивы.

Наши исследования проводились в лабораторных условиях на растениях твёрдой яровой пшеницы, в ризосферу которых вводили продуцирующие цитокинины и, в меньшей степени, ауксины бактерии *Bacillus subtilis* IB-22 (GenBank MT590663). За трое суток до начала эксперимента, почву в сосудах проливали либо водой, либо 100 мМ раствором NaCl до 100% от полной влагоёмкости.

В отсутствие засоления интродукция бактерий в ризосферу повышала содержание ауксинов и цитокининов в побегах растений, что могло быть обусловлено поглощением продуцируемых бактериями гормонов и индукцией синтеза ауксинов в самом растении под влиянием бактериальных цитокининов. Этими изменениями гормонального статуса растений можно было объяснить зарегистрированную в экспериментах активацию роста листьев под влиянием бактерий. Известно, что как цитокинины, так и ауксины повышают устьичную проводимость. Однако увеличения устьичной проводимости в данных экспериментах не было обнаружено, что очевидно было связано с зарегистрированным под влиянием бактерий накоплением АБК в листьях, т.е. гормона, способного, как известно, закрывать устьица. Накопления АБК в культуральной жидкости бактерий не было обнаружено, что не позволяет

объяснить увеличение содержания этого гормона в растениях под влиянием бактерий их способностью продуцировать АБК. Однако, опираясь на данные литературы о способности ауксинов повышать экспрессию гена *NCED* (Kraft et al., 2007), контролирующего синтез АБК, можно предполагать, что накопление АБК в растениях под влиянием бактерий могло быть связано с повышенным уровнем эндогенных ауксинов.

Иная картина наблюдалась на фоне засоления, которое вызывало повышение содержания АБК в растениях и снижение устьичной проводимости. На фоне засоления введение бактерий в ризосферу не повышало, а снижало содержание АБК в листьях по сравнению с растениями, в ризосферу которых бактерии не вводили. При этом не было зарегистрировано снижения оводненности листьев благодаря повышению гидравлической проводимости под влиянием бактерий. Повышение гидравлической проводимости на фоне засоления происходило одновременно с накоплением АБК в корнях растений, в ризосферу которых вводили бактерии. Известно, что АБК способна повышать гидравлическую проводимость, активируя водные каналы аквапорины. Это позволяет связать накопление АБК в корнях с повышением гидравлической проводимости на фоне интродукции бактерий в присутствие соли. Таким образом, интродукция бактерий сказывается не только на уровне АБК в растениях, но и на её распределении между побегом и корнем. Повышение уровня этого гормона в листьях в отсутствие стресса способствует ограничению устьичной проводимости и транспирации, а его накопление в корнях на фоне засоления приводит к повышению гидравлической проводимости. Передача сигнала от бактерий к растениям предположительно реализуется на уровне поглощения растением продуцируемых бактериями ауксинов и индукции синтеза ауксинов в растениях под влиянием бактериальных цитокининов, что в итоге приводит к активации синтеза АБК под влиянием ауксинов. Механизм регуляции распределения АБК под влиянием бактерий требует дальнейшего изучения.

Работа поддержана грантом РНФ № 21-14-00070.

Адренергическая регуляция сократимости миокарда предсердий мышив условиях моделирования гипергомоцистеинемии

Кунцевич Е.С., Гиляева А.А., Хаертдинов Н.Н., Блохина А.С.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

e-mail: kote.mate.12@gmail.com

Adrenergic regulation of mouse atrial myocardial contractility in hyperhomocysteinemia simulation

Kuntsevich E.S., Gulyaeva A.A., Khaertdinov N.N., Blokhina A.S.

Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

Повышение уровня гомоцистеина (ГЦ) в плазме крови, гипергомоцистеинемия (ГГЦ), выступает как новый и независимый фактор риска развития сердечно-сосудистых заболеваний. Показано, что при повышении концентрации ГЦ наблюдается ремоделирование миокарда, интерстициальный фиброз, гипертрофия миокарда, диастолическая и систолическая дисфункция. Также показано, что ГГЦ способствует развитию некроза и апоптоза кардиомиоцитов. В свою очередь, активация адренергических рецепторов (АР) является важным регуляторным механизмом сердечной деятельности. При этом активация различных подтипов адренорецепторов может вызывать как проаритмогенный, так и кардиопротекторный эффект. В связи с этим была поставлена цель исследовать адренергическую регуляцию сократимости предсердного миокарда мыши в условиях моделирования ГГЦ.

Исследования сократимости предсердий проводились в изометрических условиях на самцах белой лабораторной мыши *Mus musculus* дикого типа. Моделирование ГГЦ производилось при помощи повышения содержания метионина в рационе (7.7 гр/(кг·сут)). После препаровки сердца извлечённые предсердия фиксировались к тензодатчику (MLT 050/D или TSD 125C) и погружались в ванночки с раствором Рингера-Тироде, pH 7.3–7.4, объёмом 20 мл. Для насыщения раствора кислородом в ванночки подавался карбоген (95% O₂, 5% CO₂).

Кумулятивное добавление неселективного агониста β-АР изопротеронола (ISO) в концентрациях 1, 10, 100, 500 нМ, 1 мкМ приводило к достоверному положительному инотропному эффекту, проявившемуся с концентрации 10 нМ. При этом достоверных различий между контрольной группой мышей и мышей с ГГЦ не отмечалось. Для определения влияния ГЦ на адренергическую регуляцию миокарда была использована гомоцистеиновая кислота (ГЦК) в концентрации 300 мкМ, которая при добавлении оказывала отрицательный инотропный эффект, составивший $90.8 \pm 0.8\%$ ($n = 18$, $p < 0.05$) от исходной силы сокращений. На фоне ГЦК положительный инотропный эффект ISO сохранялся. За 100% принималась сила сокращения до начала добавления ISO. Достоверное увеличение силы сокращения в контроле

наблюдалось, начиная с концентрации 500 нМ, тогда как достоверное увеличение силы сокращения на фоне ГЦК наблюдалось для концентрации 10 нМ. Эффект ISO (10 и 100 нМ) на фоне ГЦК был достоверно больше, чем в контрольных условиях.

Таким образом, наши результаты предполагают возможность влияния гипергомоцистеинемии на адренергическую регуляцию, которая выражается в уменьшении эффективной концентрации агониста адренорецепторов, однако не влияет на величину максимального ответа на активацию адренорецепторов.

Влияние эффекторов Ca^{2+} -сигнальной системы и олигосахарина (OSRG) на ИУК-индуцируемое формирование адвентивных корней

Ларская И.А., Горшков О.В., Трофимова О.И., Горшкова Т.А.

Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

e-mail: pzl@mail.ru

The influence of the Ca^{2+} signaling system effectors and oligosaccharin (OSRG) on IAA-induced formation of adventitious roots

Larskaya I.A., Gorshkov O.V., Trofimova O.I., Gorshkova T.A.

Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

Взаимодействие различных сигнальных путей при развитии корневой системы исследовали на примере влияния эффекторов Ca^{2+} -сигнальной системы и стимулирующего ризогенез олигосахарина (OSRG) на ИУК-индуцируемое формирование адвентивных корней. Определение чувствительности стадий корнеобразования к ИУК, Ca^{2+} и олигосахарину на культивируемых эксплантах гипокотилей гречихи (*Fagopyrum esculentum* Moench) показало, что действие OSRG, как и Ca^{2+} относится к ранним стадиям процесса формирования корней и предшествует действию гормона. Ауксин может быть внесён в среду с задержкой, но не позднее, чем через час после начала культивирования эксплантов, а Ca^{2+} должен находиться в среде с самого начала культивирования. Количество ИУК-индуцированных адвентивных корней на сегментах гипокотилей гречихи уменьшалось при действии блокаторов Ca^{2+} -каналов (верапамил, дилтиазем), соединений, влияющих на высвобождение Ca^{2+} из внутриклеточных хранилищ (рутениевый красный, неомицин), а также антагонистов кальмодулина (хлорпромазин, флуфеназин). Эффект олигосахарина не зависел от функционирования потенциал-зависимых каналов плазмалеммы, что было показано с использованием блокатора кальциевых каналов (дилтиазем). Анализ данных профилирования транскриптома культивируемых эксплантов выявил в анализируемых образцах экспрессию 30 149 генов ($\text{TGR} > 16$), имеющих отношение к Ca^{2+} -сигналингу. Профиль экспрессии этих генов существенно менялся в ходе ИУК-индуцированного корнеобразования, при этом внесение OSRG оказывало эффект на экспрессию лишь некоторых из них.

Таким образом, наши результаты указывают на возможное взаимодействие двух сигнальных систем: универсальной, опосредуемой Ca^{2+} , и мало изученной сигнальной системы с участием биологически активных фрагментов полисахаридов клеточной стенки, которые вовлечены в ИУК-индуцируемое формирование адвентивных корней на ранних этапах развития процесса.

Трофотропный эффект неквантового ацетилхолина в норме и на модели хронической воспалительной демиелинизирующей полиневропатии *in vitro*

Лопатина Е.В.^{1,2}, Гавриченко А.В.^{1,2}, Пасатецкая Н.А.^{1,3}, Климшин С.И.¹, Соколова М.Г.⁴

¹ Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия

² Институт физиологии им. И. П. Павлова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

³ Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

⁴ Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

e-mail: evlopatina@yandex.ru

The trophotropic effect of non-quantum acetylcholine in normal and models of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy *in vitro*

Lopatina E.V.^{1,2}, Gavrichenko A.V.^{1,2}, Pasatetckaia N.A.^{1,3}, Klimshin S.I.¹, Sokolova M.G.⁴

¹ Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia

² Pavlov Institute of Physiology Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia

³ Almazov Federal Heart, Blood and Endocrinology Centre, Saint Petersburg, Russia

⁴ North-West State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia

Физиологическая роль неквантового ацетилхолина, выделяющегося в нервно-мышечном соединении, это проблема, которая привлекает внимание исследователей и клиницистов. Если участие неквантового ацетилхолина в модуляции процессов синаптической пластичности достаточно хорошо изучено, то данных о возможных трофотропных эффектах медиатора и его роли в механизмах, препятствующих прогрессированию нейродегенеративных заболеваний, до настоящего времени не было.

Целью работы было исследование трофотропного эффекта неквантового ацетилхолина в норме и на модели хронической воспалительной демиелинизирующей полиневропатии (ХВДП) *in vitro*.

Исследование состояло из двух частей: экспериментальной и клинической.

Экспериментальная часть исследования была проведена на эксплантах ткани скелетной мышцы 10–12-дневных куриных эмбрионов, которые культивировали в чашках Петри, на коллагеновой подложке, в течение 3-х суток в CO₂-инкубаторе (Binder, Германия). В питательную среду добавляли исследуемые вещества в широком диапазоне концентраций. Действие исследуемых агентов оценивали с использованием морфометрического метода и программы STATISTICA10.0.

Клиническая часть исследования проведена на базе отделений неврологии СЗГМУ им. И. И. Мечников и ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова (решение

этического комитета № 12 от 22.11.2017). В исследовании приняли участие 25 пациентов с установленным диагнозом ХВДП. Контрольную группу составили здоровые добровольцы ($n = 25$). В обеих группах проведено клиничко-неврологическое обследование, иммуноферментный анализ крови (кит ELISA) на содержание антител к н-ХР и электронейромиография.

В первой части работы оценивали влияние ацетилхолина в широком диапазоне концентраций на рост эксплантатов ткани скелетной мышцы 10–12-дневного куриного эмбриона. Для оценки возможного участия Na^+, K^+ -АТФазы в процессе ремоделирования ткани скелетной мышцы исследовано действие оуабаина в концентрациях, сопоставимых с эндогенными. Впервые обнаружены трофотропные эффекты ацетилхолина в неквантовой концентрации (10^{-8} М) и оуабаина (10^{-10} М). Получены экспериментальные доказательства существования связи между трофотропными эффектами ацетилхолина и модуляцией сигнальной функции Na^+, K^+ -АТФазы скелетных мышц.

С помощью иммуноферментного анализа в плазме крови пациентов с установленным диагнозом ХВДП впервые обнаружены антитела к н-ХР. Действие плазмы крови здоровых добровольцев и пациентов оценивали в условиях органотипической культуры ткани скелетной мышцы 10–12-дневных куриных эмбрионов в разведениях 1:30; 1:70; 1:100. Обнаружен ингибирующий рост эксплантатов ткани скелетной мышцы эффект плазмы крови пациентов. Предварительные исследования показали, что ацетилхолин в неквантовой концентрации нивелирует этот эффект. Обсуждается вопрос участия сигнальной функции Na^+, K^+ -АТФазы в этом механизме.

Участие оксида азота в метилжасмонат-опосредованной регуляции водного обмена растений пшеницы при дефиците воды

Лубянова А.Р., Васильев И.Д., Безрукова М.В., Шакирова Ф.М.

Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия

e-mail: Lubyanova555@mail.ru

Nitric oxide participation in methyl jasmonate-mediated water metabolism regulation in wheat plants under water deficit

Lubyanova A.R., Vasiljev I.D., Bezrukova M.V., Shakirova F.M.

Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Centre, RAS, Ufa, Russia

Растения часто подвергаются воздействию дефицита влаги, при котором нарушается баланс между поступлением и потерей воды. Для поддержания клеточного тургора при засухе закрываются устьица, что в свою очередь приводит к снижению или даже полному прекращению газообмена растений. Стресс-индуцированное уменьшение транспирации также способно вызывать перегрев растительного организма. Способность растений поддерживать транспирацию, а значит и интенсивность фотосинтеза, при воздействии стресс-факторов важна для их адаптации.

Ведущую роль в регуляции процессов развития растений в нормальных и стрессовых условиях внешней среды играют фитогормоны. Гормон растений жасмоновая кислота (ЖК) и её метиловый эфир метилжасмонат (МЖ) являются производными в метаболизме жирных кислот. Жасмонаты регулируют рост растений и участвуют в повышении урожайности сельскохозяйственных культур в изменчивых условиях окружающей среды, в том числе и при снижении доступности воды. Кроме того, известно, что жасмонаты взаимодействуют с сигналингом других фитогормонов и, таким образом, модулируют рост и развитие растений, а также их реакции на абиотический стресс, влияя на вторичный метаболизм, фотосинтез и метаболизм антиоксидантов. В частности, при воздействии стресс-факторов внешней среды обработка ЖК ингибирует снижение уровня цитокининов в растениях пшеницы. Из литературы известно, что наряду с митоген-активирующими протеинкиназами, активные формы кислорода, кальций, АБК, этилен и салициловая кислота являются важными компонентами путей передачи сигналов ЖК. Данная работа посвящена изучению участия сигнальной молекулы оксида азота (NO) в молекулярных механизмах передачи сигнала ЖК в регуляции водного статуса проростков пшеницы при воздействии засухи.

Дефицит воды у пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Салават Юлаев индуцировали 12% полиэтиленгликолем 6 000 (ПЭГ). Корневая предобработка в течение 24 ч как 10^{-7} М МЖ, так и донором оксида азота 200 мкМ нитропруссидом натрия (НПН) не повлияла на оводненность корней, относительное

содержание воды в листьях пшеницы, осмотический потенциал клеточного сока и транспирацию: значения этих показателей были такими же, как в контрольных растениях. После 5 ч воздействия 12% ПЭГ был обнаружен спад оводненности корней, относительного содержания воды в листьях, а также заметное уменьшение транспирации после 2 ч воздействия дефицита воды, тогда как к 3 ч воздействия ПЭГ транспирация у растений пшеницы снижалась в 2 раза. Уменьшение доступности воды в течение 24 ч вызывало также накопление осмотически активных веществ (аминокислоты пролина, сахаров, органических кислот и других), которые способствуют удержанию воды в клетках растений, поэтому показатель осмотического потенциала клеточного сока снижался. При этом, как у МЖ-предобработанных, так и НПН-предобработанных проростков пшеницы при воздействии 12% ПЭГ не изменялась оводненность корней, но увеличивалось относительное содержание воды в побегах; осмотический потенциал клеточного сока предобработанных растений пшеницы увеличивался, что подтверждает частичную компенсацию негативного влияния стресса на осмотический статус растений пшеницы. При воздействии 12% ПЭГ показатели транспирации у МЖ-предобработанных и НПН-предобработанных растений пшеницы также заметно увеличивались, приближаясь к контрольным значениям.

Оксид азота оказался важным медиатором сигналинга жасмонатов в регуляции водного статуса растений пшеницы, поскольку обработка 10^{-7} М МЖ вызвала более чем 1.5-кратное накопление NO в тканях проростков пшеницы уже со второго часа воздействия фитогормона, с максимумом, приходящимся на 3 ч по сравнению с контрольными растениями.

Совокупность полученных данных свидетельствует о том, что в обеспечении защитного эффекта при стрессе на показатели водного обмена растений пшеницы принимают участие жасмонаты, а сигнальной молекулой при этом является оксид азота.

Работа поддержана грантом РФФИ № 20-04-00904 и выполнена в рамках государственного задания (тема № АААА-А21-121011990120-7).

Исследование роли GSK-3 в регуляции митохондриального биогенеза в постуральной мышце крысы в условиях функциональной разгрузки

Львова И.Д., Шарло К.А., Рожков С.В., Мирзоев Т.М., Шенкман Б.С.

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва, Россия

e-mail: irrrra1@yandex.ru

Study of the role of GSK-3 in the regulation of mitochondrial biogenesis in rat postural muscle under functional unloading

Lvova I.D., Sharlo K.A., Rozhkov S.V., Mirzoev T.M., Shenkman B.S.

Institute of Biomedical Problems, RAS, Moscow, Russia

Функциональная разгрузка скелетных мышц характеризуется полным или частичным устранением опорной афферентации и наблюдается как в условиях микрогравитации у космонавтов, так и в земных условиях при постельном режиме, иммобилизации конечностей и различных опорно-двигательных нарушениях. Данное состояние приводит к исчезновению или значительному снижению сократительной активности постуральной *m. soleus*, последующему «запуску» функциональной перестройки мышц, выражающейся в атрофии мышечных волокон, снижении уровня биогенеза митохондрий, трансформации миозинового фенотипа и, в конечном итоге, приводит к повышенной мышечной утомляемости. Киназа гликогенсинтазы 3 (GSK-3) способна регулировать экспрессию медленной изоформы тяжёлых цепей миозина и экспрессию ключевого фактора биогенеза митохондрий PGC1 α . Мы предположили, что введение ингибитора GSK-3 на фоне 7 суток функциональной разгрузки способно предотвратить инактивацию биогенеза митохондрий в *m. soleus* крыс. Снижение экспрессии мРНК PGC1 α , наблюдаемое после 7 суток вывешивания, было предотвращено в группе с введением ингибитора GSK-3. Также было предотвращено снижение экспрессии его мишени – фактора транскрипции митохондриальных генов TFAM и содержания митохондриальной ДНК. Данные изменения в группе с ингибированием GSK-3 сопровождалось частичным предотвращением снижения мРНК гена *myh7b*, что свидетельствует о возможной корегуляции экспрессии миозиновых генов и митохондриального биогенеза в *m. soleus* крыс в условиях функциональной разгрузки.

Работа выполнена в рамках проекта РНФ № 17-75-20152.

NO-опосредованная аутофагия: нитрозилирование белков

Мазина А.Б.^{1,2}, Газизова Н.И.², Даминова А.Г.^{1,2}, Сибгатуллина Г.В.¹,
Минибаяева Ф.В.^{1,2}

¹ Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

² Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

e-mail: abmazina@gmail.com

NO-mediated autophagy: protein nitrosylation

Mazina A.B.^{1,2}, Gazizova N.I.², Daminova A.G.^{1,2}, Sibgatullina G.V.¹,
Minibayeva F.V.^{1,2}

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

² Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

В жизнедеятельности эукариот большое значение имеет высококонсервативный, сложно-регулируемый катаболический процесс аутофагия. В растениях роль аутофагии показана в онто- и органогенезе, старении и программируемой гибели клеток. При стрессе активация аутофагических процессов направлена на эффективное расщепление макромолекул с целью обеспечения клеток необходимыми строительными и энергетическими субстратами, а также своевременное удаление окисленных или отслуживших макромолекул и поврежденных структур. Активные формы азота являются сигнальными молекулами, участвующими в аутофагии. Ключевым механизмом NO-опосредованного сигналинга является посттрансляционная модификация белков посредством S-нитрозилирования. В клетках животных информация о роли S-нитрозилирования белков в процессе аутофагии является «горячей темой» обсуждения. Для растений информация, свидетельствующая о роли S-нитрозилирования белков в аутофагических процессах, крайне ограничена. В связи с этим, целью работы является анализ S-нитрозилирования белков, вовлечённых в процесс аутофагии в клетках корней пшеницы. Нами показано, что 3-х часовая инкубация проростков пшеницы в растворах NO-доноров приводила к увеличению уровня NO в клетках корней, накоплению аутофагосом и изменению редокс-статуса клеток. NO-опосредованная аутофагия сопровождалась повышением уровня транскриптоаутофагических (ATG) генов, а также генов, кодирующих энергетические сенсоры протеинкиназу SnRK1 и глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназу. Биоинформатический анализ выявил наличие гипотетических сайтов S-нитрозилирования в структуре ключевых аутофагических белков *Triticumaestivum*, участвующих на разных стадиях аутофагии, а также мультифункциональных белков, которые также вовлечены в процесс аутофагии. Это указывает на возможность регуляции активности различных белков посредством S-нитрозилирования при NO-индуцируемой аутофагии.

С помощью иммуноцитохимического анализа с использованием специфических моноклональных первичных и вторичных флуоресцентных антител

S-нитрозилированные белки были визуализированы в клетках корней *T. aestivum* при индукции аутофагии донором оксида азота KNO_2 . Методом иммунопреципитации с последующим Вестерн-блоттингом было подтверждено, что по сравнению с контролем в образцах, обработанных KNO_2 , наблюдалось увеличение содержания S-нитрозилированных белков. Кроме того, усиление S-нитрозилирования белков наблюдалось также при индукции аутофагии митохондриальным ядом антимицином А.

Полученные данные свидетельствуют о том, что S-нитрозилирование белков является одним из ключевых механизмов регуляции аутофагических процессов в клетках растений при стрессе.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ (проект «Аспиранты» № 20-34-90042).

Роль пероксида водорода в снижении негативного действия засухи в растениях пшеницы под влиянием эндофитных бактерий и их композиции с салициловой кислотой

Масленникова Д.Р., Ласточкина О.В.

Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия

e-mail: dishaoil@mail.ru

Role of hydrogen peroxide in reducing the negative effect of drought in wheat plants under the influence of endophytic bacteria and their composition with salicylic acid

Maslennikova D.R., Lastochkina O.V.

Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Centre, RAS, Ufa, Russia

В современном растениеводстве широко используются пестициды, которые имеют химическое происхождение и оказывают крайне негативное действие на здоровье человека и состояние окружающей среды. В качестве альтернативы химическим препаратам всё более широкое применение находят биопрепараты на основе полезных ростостимулирующих бактерий (PGPB – plant growth promoting bacteria), характеризующихся свойствами индукторов устойчивости растений к стрессовым факторам биотической и абиотической природы, включая засуху. Пристальный интерес вызывают эндофитные бактерии *Bacillus subtilis*, способные колонизировать ткани растений-хозяев и, не причиняя им вреда изнутри, влиять на их метаболизм в ходе всего онтогенеза, сохраняя защитный потенциал в послеуборочный период. Наряду с этим в практике широко применяется салициловая кислота (СК) – эндогенный регулятор роста растений, который является признанным индуктором системной устойчивости, обладающий способностью повышать устойчивость растений к неблагоприятным факторам разной природы. Таким образом, *B. subtilis* и СК являются «природными» регуляторами роста, оказывающими ростостимулирующий и защитный эффект на растения. В основе проявлений этих реакций лежит их способность регулировать состояние составляющих про- и антиоксидантной системы, в частности, содержание пероксида водорода (H_2O_2), ключевая роль которого в реализации физиологических и защитных реакций не вызывает сомнений. В данной работе была проведена оценка содержания H_2O_2 в корнях растений пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сортов Салават Юлаев (СЮ) (засуховосприимчивый) и Экада 70 (Э70) (засухоустойчивый), имеющих разные стратегии адаптации к засухе, предобработанных *B. subtilis* 104, СК и композицией *B. subtilis* 104+СК и произраставших в норме и при дефиците влаги. В ходе работы семена пшеницы обоих сортов подвергали предпосевной обработке *B. subtilis* 104 (10^5 КОЕ/мл), СК (50 мкМ) и их композицией, прорастивали до 4-суточного возраста и инкубировали на 12% ПЭГ-6000, которым моделировали дефицит влаги.

Обнаружено, что засуха вызывала транзитное почти трёхкратное накопление H_2O_2 , регистрируемое на 30 минутах эксперимента в корнях растений сорта СЮ и незначительное его накопление (130–140% от контроля) в корнях растений сорта Э70, что сопоставимо отражалось на показателях биомассы корней этих растений к концу 7-часового эксперимента. Предобработка семян пшеницы Э70, как *B. subtilis* 104, СК, так и их композицией оказала одинаковый защитный эффект на эти растения, и содержание H_2O_2 составляло 110–115% от контроля. К концу эксперимента вес их корней достигал уровня контрольных растений. Однако растения сорта СЮ показали разную степень эффективности используемых регуляторов роста. Так, использование СК и 104 демонстрировало схожий по уровню защитный эффект, и уровень генерации H_2O_2 в этих корнях составил 135–140% от контроля; тогда как применение 104+СК предотвращало стресс-индуцированное накопление H_2O_2 , и его уровень соответствовал контрольному, и такое же различающееся действие предобработок наблюдалось в ходе оценки биомассы корней этих растений. Следует отметить, что в нормальных условиях произрастания применение регуляторов роста 104, СК и 104+СК не оказало влияния на содержание H_2O_2 , не изменяя его содержание относительно контроля в корнях обоих сортов. При этом у необработанных контрольных растений в норме исходный уровень H_2O_2 был заметно выше у сорта Э70, что указывает на то, что этот сорт является конституционно более устойчивым относительно СЮ, и применение регуляторов роста нивелирует действие стресса, при этом у СЮ они демонстрируют настоящий протекторный эффект на фоне большей восприимчивости этого сорта к нарушению водного режима. Вместе с тем, применение композиции 104+СК, является более эффективным, поскольку бактерии, проникая во внутрь растения, запускают каскад метаболических реакций, при этом СК способствует становлению устойчивости, что в итоге отражается в физиологическом состоянии этих растений при стрессе. Таким образом, полученные данные свидетельствуют в пользу того, что способность эндофитных бактерий в отдельности и в композиции с СК регулировать накопление H_2O_2 в условиях дефицита влаги является важным компонентом, вовлекаемым в индуцированную ими устойчивость растений пшеницы к дефициту влаги.

Работа выполнена в рамках государственного задания по теме № АААА-А21-121011990120-7 с привлечением приборного парка РЦКП «Агидель» УФИЦ РАН и частично при финансовой поддержке РФФИ (проект № 19-016-00035_а).

Роль пероксида водорода в реализации устойчивости растений томата, трансгенных по гену *psl* и *rapA1*, при действии *Rhizobium leguminosarum* в условиях кадмиевого стресса

Масленникова Д.Р., Чубукова О.В., Вершинина З.Р.

Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия

e-mail: dishaoil@mail.ru

Role of hydrogen peroxide in the realization of the resistance of tomato plants carrying the genes *psl* and *rapA1* inoculated by *Rhizobium leguminosarum* under cadmium stress

Maslennikova D.R., Chubukova O.V., Vershinina Z.R.

Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Centre, RAS, Ufa, Russia

Известно, что активные формы кислорода (АФК), в том числе и пероксид водорода, являются частью сигнальных путей, необходимых для успешного образования как ассоциативных, так и внутриклеточных симбиозов растений с микроорганизмами. АФК играют ключевую роль в передаче сигналов, участвуя в регуляции на уровне транскрипции и посттрансляционной модификации белков, критичных для симбиотических процессов.

В работе проведён анализ содержания пероксида водорода в корнях трансгенных по генам *psl* и *rapA1* растений томата сорта Грунтовый Грибовский 1180 после предварительной инокуляции корней микросимбионтом бобовых растений *Rhizobium leguminosarum* VSy3 в нормальных условиях произрастания и при воздействии сульфата кадмия.

После 2-суточного инокулирования с ризобиями содержание пероксида водорода в растениях томата, трансформированных геном *psl*, увеличилось примерно на 165%, в растениях, трансгенных по гену *rapA1* – на 130–140%, в растениях дикого типа – на 120–125% относительно контрольных необработанных бактериями растений. Такой повышенный уровень пероксида водорода не оказывал негативного воздействия на растения, более того, присутствие бактерий оказывало стимулирующее действие на их рост, что выражалось в существенном повышении показателей сухой биомассы корней, особенно у томатов, трансформированных геном *psl*. Увеличение содержания H_2O_2 в данных экспериментах связано с колонизацией бактериями поверхности корней, что эффективнее происходит у трансгенных растений. В случае растений трансгенных по гену *psl*, стоит отметить ещё проникновение бактерий внутрь корневых волосков, что также активизирует повышение количества АФК, являющееся характерным признаком этого этапа симбиотических взаимодействий.

Внесение в среду культивирования неинокулированных томатов дикого типа 5 мкМ сульфата кадмия на 12 ч приводило более чем к двукратному

накоплению H_2O_2 в корнях данных растений, это свидетельствует о развитии окислительного стресса, который приводит к значительному торможению их роста. Инокуляция ризобиями томатов дикого типа существенно снижала негативное влияние сульфата кадмия, что проявлялось в менее чем 180%-ной генерации пероксида водорода и небольшом, но достоверно отличающемся накоплении сухой биомассы корней растений по сравнению с контрольными не инокулированными томатами в этих же условиях. Вероятно, это связано, в том числе функционированием антиоксидантной системы микросимбионтов.

Оценка генерации H_2O_2 в корнях трансгенных растений в присутствии бактерий после воздействия сульфата кадмия показала значительное снижение стресс-индуцированного накопления АФК, что говорит о том, что эти ассоциации являются устойчивыми к действию тяжёлых металлов. Значительное смягчение действия кадмиевого стресса было обнаружено у растений, трансгенных по гену *psl*, содержание пероксида водорода в их корнях составило 145% от уровня контроля, а сухая биомасса была достоверно выше, чем у дикого типа томатов в тех же условиях. Растения, трансгенные по гену *rapA1* и обработанные ризобиями, также демонстрировали устойчивость к воздействию ионов кадмия, но не так ярко, как растения, трансформированные геном *psl*.

Полученные результаты расширяют наши представления об АФК опосредованных сигнальных взаимодействиях, вовлекающихся как в развитие симбиоза, так и устойчивость растений к воздействию абиотических стрессов, в частности, тяжёлых металлов. Инокулирование ризобиями, по всей вероятности, способствует «преадаптации» макросимбионтов к возможному стрессу, и достигаемое физиологическое состояние позволяет растениям легче переносить токсическое влияние сульфата кадмия, что наиболее ярко проявляется в случае трансгенных растений, которые эффективнее колонизируются ризобиями. Положительное влияние микросимбионтов в том числе связано и со способностью ризобий вызывать накопление в тканях корней пероксид водорода, играющего важную роль как в симбиотических взаимодействиях, так и в реализации устойчивости растений к широкому спектру стрессовых факторов, а также с функционированием собственной антиоксидантной системы бактерий.

Работа была выполнена с привлечением приборного парка РЦКП «Агидель» УФИЦ РАН в рамках госзадания (тема № АААА-А21-121011990120-7).

Адаптация к стрессорам и эволюция вирулентности у микоплазм: молекулярные основы развития резистентности к фторхинолонам у *Acholeplasma laidlawii*

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

¹ Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

² Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

e-mail: elena-med@list.ru

Adaptation to Stressors and the Evolution of Virulence in Mycoplasmas: Molecular Basis for the of Development of Resistance to Fluoroquinolones in *Acholeplasma laidlawii*

Medvedeva E.S.¹, Mouzykantov A.A.¹, Kostenko V.V.^{1,2}, Baranova N.B.¹, Markelova M.I.^{1,2}, Sabouni R.G.^{1,2}, Khusnutdinova D.R.^{1,2}, Chernova O.A.¹, Chernov V.M.¹

¹ Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Science Centre of RAS, Kazan, Russia

² Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

Микоплазмы (здесь и далее – собирательное название представителей класса Mollicutes), гипермутабельные бактерии, широко распространены как комменсалы высших эукариот; некоторые являются патогенами человека и животных, основными контаминантами клеточных культур всех типов, ведущих своё происхождение от тканей человека, животных и растений. Контроль микоплазменной контаминации – серьёзная проблема, решение которой связывают с выяснением арсенала средств адаптации микоплазм к стрессорам. Современные методы высокого разрешения позволили: 1) продемонстрировать высокую пластичность микоплазм; 2) обнаружить, что существенный вклад в быструю адаптацию микоплазм к стрессорам и реализацию вирулентности вносят внеклеточные везикулы, транспортирующие соединения широкого спектра (белки, ДНК, РНК, в том числе короткие РНК), опосредующие сигналинг и межклеточные взаимодействия; 3) предположить, что адаптация к одному стрессору может ассоциировать у одного вида микоплазмы с различными молекулярными паттернами, определяющими клеточную биологию и вирулентность бактерии. На верификацию соответствующей гипотезы были направлены наши исследования. Сравнительный анализ профилей геномов, клеточных и везикулярных протеомов, а также вирулентности у резистентных к ципрофлоксацину штаммов *Acholeplasma laidlawii* – убиквитарной микоплазмы, инфицирующей человека, животных, растения, являющейся основным контаминантом клеточных культур и вакцинных препаратов, явился задачей данной работы.

В результате анализа данных полногеномного секвенирования штаммов *A. laidlawii* с дифференциальной чувствительностью к ципрофлоксацину было установлено, что развитие резистентности к антимикробному препарату во всех случаях сопровождается множественными изменениями в первичной структуре генома микоплазмы. Мутации регистрируются в генах, вовлечённых не только в защитные механизмы (включая адаптацию к фторхинолонам), но также фундаментальные клеточные процессы и вирулентность. Однако генетическая сигнатура вирулома, характерная для всех исследованных ципрофлоксацин – устойчивых штаммов *A. laidlawii*, отсутствует.

Развитие резистентности к ципрофлоксацину у *A. laidlawii* также ассоциируется с изменением экспрессии и секреции сотен белков. При этом протеомные профили штаммов существенно различаются, в том числе в отношении факторов вирулентности, что может указывать на дифференциальный потенциал вирулентности штаммов микоплазмы. Действительно, в результате сравнительного анализа вирулентности штаммов *A. Laidlawii in vivo* (на модельном организме *Drosophila melanogaster*) было показано, что инфицирование дрозофилы клетками микоплазмы оказывает значимое влияние на жизнеспособность, репродукцию, а также геном энтероцитов и структуру микробиоты кишечника мух, в том числе в отношении таксономических групп бактерий, модуляция представленности которых может приводить к стремительным сдвигам генетической структуры популяции дрозофилы. При этом степень влияния штаммов микоплазмы на соответствующие показатели различается и не зависит от уровня их фенотипической резистентности. Аналогичный характер изменений показателей ДНК-повреждения энтероцитов и таксономического разнообразия структуры кишечной микробиоты *D. melanogaster* при инфицировании конкретными штаммами *A. laidlawii* указывают на возможность вовлечения в реализацию патогенности микоплазмы микробиом-опосредованных механизмов.

В результате наших исследований впервые показано, что вирулом и вирулентность существенно различаются у ципрофлоксацин-устойчивых штаммов, в том числе штаммов с одинаковым уровнем резистентности к антимикробному препарату. Полученные данные свидетельствуют, что развитие устойчивости к фторхинолонам *in vitro* у микоплазмы ассоциирует с различными траекториями эволюции вирулентности микоплазмы, и определяют необходимость коррекции стратегии контроля гипермутабильных бактерий.

Разнообразие возбудителей розовой снежной плесени и их устойчивость к фунгицидам

Мещеров А.Р.², Гоголева О.А.², Пономарева М.Л.², Пономарев С.Н.², Балкин А.С.², Гоголева Н.Е.¹, Петрова О.Е.¹, Осипова Е.В.¹, Гоголев Ю.В.¹, Горшков В.Ю.¹

¹ Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

² Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

e-mail: gogolewaoa@yandex.ru

Diversity of pink snow mold pathogens and their resistance to fungicides

Mescherov A.R.², Gogoleva O.A.², Ponomareva M.L.², Ponomarev S.N.², Balkin A.S.², Gogoleva N.E.¹, Petrova O.E.¹, Osipova E.V.¹, Gogolev Yu.V.¹, Gorshkov V.Yu.¹

¹ Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

² Tatar Research Institute of Agriculture, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

Снежная плесень – это опасное заболевание озимых злаковых культур, вызываемое психрофильными и психротолерантными грибами и грибоподобными организмами. Характерной особенностью этих фитопатогенов является то, что они паразитируют в основном зимой под обильным снежным покровом при низких положительных температурах, поражая покоящиеся зимующие растения. *Microdochium nivale* и *M. majus* психротолерантные аскомицеты, вызывающие розовую снежную плесень озимых культур. Эти виды очень схожи между собой и, когда не удается определить точную видовую принадлежность, их обозначают как *M. nivale sensu lato*, а когда таксономическое положение точно выяснено, их разделяют на 2 вида *M. nivale sensu stricto* и *M. majus*.

Ущерб, наносимый снежной плесенью, может достигать уровня эпифитотий, при котором потери урожая озимых культур могут превышать 50%. Существует целый ряд причин высокой вредоносности снежноплесневых грибов: во-первых, лишь единичные современные сорта зерновых культур имеют устойчивость к этим грибам, во-вторых, возбудители снежной плесени очень слабо охарактеризованы, что формирует преграду для разработки способов их контроля. В частности, известно, что большинство фунгицидов неэффективны против снежной плесени из-за того, что развитие этого заболевания происходит во время/после длительного залегания снежного покрова. Тем не менее, существует ряд фунгицидов, которые рекомендованы для подавления снежной плесени. Однако в ряде фермерских хозяйств было замечено, что резистентность снежноплесневых грибов к этим препаратам значительно возрастает.

В связи с этим, целью нашей работы было создание коллекции современных изолятов *M. nivale* и оценка их резистентности к фунгицидным препаратам, применяемым в сельском хозяйстве.

Изоляты грибов выделяли из озимых растений ржи (*Secale cereale*), пшеницы (*Triticum aestivum*) и тритикале (*Triticosecale*), поражённых снежной плесенью, сбор растительного материала проводили сразу после таяния снега. С помощью стандартных микробиологических методик выделено 157 чистых культур грибов, по морфологическим критериям отнесенным к виду *M. nivale*. Для подтверждения и уточнения таксономической принадлежности у части выделенных изолятов грибов было проведено секвенирование таксономически информативного участка ITS2 (межгенный спейсер рибосомного оперона 2). Полученные последовательности были использованы для биоинформатического анализа, в результате которого выяснено, что выделенные изоляты действительно принадлежат к *M. nivale* и распределяются по 4 филогенетическим группам. Последовательности первых 2 групп характерны и для *M. nivale sensu lato*, последовательности 2-х других групп характерны только для *M. nivale sensu stricto*.

Для выделенных изолятов был проведён скрининг на устойчивость к фунгицидным препаратам Карбендазиму и Тебу 60 (действующее вещество тебуконазол), активно применяемым в сельском хозяйстве для борьбы со снежной плесенью. В результате было выяснено, что 84 из 157 изолятов *M. nivale* были устойчивы к Карбендазиму и 46 из 157 были устойчивы к препарату Тебу60.

Таким образом, нами было выяснено, что сообщество грибов *M. nivale* на территории республики Татарстан представлено генетически и фенотипически разнородными вариантами, многие из которых имеют высокую устойчивость к современным фунгицидным препаратам. В настоящее время нами проводится поиск возможной взаимосвязи между принадлежностью к той или иной генетической/морфофизиологической группе и фунгицид-резистентностью.

Исследование поддержано мегагрантом № 075-15-2019-1881 Министерства науки и высшего образования РФ.

Анализ экспрессии генов лектинов льна с помощью FIBexDB

Мокшина Н.Е., Петрова Н.В., Горшкова Т.А.

Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

e-mail: natalali@list.ru

Analysis of lectin gene expression using FIBexDB

Mokshina N.E., Petrova N.V., Gorshkova T.A.

Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

Лектины представляют собой белки, способные распознавать углеводные фрагменты и взаимодействовать с ними, но не обладают ферментативной активностью по отношению к углеводу. Однако тот факт, что гены лектинов экспрессируются в тканях и органах растений при нормальном развитии растений без каких-либо биотических и абиотических воздействий, дает основание предполагать, что распознавание эндогенных углеводных мотивов, возникающих, например, во время динамической перестройки клеточной стенки растения, является одной из жизненно важных, но плохо охарактеризованных функций растительных лектинов. Недавно нами были выявлены различные наборы лектинов, экспрессия которых специфично активировалась в тканях стебля льна, отличающихся по типу формируемых клетками клеточных стенок.

С помощью FIBexDB мы проанализировали экспрессию генов белков с лектиновыми доменами в различных тканях льна, включая кончики корней, инфицированные *Fusarium oxysporum*. В целом было выявлено два кластера лектинов, гены которых понижали или повышали экспрессию в ходе инфекции. Лектины, экспрессия генов которых была подавлена, коэкспрессировались с генами, продукты которых вовлечены в биосинтез белка (кальретикулины), формирование клеточной стенки (галактозидазы) и функционирование цитоскелета (малектины). Среди генов, повышающих экспрессию, были гены лектинов принадлежащих семействам hevein, Nictaba и GNA. Кроме того, используемый нами подход позволил вывить гены лектинов, экспрессия которых может определять устойчивость льна к *Fusarium oxysporum*, например гены, кодирующие амарантины. В докладе будут описаны основные участники из каждой группы (паттерн экспрессии, сеть коэкспрессии). База экспрессионных данных льна FIBexDB оказалась эффективным инструментом как для визуализации данных и поиска общих закономерностей в экспрессии лектинов льна, так и для выявления определённых лектинов, играющих важную роль в защите растений и их онтогенезе.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке грантов РНФ № 20-44-07005 (разработка FIBexDB) и № 20-64-47036 (аннотация генов лектинов льна и анализ их экспрессии).

Этилен как фактор восприимчивости растений к возбудителям мягких гнилей

Моруженкова В.А.^{1,2}, Горшков В.Ю.^{1,2}, Гоголев Ю.В.^{1,2}, Парфирова О.И.², Петрова О.Е.²

¹ Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань, Россия

² Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

e-mail: varvara.moruzhenkova@gmail.com

Ethylene as a factor of plant susceptibility to the soft rot-causing pathogens

Moruzhenkova V.A.^{1,2}, Gorshkov V.Y.^{1,2}, Gogolev Y.V.^{1,2}, Parfirova O.I.², Petrova O.E.²

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

² Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

Типичные инфекции, вызываемые пектобактериями у растений, выражаются мацерацией тканей и некрозом клеток. Однако большую часть жизненного цикла пектобактерии колонизируют растения, приводя к развитию латентной инфекции. Выяснение причин перехода латентной инфекции в типичную – важная задача, решение которой позволит не только лучше понять фундаментальные основы функционирования патологических систем, но и разработать подходы для контроля инфекционных заболеваний растений.

Одной из причин трансформации бессимптомного взаимодействия пектобактерий и растений в типичную инфекцию служит активация жасмонатопосредуемой гормональной системы. У пектобактерий есть специальный фактор вирулентности – коронафациевая кислота, которая, являясь функциональным аналогом жасмонатов, индуцирует жасмонатопосредуемую гормональную систему. Инактивация гена *cfab*, кодирующего фермент биосинтеза коронафациевой кислоты, приводит к тому, что мутантный штамм пектобактерии способен вызывать в основном латентные инфекции, которые лишь изредка трансформируются в типичные. Показано, что обработка растений жасмонатами не восстанавливает вирулентность мутантного штамма до уровня дикого типа. В связи с этим было сделано предположение, что жасмонаты не единственные регуляторные соединения, предопределяющие переход латентной инфекции в типичную.

Жасмонаты работают в тандеме с этиленом, и ранее показано, что при типичной инфекции увеличивается уровень экспрессии этилен-регулируемых маркерных генов. Однако влияние этилена на бессимптомное взаимодействие пектобактерий и растений ранее исследовано не было.

В ходе наших экспериментов показано, что в случае инфицирования пектобактериями дикого типа этилен и метилжасмонат по отдельности существенного влияния на соотношение растений с типичной инфекцией и латентной не оказали. При совместном внесении гормонов доля растений с

выраженными симптомами заболевания увеличилась, что особенно отчетливо проявилось при высоких концентрациях этилена.

Тот же эффект, но в более явной форме наблюдали на растениях, инфицированных *cfab* мутантным штаммом, преимущественно вызывающим латентные инфекции. Обработка таких растений гормонами по отдельности не приводила к увеличению доли растений с типичной инфекцией, а обработка двумя гормонами совместно динамично восстанавливала агрессивность мутантного штамма даже выше уровня дикого типа.

В случае растений, на которых развивалась типичная инфекция, независимо от того, диким или мутантным штаммом эти растения были инфицированы, экзогенные фитогормоны существенного влияния на экспрессию этилен-регулируемого гена ERF1 не оказывали. Это, по-видимому, связано с тем, что при типичной инфекции уровень экспрессии этого гена достигает своего максимума, и дополнительная гормональная стимуляция уже не оказывает эффекта.

В неинфицированных растениях этилен сам по себе не индуцировал экспрессию гена ERF1. Индукция экспрессии этого гена происходила только на фоне двух гормонов: и метилжасмоната, и этилена, причём пропорционально концентрации этилена. Та же тенденция была и для растений, на которых после инфицирования мутантным штаммом пектобактерии развивалась латентная инфекция. Чем выше был уровень экспрессии гена ERF1 в бессимптомных растениях, тем на большем проценте растений развивалась типичная инфекция с выраженными симптомами заболевания.

Таким образом, нами продемонстрировано, что этилен, как и жасмонаты, служит фактором восприимчивости растений к пектобактериям. При этом два исследуемых гормона проявляют синергичный эффект, трансформируя латентную форму взаимодействия пектобактерий и растений в типичную инфекцию.

Исследование поддержано грантом РФФ № 19-14-00194.

Внеклеточные везикулы микоплазм способны проникать в клетки эукариот и индуцировать изменения клеточного протеома

Музыкантов А.А.¹, Рожина Э.В.², Фахруллин Р.Ф.², Гомзикова М.О.²,
Золотых М.А.², Чернова О.А.¹, Чернов В.М.¹

¹ Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

² Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

e-mail: muzaleksei@mail.ru

Extracellular Vesicles of Mycoplasmas Are Able to Penetrate into Eukaryotic Cells and Induce Changes in the Cell Proteome

Mouzykantov A.A.¹, Rozhina E.V.², Fakhruллин R.F.², Gomzikova M.O.²,
Zolotykh M.A.², Chernova O.A.¹, Chernov V.M.¹

¹ Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

² Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

Молекулярные механизмы взаимодействия микоплазм с клетками эукариот, обеспечивающие персистенцию инфекционных агентов, не ясны. Предполагается, что внеклеточные везикулы (ВВ) микоплазм, транспортирующие соединения широкого спектра (белки, ДНК, РНК, в том числе короткие РНК), опосредующие сигналинг и межклеточные взаимодействия, могут проникать в клетки эукариот и модулировать иммунореактивность. Такая способность была обнаружена у некоторых возбудителей персистентных инфекций. Выяснение способности внеклеточных везикул *Acholeplasma laidlawii* – убиквитарной микоплазмы, инфицирующей высших эукариот, являющейся основным контаминантом клеточных культур и вакцинных препаратов, проникать в культивируемые *in vitro* клетки эукариот и модулировать клеточный протеом явилось задачей нашего исследования.

С помощью ПЦР и RNA-Seq подходов нами было показано, что изолированные внеклеточные везикулы *A. laidlawii* PG8B содержат ДНК и РНК. Используя конфокальную лазерную микроскопию, нами было установлено, что содержащие РНК ВВ *A. laidlawii*, способны проникать в фибробласты кожи человека (HSF), культивируемые *in vitro*: внеклеточные везикулы микоплазмы обнаруживаются как в цитоплазме, так и ядре эукариотических клеток. Для подтверждения локализации ВВ *A. laidlawii* внутри фибробластов образцы дополнительно были просканированы в режиме Z-stack, позволяющем отслеживать объекты под разными углами. Интернализация ВВ *A. laidlawii* также была подтверждена в дополнительных экспериментах – в результате детекции у фибробластов специфичного для везикул этой микоплазмы паттерна ПЦР-ампликонов.

В результате протеомного анализа нами было показано, что заражение культуры HSF внеклеточными везикулами *A. laidlawii* приводит к модуля-

ции протеома фибробластов. Дифференциально экспрессированные белки фибробластов участвуют в фолдинге, формировании цитоскелета, биогенезе внеклеточных везикул (экзосомы и микровезикулы), иммунореактивности и пролиферации клеток. Большинство идентифицированных белков являются стресс-реактивными и могут участвовать в клеточном ответе на бактериальные и/или вирусные инфекции. Среди них оказались белки, связанные как с позитивной, так и негативной регуляцией апоптоза (TERA, LEG1 и ENPL, CH60, ANXA5, GRP78, HSPB1, CRYAB, соответственно). Поскольку в пуле идентифицированных белков не оказалось p53 – ключевого игрока исхода про- и антиапоптотических процессов, нами был проведён таргетный анализ представленности этого белка в фибробластах, а также в секреторируемых фибробластами микровезикулах. Согласно полученным данным, заражение HSF везикулами *A. laidlawii* приводит к увеличению количества p53 в клетках и не подавляет его секрецию.

Короткие РНК (в частности, гомологичные тРНК^{Met}) в бактериальных везикулах могут подавлять экспрессию IL-8 и индуцировать угнетение врожденного звена иммунореактивности, способствующее персистенции инфекционных агентов. Короткие РНК, в том числе гомологичные тРНК^{Met}, во внеклеточных везикулах *A. laidlawii* нами были идентифицированы, но достоверные изменения в экспрессии IL-8у фибробластов, контаминированных везикулами микоплазмы, не обнаружены. Это указывает на то, что механизмы индукции иммунокомпромиссау микоплазм иные, нежели у классических бактерий.

В результате наших исследований впервые показано, что внеклеточные везикулы *A. laidlawii* способны проникать в эукариотические клетки *in vitro* и модулировать клеточный протеом. Вклад соответствующих наноструктур в молекулярную машинерию клеточной перmissивности, обуславливающей длительную персистенцию микоплазм у человека, животных и растений, ещё предстоит выяснить. Проведение соответствующих исследований актуально как для фундаментальных исследований, так и практических разработок контроля гипермутабельных бактерий, контаминирующих клеточные культуры и вакцинные препараты.

Роль АТФ-зависимого сигнального пути в регуляции генной экспрессии скелетных мышц при их функциональной разгрузке

Немировская Т.Л., Белова С.П., Зарипова К.А., Мочалова Е.П.

Государственный научный центр РФ Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, Москва, Россия

e-mail: nemirovskaya@bk.ru

Role of ATP-dependent signaling pathways in the regulation of gene expression of skeletal muscle under unloading

Nemirovskaya T.L., Belova S.P., Zaripova K.A., Mochalova E.P.

Institute of Biomedical Problems, RAS, Moscow, Russia

Скелетные мышцы подвергаются атрофии при гравитационной разгрузке, гипокинезии, иммобилизации конечности, а также при длительном лишении человека обычной двигательной активности в результате нарушающегося баланса между синтезом и деградацией белка. Исследование причины этих изменений и разработка способов профилактики атрофии мышц особенно актуальны сейчас, когда в условиях изоляции в ограниченном пространстве значительное число людей заметили негативные последствия влияния ограниченной подвижности на свою работоспособность. Для разработки способа предотвращения развития атрофии мышц необходимо выявить механизмы его инициирования. При гипокинезии снижается активность mTOR (mammalian target of rapamycin) и увеличивается активность убиквитин-протеасомного сигнального пути. Однако физиологические механизмы, активизирующие эти процессы, не полностью понятны. Известно, что при функциональной разгрузке мышц происходит накопление макроэргических фосфатов (АТФ, PCr) и ионов Ca в мышечных волокнах. Известно также, что кальций играет критическую роль не только в процессах электромеханического сопряжения, но и как ключевой вторичный мессенджер, активирующий кальций-зависимые транскрипционные факторы в процессе, называемом сцеплением возбуждения и транскрипции. Мы предположили, что АТФ и «медленный» Ca могут стимулировать запуск внутриклеточных сигнальных путей и атрофических процессов при разгрузке мышц. В докладе будет сфокусировано внимание на разборе возможных механизмов влияния накопления макроэргических фосфатов (через взаимодействие с пуриnergическими рецепторами на поверхности сарколеммы) на кальциевый гомеостаз мышечных волокон и активацию IP3 рецепторов. Известно, что IP3 рецепторы могут изменять проницаемость ядерной мембраны для транскрипционных факторов, имеющих влияние на экспрессию ключевых генов. В докладе будут разобраны механизмы, которые могут быть задействованы для взаимосвязи между концентрацией макроэргических фосфатов, работой паннексиновых каналов, пуриnergическими рецепторами, активацией SERCA и пропускной способностью IP3 каналов (для транскрипционных факторов) в миоцитах.

Работа поддержана грантами РФФИ № 21-15-00228 и РФФИ № 20-015-00138.

Газообразные сигнальные молекулы в действии. Этилен и проблемы сигналинга

Новикова Г.В., Мошков И.Е.

Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия

e-mail: ie.moshkov@mail.ru

Gaseous signaling molecules in action. Ethylene and signalling problems

Novikova G.V., Moshkov I.E.

Institute of Plant Physiology named after K. A. Timiryazev RAS, Moscow, Russia

Жизнь клеток любых многоклеточных организмов, в том числе растений, зависит от быстроты и адекватности их реакций на изменения интенсивности воздействий факторов внешней среды, а также сложившейся внутриклеточной ситуации. В качестве главных проводников таких реакций действуют фитогормоны. Исследования процессов восприятия гормональных сигналов, усиления этих сигналов, путей их передачи и преобразований в конечные физиологические ответы остаются актуальными и интенсивно развиваются в современной экспериментальной биологии растений. Центральное место в этих исследованиях занимают вопросы специфического узнавания гормона его рецепторами, в результате чего инициируется цепь биохимических реакций необходимых для осуществления конечного эффекта гормона на клетку.

Простейший по химической структуре газообразный фитогормон этилен является мощным регулятором физиологических процессов в растениях как в нормальных условиях, так и при действии стрессоров различной природы. Этилен контролирует прорастание семян, созревание климактерических плодов, растяжение клеток, ответы на патогены, образование корневых волосков, старение и опадение листьев, цветков, плодов и другие процессы. Этилен и ингибиторы его действия широко применяются в растениеводстве и пищевой индустрии, что является одной из причин постоянного интереса к исследованию механизма действия этого фитогормона.

В последние три десятилетия были достигнуты значительные успехи в изучении рецепции этилена, передачи и функционализации его сигнала. Именно эти аспекты будут рассмотрены в докладе.

Использование ложного флуоресцентного нейромедиатора FFN511 для визуализации нейротрансмиссии в пресинаптических варикозах предсердия мыши

Одношвикина Ю.Г.^{1,2}, Петров А.М.^{1,2}

¹ Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия

² Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

e-mail: odnoshivkina_y@mail.ru

False fluorescent neurotransmitter assay for imaging of presynaptic function in themice atria

Odnoshivkina Y.G.^{1,2}, Petrov A.M.^{1,2}

¹ Kazan State Medcial University, Kazan, Russia

² Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FCR Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

Экспериментальные данные за последние годы расширяют наши представления о способе взаимодействия симпатических нейронов с кардиомиоцитами. Описаны структуры ветвящихся синаптических аксонов, имеющих расширения (варикозы) с морфологией «жемчужного ожерелья», содержащие синаптические везикулы с нейромедиатором норадреналином и ко-нейромедиаторами. Подобные нейро-кардиальные соединения могут локально воздействовать на отдельные группы кардиомиоцитов. Изменения на уровне нейро-кардиальных коммуникаций могут вносить значительный вклад в развитие целого ряда сердечно-сосудистых патологий. А поиск новых подходов для визуализации подобной нейротрансмиссии является важным шагом на пути к терапии сердечно-сосудистых нарушений.

Целью нашего исследования было оценить структурные и функциональные аспекты нейротрансмиссии моноаминов в прижизненных препаратах предсердий мышей с помощью «ложного флуоресцентного нейромедиатора» FFN511 (abcam, Великобритания). Механизм проникновения FFN511 в пресинаптические варикозы в сердце, ранее не был идентифицирован. Существует две возможности: FFN511 может связываться с мембраной варикоза и во время эндцитоза проникать внутрь образующихся синаптических везикул (СВ) и (или) транспортироваться в СВ везикулярным транспортером моноаминов (VMAT2), который расположен на плазматической мембране и мембранах везикул.

Мы использовали протокол 30 мин аппликации FFN511 (10 мкМ) в сочетании с 10 мин электрической стимуляцией (с частотой 10 Гц) для усиления рециклирования СВ, чтобы обеспечить «загрузку» лжемедиатора обоими способами. Далее препарат отмывался в течение 30 мин в физиологическом растворе ADVASEP-7. Флуоресценция FFN511 детектировалась с использованием УФ для возбуждения и эмиссионного фильтра 450–510 нм. Детектировали равномерно окрашенные терминалы и терминалы, содержащие

светящиеся пятна, отражающие скопления СВ в области сайтов экзоцитоза (активных зон). Однако интенсивность окраски СВ была слабой. В следующем протоколе после загрузки FFN511 препарат отмывали в физиологическом растворе без Ca^{2+} , что исключало спонтанную выгрузку лжемедиатора и позволило увеличить интенсивность окраски СВ на 18%. В протоколе с резерпином (блокатором VMAT) препараты предварительно выдерживали в растворе с этим блокатором 10 мин, далее резерпин присутствовал постоянно. Интенсивность свечения СВ не изменилась. Следовательно, основной механизм загрузки лжемедиатора – посредством эндоцитоза.

После загрузки СВ лжемедиатором инициировали деполяризацию с помощью раствора Кребса, дополненного 40 мМ KCl. При вызванном деполяризацией экзоцитозе наблюдали значительное снижение пятен, окрашенных FFN511, т.е. везикулы высвобождали своё содержимое. Оценивали динамику KCl – стимулированной выгрузки FFN511 за 10 мин. В контроле интенсивность свечения СВ снизилась до 79%, а в препаратах, обработанных резерпином, до 70%. Вероятно, в контроле выгрузка более медленная за счёт постоянного обратного захвата лжемедиатора в варикозы посредством VMAT. Для оценки пула СВ, немедленно готовых к освобождению, после окрашивания препарата меняли раствор на высокоосмотический с 100 мМ сахарозы. В течение 5 мин интенсивность свечения СВ снижалась на 10%, что отражает экзоцитоз везикул, принадлежащих к немедленно готовому к освобождению пулу. После опустошения этого пула, динамика KCl-стимулированной выгрузки FFN511 значительно замедлялась и отражала трату СВ резервного пула. В препаратах, обработанных резерпином, после аппликации раствора с 100 мМ сахарозы, динамика KCl-стимулированной выгрузки FFN511 заметно замедлилась, так как в цикле экзо-эндоцитоза принимал участие лишь пул СВ, готовых к освобождению.

Таким образом, освобождение нейротрансмиттера в пресинаптических варикозах, осуществляется за счёт последовательной работы двух популяций СВ: немедленно-готового к освобождению и резервного пулов (соотношение 1:1). Причём первый может быстро повторно заправляться нейротрансмиттером после экзоцитоза. В целом, «ложный флуоресцентный нейромедиатор» FFN511 является подходящим инструментом для визуализации нейроредации моноаминов в препаратах предсердий мышей.

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда № 21-14-00044.

Анализ экспрессии генов пероксидаз I и III классов во мхе *Dicranum scoparium* при абиотических стрессах

Онеле А.О., Мазина А.Б., Лексин И.Ю., Часов А.В., Минибаева Ф.В.

Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

e-mail: donjay.ao@gmail.com

Expression analysis of class I and III peroxidase genes in the moss *Dicranum scoparium* under abiotic stresses

Onele A.O., Mazina A.B., Leksin I.Y., Chasov A.V., Minibayeva F.V.

Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

Peroxidases superfamily is amongst the most widespread enzymes among living organisms, which maintains vital role(s) in many biological processes. Peroxidases mainly catalyze the oxidation of diverse substrates using hydrogen peroxide (H_2O_2). Plant peroxidases are divided into two classes (class I and III) on basis of their cellular location and functions. Class I peroxidases are intracellular in nature, present in plants, bacteria and yeast such as ascorbate peroxidase, bacterial catalase-peroxidase and microbial cytochrome peroxidase. Class III peroxidases, widely distributed in plant kingdom, are involved in diverse cellular processes such as cell wall metabolism, lignification, suberization, auxins metabolism, wound healing, release of reactive oxygen species (ROS), reactive nitrogen species (RNS) metabolism, fruit growth and ripening, and defense against pathogens.

Peroxidases have been widely studied and well-characterized in vascular plants, unlike the non-vascular counterpart such as the bryophytes. Bryophytes are represented by three phyla, namely liverworts (phylum *Hepatophyta*), mosses (phylum *Bryophyta*), and hornworts (phylum *Anthoceroophyta*). They are believed to be among the first plants to colonize the land. Mosses are currently represented by approximately 10,000–15,000 species that grow in some of the harshest environments on earth such as dry heaths, rock faces, tree trunks and even deserts. They often show outstanding tolerance to desiccation and other abiotic stresses and are therefore excellent models for studying stress tolerance. *Dicranum scoparium* is a common widespread moss which grows in a broad range of habitats and is one of the most important components of the boreal forest ecosystem.

In this study, genes encoding class I (*APX*) and Class III (*POD*) peroxidases were identified in the moss *D. scoparium* and designated as *DsAPX* and *DsPOD*. *In silico* molecular characterization of their proteins including the analysis of structure and phylogenetic relationships were performed. Furthermore, we studied the expression patterns of these genes in the moss exposed to abiotic stresses. Analysis of *DsAPX* and *DsPOD* proteins revealed that they all possess important sites necessary for enzymatic activity. Prediction of secondary structure indicated that these proteins mainly consist of α -helix and random coils. Expression analyses using RT-qPCR demonstrated that *DsAPX*, *DsPOD1*, *DsPOD2*, *DsPOD6* and

DsPOD8 genes are induced and stably expressed when *D. scoparium* is exposed to different stress treatments such as CdCl₂, paraquat, unfavorable temperatures, and hydration-desiccation-rehydration stresses. Results showed that *DsAPX* is upregulated in response to long-term treatment (12 h) with CdCl₂ and paraquat. More so, there was significant increase in *DsAPX* expression after 1 h exposure to +30°C, which persisted even after prolonged exposure at 12 h. By contrast, *DsAPX* was down-regulated by a freezing (-20°C) treatment after long-term exposure. In addition, desiccation/rehydration stress up-regulated the expression of *DsAPX*, which correlated with an increase in enzyme activity upon desiccation of moss thallus over silica gel.

Subsequently, our results also revealed that CdCl₂ upregulated the expression of *DsPOD1*, *DsPOD2*, *DsPOD6* and *DsPOD8* genes, although only *DsPOD2* was upregulated following long-term exposure to CdCl₂. These four genes were also upregulated by long term exposure of the moss to paraquat. In addition, temperature stress also affected the expression of these four isoforms. *DsPOD1* and *DsPOD2* were induced by exposing moss thalli to a freezing temperature for 1 h. Also, short- and long-term exposure of mosses to +30°C and -20°C up-regulated *DsPOD6*. Hydration-desiccation-rehydration stress gradually upregulated *DsPOD2* during the first 24 h of stress, with the highest levels of gene expression occurring after 24 h. Similarly, expression of *DsPOD6* also gradually increased after desiccation for 24 h, with highest expression occurring after 0.5 h. *DsPOD8* expression was highly induced after 1 h hydration, just before desiccation.

The changes in the expression of *DsAPX* and *DsPOD* genes in response to CdCl₂, paraquat, unfavorable temperature and hydration-desiccation-rehydration stresses strongly suggest that peroxidases may play a protective role against oxidative damages caused by these stresses in the moss *D. scoparium*.

Financial support from RFBR № 18-44-160031.

Фосфонаты фитопатогенных пектобактерий как участники растительно-микробного взаимодействия

Парфирова О.И.¹, Горшков В.Ю.^{1,2}, Петрова О.Е.¹, Смолобочкин А.В.³, Исламов Б.Р.¹, Гоголева Н.Е.^{1,2}, Гоголев Ю.В.^{1,2}

¹ Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

² Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

³ Институт органической и физической химии им. А. Е.Арбузова Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук, Казань, Россия

e-mail: parfirovaolga.i@gmail.com

Phosphonates of phytopathogenic pectobacteria as participants in plant-microbial interaction

Parfirova O.I.¹, Gorshkov V.Y.^{1,2}, Petrova O.E.¹, Smolobochkin A.V.³, Islamov B.R.¹, Gogoleva N.E.^{1,2}, Gogolev Y.V.^{1,2}

¹ Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

² Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

³ Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

В сельском хозяйстве и медицине широкое применение в качестве гербицидов и антибиотиков получили препараты на основе синтетических фосфонатов – соединений с углерод-фосфорной связью в структуре. В природе фосфонаты также распространены среди микроорганизмов, которые синтезируют разнообразные по структуре и функциям фосфонаты. Среди фитопатогенных бактерий тоже есть представители, которые синтезируют эти метаболиты: *Pseudomonas syringae* продуцирует фосфомицин, функция которого не установлена, и *Pantoea ananatis* – пантафос, который определяет вирулентность данного патогена.

В геноме фитопатогенной бактерии *Pectobacterium atrosepticum* SCRI 1043, вызывающей заболевание мягкой гнили у растений, был обнаружен кластер генов, аннотированных как ферменты метаболизма фосфонатов. С помощью транскриптомного анализа мы выяснили, что экспрессия данных генов активируется в условиях *in planta* и наиболее активно на поздней стадии колонизации растения, сопряженной с развитием мягкой гнили.

Чтобы проверить, действительно ли пектобактерии продуцируют внеклеточные низкомолекулярные фосфонаты, были выбраны условия *in vitro*, при которых происходит индукция экспрессии гена, аннотированного как «основной» ген биосинтеза фосфонатов – фосфоенолпируват фосфомутаза (*fomI*). Было обнаружено, что экспрессия гена *fomI* повышается в присутствии экстракта клубней картофеля. После культивирования пектобактерий в подобранных условиях, из культуральной жидкости была экстрагирована внеклеточная фракция. В полученной фракции при помощи ЯМР-спектроскопии по фосфору были детектированы сигналы, соответствующие фосфонатам.

Были выдвинуты рабочие гипотезы о роли фосфонатов пектобактерий в патогенезе, согласно которым фосфонаты могут: 1) обладать гербицидными свойствами и усугублять развитие инфекции; 2) служить инструментом конкурентной борьбы пектобактерий с другими микроорганизмами во время колонизации растения-хозяина; 3) принимать участие в межклеточном сигналинге на поздней стадии колонизации растения-хозяина. Для проверки каждой гипотезы методом сайт-направленного мутагенеза был получен мутант по гену, кодирующему фермент фосфоенолпируват фосфомутазу (*fomI*). Мутант с делецией гена *fomI* не продуцировал фосфонаты.

Таким образом, мы впервые идентифицировали внеклеточные низкомолекулярные фосфонаты у патогенных бактерий растений. В настоящее время мы проводим сравнительный анализ стратегии взаимодействия растений с дикой и *ΔfomI*-мутантной формой *P. atrosepaticum* и проверяем выдвинутые гипотезы.

Исследование было поддержано грантом РФФИ № 19-14-00194.

Изучение селективных блокаторов M1 и M2 подтипов мускариновых холинорецепторов в качестве антидотов при отравлении фосфорорганическими пестицидами

Петров К.А., Ленина О.А.

Институт органической и физической химии им. А. Е. Арбузова Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук, Казань, Россия

e-mail: kpetrov2005@mail.ru

Study of selective blockers of M1 and M2 subtypes of muscarinic cholinergic receptors as antidotes for the treatment of poisoning by organophosphate pesticides

Petrov K.A., Lenina O.A.

Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

Отравление фосфорорганическими пестицидами, которые представляют собой ингибиторы ферментов ацетил- и бутирилхолинэстеразы, ежегодно является причиной смерти нескольких сотен тысяч человек. Смерть наступает из-за нарушений дыхания. В основе протоколов неотложной терапии отравлений фосфорорганическими ингибиторами (ФОИ) холинэстераз в настоящее время лежит применение «коктейля»: реактива торхолинэстеразы (оксим), антиконвульсант (диазепам) и блокатор мускариновых ацетилхолиновых рецепторов (мАХР) атропин. Важно отметить, что семейство мАХР включает пять подтипов (M1-M5) и атропин не избирателен в отношении блокады какого-либо из подтипов мАХР. В тоже время, известно, что активация разных подтипов мАХР разнонаправленно модулирует уровень секреции ацетилхолина в нервно-мышечных синапсах. Так, в нервно-мышечном соединении позвоночных активация M2 подтипа мАХР ингибирует, а активация M1 подтипа стимулирует секрецию ацетилхолина. Мы попытались изучить возможность замены атропина при терапии отравлений ФОИ на избирательный антагонист M2 подтипа мАХР. Исследование выполнялось в два этапа. На первом этапе *ex vivo* мы сравнивали способность атропина, блокатора M2 подтипа мАХР Метактрамина и блокатора M1 подтипа мАХР пирензипина предотвращать снижение силы мышечных сокращений диафрагмы мыши, вызываемое аппликацией пестицида параоксона. Было показано, что метактрамин оказался способен наиболее эффективно предотвращать падение силы сокращений, вызываемое аппликацией параоксона. На втором этапе мы изучили способность метактрамина увеличивать выживаемость лабораторных мышей, получивших смертельную дозу параоксона. Для этого мы заменили в составе «коктейля», применяемого при отравлении ФОИ, атропин на метактрамин. Оказалось, что эффективная в качестве средства терапии отравлений ФОИ доза метактрамина (10 мкМ/кг) ниже, чем равная по эффективности доза атропина (33 мкМ/кг). Таким образом, избирательная блокада M2 подтипа мАХР представляет интерес для дальнейшего изучения в качестве средства антидотной терапии при отравлении ФОИ.

Работа поддержана грантом РНФ № 19-15-00344.

Киназы с лектиновыми доменами в процессах формирования клеточной стенки у льна: анализ на уровне экспрессии генов

Петрова Н.В., Горшкова Т.А.

Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

e-mail: npetrova@inbox.ru

Kinases with lectin domains in flax cell wall formation: analysis at the gene expression level

Petrova N.V., Gorshkova T.A.

Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

Лектины играют фундаментальную роль в жизни растений и являются неотъемлемыми компонентами систем межклеточной коммуникации, участвуют в реализации программ нормального развития растительных клеток и в реализации защитных стратегий при действии неблагоприятных факторов биотической и абиотической природы. Лектины сочетают в себе свойства распознавать специфические углеводные фрагменты и обратимо связывать их с отсутствием ферментативного взаимодействия с распознаваемым углеводом. Часто лектины присутствуют в растительных клетках в виде химерных белков, в структуре которых лектиновые домены являются внеклеточными доменами рецептор-подобных киназ и рецептор-подобных белков. Киназы осуществляют реакции фосфорилирования белков и являются ключевыми компонентами сигнальных систем клеток. Таким образом, лектиновые киназы представляют собой универсальные системы распознавания на поверхности клетки, участвующие во взаимодействии с симбионтами и формировании ответной реакции на действие патогенов, а также мониторинге структуры клеточной стенки и процессов роста клеток.

При анализе генома льна на наличие белков с лектиновыми доменами было выявлено 406 последовательностей, более половины которых кодируют белки, имеющие помимо лектинового киназного домена. Наиболее многочисленные группы киназы образуют внутри семейств лектинов с Legume, GNA-, LysM, Malectini Malectin-like доменами. С помощью транскриптомного анализа мы оценили экспрессию генов киназ с лектиновыми доменами в тканях стебля льна, различающихся по типу клеточной стенки. Полученные данные о паттернах активации киназ лектиновыми доменами разной углеводной специфичности в ходе формирования клеточной стенки растений помогут в расшифровке сигнальных каскадов, задействованных в процессах её перестройки.

Работа поддержана грантом РНФ № 20-64-47036.

Строгий ответ – древнейший сигнальный путь от бактерий до растений

Петрова О.Е., Парфинова О.И., Горшков В.Ю.

Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

e-mail: poe60@mail.ru

Stringent response is the ancient signaling pathway from bacteria to plants

Petrova O.E., Parfirova O.I., Gorshkov V.Y.

Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

Согласно эндосимбиотической гипотезе происхождения хлоропластов, эти органеллы возникли в результате симбиоза свободноживущей фотосинтетической протобактерии с древней эукариотической клеткой. В процессе совместной эволюции хозяина и симбионта произошла значительная реорганизация прокариотического генома, но хлоропласты сохранили основные элементы бактериальных сигнальных путей, которые участвовали в регуляции функций этих органелл. Одним из таких сигнальных путей является строгий ответ (CP).

Медиатором CP является специфическая сигнальная молекула (alarmone) – гуанозин-5'-дифосфат-3'-дифосфат (ppGpp). Гомологи бактериальных RelA-SpoT генов (RSH1, RSH2, RSH3 и CRSN гены) растений обладают синтазной и/или гидролазной активностью. CP регулирует процессы нормальной физиологии растений, в том числе – процессы, происходящие в хлоропластах (фотосинтез, отдельные стадии биосинтеза липидов, нуклеотидов и гормонов), развитие репродуктивных органов и процессы старения. CP является первичной стрессовой реакцией у растений. По аналогии с бактериальным алармоном, ppGpp функционирует как транскрипционный кофактор в условиях абиотического и биотического стресса.

Анализ бактериального и пластидного CP во время взаимодействий между растениями и микробами был целью исследования. Инфекция представляет собой стрессовую ситуацию как для растения-хозяина, так и для патогена, поэтому CP может быть вызван у обоих «партнёров по инфекции». Мы использовали две модельные патосистемы: фитопатогенную бактерию *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043 (*Pba*) и растение-хозяин картофеля *S. tuberosum*, а также *Pba* и растения экспериментального хозяина табака *N. tabacum*, сравнив способность индуцировать пластидный CP и различные системы защиты растений у дикого типа *Pba* и его *cf*мутанта, дефицитного по синтезу фитотоксина коронафацеевой кислоты – аналога растительного метилжасмоната.

Индукция CP у пектобактерий происходила уже через 1 час после инфицирования растений картофеля и табака. У растений при инфекции молекулярные события развивались по двум сценариям: 1) ген NtRSH2 (синтаза ppGpp),

активировался в растениях табака, что сопровождалось накоплением алармона в хлоропластах. Мутант *cfab* не индуцировал пластидный СР в растениях табака. Вероятно, коронафациевая кислота участвует в регуляции пластидного СР; 2) в растении-хозяине (картофель) пектобактерии не индуцировали пластидный СР, и снижение уровня экспрессии гена *StRSH2* могло снизить содержание *ppGpp* в хлоропластах картофеля. Вероятно, благодаря процессу совместной эволюции с *Pba*, у картофеля мог развиваться неизвестный пока механизм ослабления СР-индуцирующего эффекта коронафациевой кислоты.

Известно, что *ppGpp* модулирует передачу сигналов салициловой кислоты и устойчивость растений. Мы предположили, что существует связь между индукцией пластидного СР и жасмонат-зависимой защитной системой, антагонистичной салицилат-зависимой защитной системе. Индукция экспрессии гена *NtRSH2* табака совпадала с небольшим увеличением уровня экспрессии ключевого гена салицилат-зависимой защитной системы *PR1*, но со значительным увеличением экспрессии генов защиты жасмоновой кислоты. В результате развилась типичная инфекция, и растения погибли в течение 3 дней. *cfab* мутант не индуцировал жасмонат-зависимую защитную систему в растениях табака. Экспрессия гена *PR1* не отличалась от таковой при заражении бактериями дикого типа. Мутант имел сниженную способность вызывать мацерацию растений табака, хотя успешно колонизировал сосуды ксилемы.

У картофеля подавление гена синтазы *NtRSH2* сопровождалось подавлением жасмонат-зависимой защитной системы с одновременной индукцией экспрессии гена *PR1*. Растения картофеля были устойчивы к пектобактериальной инфекции, около половины заражённых растений оставались визуально здоровыми после 25 дней. Таким образом, механизм сдерживания фитопатогена в рамках бессимптомной инфекции связан с отсутствием активации СР и блокадой пути защиты жасмоновой кислоты в растении-хозяине картофеля и, вероятно, обеспечивает длительное сосуществование фитопатогена с его хозяином, что можно рассматривать как более совершенную форму взаимодействия растений и микробов, развившуюся в процессе коэволюции.

Исследование поддержано РФФИ (грант № 20-34-70043).

Изменение цитозольного рН и электрических сигналов у растений картофеля, вызванное различными стрессирующими воздействиями

Печёрина А.А., Агеева М.Н., Гринберг М.А., Здобнова Т.А.,
Брилкина А.А., Воденев В.А.

Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

e-mail: pechyorinaa@gmail.com

Change of cytosolic pH and electrical signals in potato plants caused by various stressors

Pechyorina A.A., Ageeva M.N., Grinberg M.A., Zdobnova T.A.,
Brilkina A.A., Vodenev V.A.

Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russia

Цитозольный рН является важной компонентой растительной клетки, от уровня которой зависят функционирование многих клеточных систем. Цитозольный рН может меняться под действием широкого спектра стрессоров и в то же время может сам составлять свою собственную протонную сигнальную систему. Уровень рН тесно связан с функционированием цитоплазматической H^+ -АТФазы, которая так же способна влиять на характер электрических сигналов растения, следовательно, обе эти сигнальные системы могут быть связаны. Если регистрирование электрических сигналов можно производить нетравматично для растения с помощью макроэлектродов, то большинство методов измерения внутриклеточного рН являются токсичными для клеток или нарушающими целостность растения. Создание растений с генетически-кодируемыми флуоресцентными рН-сенсорами, к которым относится Pt-GFP, является перспективной областью биотехнологии растений, так как такие сенсоры постоянно нарабатываются в растении, и они позволяют производить прижизненное измерение рН в целом растении, что выгодно выделяет их среди других способов. Визуализация уровня цитозольного рН растений сPt-GFP возможна как в отдельных клетках и тканях с применением высоко-разрешающей ЛСМ-микроскопии, так и на уровне целого живого организма с помощью установок оптического «whole-body» имиджинга.

Целью данной работы является исследование изменения рН и электрических сигналов в листьях модельных растений картофеля при действии различных стрессоров.

Флуоресцентный имиджинг изменения рН в листьях картофеля с ратиометрическим рН-сенсором Pt-GFP проводили с помощью установки поверхностного оптического имиджинга DVS-03 (ИФТ РАН, Россия). Для возбуждения сенсора использовали светодиоды 395/25 нм и 490/20 нм. Флуоресцентные изображения получали с помощью CMOS-камеры в диапазоне 535/43 нм с экспозицией 2000 мс. Зависимость флуоресценции сенсора Pt-GFP от рН определяли посредством инкубирования листьев в буферных растворах с рН

от 4 до 9 в присутствии протонофора КЦХФГ с последующим получением изображений листьев и построением графика зависимости отношения F490/F395 от pH среды инкубирования.

Было проведено две серии экспериментов: ответ выявляли при воздействии на целый лист картофеля или его часть. Флуоресцентный имиджинг изменения уровня pH в месте воздействия производили с использованием элемента Пельтье, охлаждая весь лист до +16,4, +9,4, +4,9 и +3°C или нагревая до +34,7, +42,9, +50,7 и +59,1°C в течение 2 минут с интервалом в 5 минут. Распространение сигнала pH в интактные участки листа исследовали при следующих воздействиях на кончик листа: помещении личинки *Leptinotarsa decemlineata*, охлаждении до 0+4°C или нагревании керамическим резистором в течение 4 мин до температуры +52,7°C. Одновременно с флуоресцентным имиджингом фиксировали электрические сигналы листа с помощью хлорсеребряных макроэлектродов, подключенных к pH-метру/иономеру Мультитест ИПЛ-113 (НПП «Семико», Россия).

Во время охлаждения листовой поверхности в зоне воздействия происходило снижение pH клеток; пересечение зоны температурного оптимума приводило к повышению pH. При действии высоких температур характер изменения pH был противоположным. Нанесение стимула влекло за собой распространение сигнала в нераздраженные области листа: сдвиг клеточного pH был больше при высокотемпературной обработке, так же при таком типе стрессирующего воздействия наблюдалась генерация переменного потенциала; при охлаждении вызывался потенциал действия и сдвиг pH только в зоне, примыкающей к области стрессирующего воздействия; поедание личинками листа было причиной мощного разнонаправленного изменения электрических сигналов и слабо регистрируемых колебаний цитозольного pH в интактных областях. Такое разнообразие ответов протонного и электрического сигналов может свидетельствовать о различном влиянии рассматриваемых стрессоров на работу плазматической H⁺-АТФазы.

Модельные растения картофеля с pH-чувствительным белком Pt-GFP могут быть использованы для исследования пространственного и временного изменения уровня pH и электрических сигналов на уровне «whole-body» при действии различных стрессирующих факторов.

Исследование поддержано НЦМУ «Центр фотоники» (соглашение с Министерством науки и высшего образования РФ № 075-15-2020-927).

Контактные зоны мембран эндоплазматического ретикулума и их роль в стрессовом ответе

Пономарева А.А., Дмитриева С.А.

Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

e-mail: na.ponomareva@mail.ru

Contact sites of endoplasmic reticulum membranes and their role in stress response

Ponomareva A.A., Dmitrieva S.A.

Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

Взаимодействия между органеллами играют важную роль в поддержании клеточного гомеостаза в ответ на многочисленные стрессовые воздействия. Эндоплазматический ретикулум (ЭР), пронизывающий всю гиалоплазму эукариотических клеток, является основным кандидатом на обеспечение взаимодействия между разными органеллами как в пределах одной клетки, так и между клетками. Недавние исследования выявили множество так называемых зон контактов мембран ЭР, которые облегчают обмен метаболитами и сигнальными молекулами между ЭР и различными органеллами, а также играют важную роль при делении и перемещении органелл. Участки контакта мембран (membrane contact sites (MCSs)) обеспечивают сближение двух органелл на расстояния от 10 до 30 нм, при этом сила взаимодействия мембран сопоставима с силой белок-белкового взаимодействия. Выделены следующие характерные черты MCSs: 1) контакт образуют мембраны двух органелл, 2) мембраны близко расположены, но не сливаются полностью, 3) контактирующие участки обогащены специфическими белками и/или липидами, 4) образование MCSs влияет на функцию хотя бы одной из органелл участвующих в контакте.

Нами показано, что в условиях окислительного стресса, дефицита энергообеспечения, нарушения проницаемости плазмалеммы, в клетках меняется не только топология каналов ЭР, но и расширяется их просвет, перинуклеарное пространство, значительно чаще, чем в контроле, можно выявить зоны контакта каналов ЭР с плазмалеммой, пероксисомами, секреторными или лизосомальными везикулами, митохондриями и пластидами.

В докладе обобщены литературные данные по взаимодействию ЭР с другими органеллами в клетках растений за счёт формирования MCSs. Продемонстрировано морфологическое разнообразие контактов мембран ЭР-органелла и их функциональное значение при стрессовых воздействиях. Показано, что один канал ЭР может образовывать сразу несколько контактов, как с плазмалеммой, так и в комбинации с разными органеллами, а значит нести разные типы MCSs.

Поскольку функции MCSs в клетках однозначно не определены, возможно, наличие таких зон обеспечивает кроме всех известных функций ЭР ещё и существование непрерывного транспортно-распределительного компартмента, что поддерживает многофункциональность сети.

Применение фотофармакологических подходов для модуляции тормозных постсинаптических токов

Пономарева Д.Н.^{1,2}, Петухова Е.О.¹, Брежестовский П.Д.^{1,2}

¹ Институт нейронаук, Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия

² Институт системных нейронаук, Университет Экс-Марсель, Марсель, Франция

Application of pharmacological approaches for modulation of inhibitory postsynaptic currents

Ponomareva D.N.^{1,2}, Petukhova E.O.¹, Bregestovski P.D.^{1,2}

¹ Institute of Neurosciences, Kazan State Medical University, Kazan, Russia

² Aix-Marseille Université, INSERM, INS, Institut de Neurosciences des Systèmes, Marseille, France

В последние годы активно развивается фотофармакология - направление, в котором для модуляции функций белков и других типов молекул используются химически синтезируемые фотохромные соединения. Они способны обратимо изменять свои физико-химические свойства под действием света определённых длин волны управляемо контролировать функции биологических молекул, в том числе рецепторов клеток. Такими фотохромными соединениям являются Glyght и Azo-NZ1 – азобензольные производные нитразепама. При облучении ультрафиолетом (УФ) эти соединения переходят в *цис*-конфигурацию, при видимом или синем свете – в *транс*-конфигурацию. Ранее эти соединения были протестированы на культурах клеток, экспрессирующих рецепторы с известным субъединичным составом. Было показано, что Glyght оказывает специфическое фотоуправляемое действие в отношении глициновых рецепторов, а Azo-NZ1 в фотоуправляемой манере регулирует активность ГАМКА-рецепторов и глициновых рецепторов, сформированных альфа-2/бета-субъединицами, но не альфа-1/бета-субъединицами.

Целью работы является описание действия фотоуправляемых соединений на вызванные тормозные постсинаптические токи (вТПСТ).

Глицинергические вТПСТ регистрировали на срезах гипоглоссального ядра мыши, стимулируя дорсолатеральную часть ядра биполярным металлическим электродом, с добавлением в циркулирующий раствор CNQX (10 мкМ), APV (40 мкМ) и бикикуллина (10 мкМ). ГАМКергические вТПСТ регистрировали от нейронов зубчатой извилина гиппокампа при стимуляции корзинчатых клеток стеклянным биполярным электродом в присутствии APV (40 мкМ) при удерживаемом потенциале 0 мВ. Запись токов осуществляли методом пэтч-кламп в конфигурации «от целой клетки».

Glyght (100 мкМ) в *транс*-конфигурации незначительно изменял амплитуду глицинергических вТПСТ: к десятой минуте действия Glyght амплитуда составляла $89.6 \pm 4.5\%$ (P2-P6). При освещении раствора УФ соединение переходило в *цис*-конфигурацию и вызывало снижение амплитуды вТПСТ до $60.9 \pm 3.3\%$ ($p < 0.05$, $n = 7$); последующее освещение раствора синим светом восстановило амплитуду до 76 ± 5.5 ($p < 0.05$, $n = 7$). Таким образом,

Glyght в концентрации 100 мкМ является фотоуправляемым модулятором глицинергических вТПСТ на срезах гипоглоссального ядра мыши.

Azo-NZ1 (100 мкМ) при видимом свете (в *транс*-конфигурации) вызывал уменьшение амплитуды ГАМКергических токов до $57.9 \pm 3.4\%$ (P21-28, $p < 0.05$, $n = 6$). При облучении УФ амплитуда токов восстанавливалась до $73.9 \pm 6.4\%$ ($p < 0.05$). Следовательно, Azo-NZ1 в концентрации 100 мкМ является фотоуправляемым модулятором ГАМКергических вТПСТ на срезах гиппокампа мыши.

Azo-NZ1 в *транс*-конфигурации в концентрации 15 мкМ снижал амплитуду глицинергических вТПСТ до $61.5 \pm 4.7\%$ (P4-P8, $p < 0.05$, $n = 8$). После облучения раствора УФ, амплитуда вТПСТ увеличивалась до $80.5 \pm 4.2\%$ ($p < 0.05$, $n = 8$). Таким образом, Azo-NZ1 в концентрации 15 мкМ является фотоуправляемым модулятором глицинергических вТПСТ на срезах мозга.

Таким образом, соединения Glyght и Azo-NZ1 являются фотоуправляемыми модуляторами тормозных постсинаптических токов на срезах мозга.

Работа поддержана грантом РФФ № 18-15-00313.

Изменение внутриклеточной концентрации ионов хлора и водорода при высокочастотной стимуляции

Пономарева Д.Н.^{1,2}, Петухова Е.О.¹, Брежестовский П.Д.^{1,2}

¹ Институт нейронаук, Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия

² Институт системных нейронаук, Университет Экс-Марсель, Марсель, Франция

Changes in the intracellular concentration of chlorine and hydrogen ions during high-frequency stimulation

Ponomareva D.N.^{1,2}, Petukhova E.O.¹, Bregestovski P.D.^{1,2}

¹ Institute of Neurosciences, Kazan State Medical University, Kazan, Russia

² Aix-Marseille Université, INSERM, INS, Institut de Neurosciences des Systèmes, Marseille, France

Ион хлора один из самых распространенных физиологических анионов. Проницаемость мембраны для этих ионов и их внутриклеточная концентрация строго регулируются множеством хлор-селективных каналов и транспортеров хлора и изменяются в ходе различных физиологических процессов. Ионы хлора принимают участие в таких процессах, как нейротрансмиссия, секреция жидкости, стабилизация мембранного потенциала покоя, регуляция объёма клетки и внутриклеточного pH. Изменения концентраций ионов хлора и водорода коррелируют между собой, поэтому важен одновременный анализ этих изменений.

Методы оптосенсорики являются наиболее перспективными инструментами для анализа изменений концентраций хлора и водорода в различных типах клеток, особенно в нейронах. Основным инструментом служат генетически кодируемые сенсоры – белковые макромолекулярные комплексы, имеющие флуороформные группы, способные избирательно изменять флуоресценцию при взаимодействии с ионами, например, ионами хлора и водорода. Такой сенсор, названный ClorHensor, состоит из варианта E2GFP (несущий сайт связывания для анионов), соединенного через линкер из 24 аминокислот с красным флуоресцирующим белком DsRedm. ClorHensor прикреплен к нейрон-специфичному промотору Thy1. Конструкция позволяет измерять одновременно изменения концентраций ионов при регистрации сигналов, возбуждаемых на трёх длинах волн: 455 нм (pH-независимый хлорный сигнал, получаемый от E2GFP), 505 нм (pH- и хлор-зависимый сигнал от E2GFP) и 590 нм (pH- и хлор-независимый сигнал от DsRed). Таким образом, соотношения флуоресценций, получаемых при данных длинах волн возбуждающего света, позволяют селективно определять изменения концентрации хлора и pH: соотношение 505/455 – pH-селективно; соотношение 455/590 – хлор-селективно. Изменение этих соотношений в большую сторону свидетельствует о снижении внутриклеточной концентрации ионов хлора или водорода.

Дополнительно проконтролировать изменения внутриклеточного pH можно также с помощью флуоресцентной pH-чувствительной краски BCECF-AM. Молекулы ацетоксиметилового эфира (AM) BCECF проникают в клетку, где гидролизуются цитозольными эстеразами с образованием удерживаемого

внутри клетки флуоресцентного индикатора BCECF. Соотношение уровней флуоресценции при облучении светом 505 и 455 нм позволяют определить изменения концентрации ионов водорода внутри клетки. Увеличение соотношения 505/455 свидетельствует о закислении внутриклеточной среды (повышении концентрации ионов водорода).

Целью нашей работы является исследование изменения внутриклеточных концентраций хлора и pH при действии высокочастотной синаптической стимуляции.

Эксперименты были проведены на сагиттальных срезах гиппокампа мышей. При работе с флуоресцентной pH-чувствительной краской BCECF срезы предварительно инкубировали в течение 40 минут при комнатной температуре в растворе красителя в концентрации 10 мкМ, затем в течение 40 минут – в растворе aCSF при комнатной температуре. Для получения вызванных pH- и хлорных ответов осуществляли электрическую стимуляцию коллатералей Шаффера стеклянной тета-трубочкой с частотой 100 Гц в течение 20 секунд. Регистрировали изменение флуоресценции в клетках CA1 зоны гиппокампа при температуре 30°C.

Одновременную регистрацию вызванных хлорных и pH-ответов, проводили на срезах гиппокампатрансгенных мышей, экспрессирующих генетически кодируемый ClorHensor. Вызванные ответы блокировались CNQX (10 мкМ, блокатор AMPA рецепторов), что подтверждало их синаптическую природу. Бикукулин (блокатор ГАМК-А рецепторов) в концентрации 20 мкМ полностью блокировал хлорные ответы и увеличивал амплитуду pH-ответов до $180.1 \pm 22.4\%$ (6–9 месяцев, $p < 0.05$, $n = 4$).

Эксперименты с флуоресцентной pH-чувствительной краской BCECF подтверждали полученные результаты. Вызванные pH-ответы блокировались CNQX. Бикукулин вызывал увеличение амплитуды ответов: $207.1 \pm 44.7\%$ (P9-P12, $p < 0.05$, $n = 5$), по сравнению с контролем.

Эти предварительные результаты позволяют предполагать, что блокирование тормозной ГАМК-ергической передачи вызывает усиление pH-ответов при высокочастотной синаптической стимуляции.

Работа поддержана грантом РФФ № 18-15-00313.

Сравнительный анализ участия BDNF и proBDNF в регуляции синаптической передачи в моторных синапсах, находящихся на разных стадиях функциональной зрелости

Правдивцева Е.С., Молчанова А.И., Богачева П.О., Балежина О.П.

Московской государственной университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия

e-mail: ktyappravda6@gmail.com

Comparative analysis of BDNF and proBDNF involvement in neuromuscular transmission in functionally mature and immature synapses

Pravdivceva E.S., Molchanova A.I., Bogacheva P.O., Balezina O.P.

Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Ретроградная регуляция секреторной медиатором в моторных синапсах – это активно изучаемая проблема. Известно, что мышечные волокна способны выделять специальные соединения – миокины, которые участвуют в тонкой корректировке параметров активности нервной терминали. Одним из важнейших миокинов является мозговой фактор роста нервов – BDNF. Интересно и то, что молекулярный предшественник этого фактора роста – proBDNF также выделяется мышцей и способен воздействовать на собственные рецепторы на пресинаптической мембране, оказывая обособленный эффект на синаптическую активность.

Действие всех нейротрофинов опосредованно тирозинкиназными рецепторами, в случае БДНФ это тирозинкиназный рецептор типа В – TrkB. Обычно их влияние на клетки имеет трофический и антиапоптотический характер. Пронейротрофины, в свою очередь, действуют через рецепторы класса фактора некроза опухолей α – p75, известные своей способностью индуцировать апоптоз при активации. Кроме того, описано возможное действие и зрелых нейротрофинов через рецепторы p75. Поэтому важно было исследовать рецепторную специфичность и роль каждого компонента этой системы, а также отличие функционирования этих систем в зрелых синапсах и синапсах, находящихся на ранней стадии образования в ходе регенерации нерва.

Для этого проводили регистрацию миниатюрных постсинаптических потенциалов концевой пластинки (МПКП) в изолированном препарате диафрагмы (*m. diaphragma*), а также длинного разгибателя пальцев мыши (*m. EDL*) через 11 дней после операции по пережатию подходящего к *m. EDL* малоберцового нерва (*n. peroneus*). Регистрация проводилась в соответствии со стандартной микроэлектродной методикой.

В новообразованных в ходе реиннервации синапсах воздействие BDNF (1 нМ) приводило к приросту амплитуды МПКП на 50% по сравнению с контролем, тогда как в зрелых прирост амплитуды составлял лишь 30%. В то же время частота спонтанной активности в новообразованных синапсах не изменялась под влиянием BDNF (1 нМ), однако в зрелых синапсах она

возрастала на 40%. Блокада TgkB рецепторов предотвращала все изменения спонтанной активности под влиянием зрелой формы нейротрофина как в новообразованных, так и в зрелых синапсах.

Аппликация пронейротрофина proBDNF (1 нМ) не влияла на амплитуду МПКП в новообразованных синапсах, в то время как их частота снижалась на 50% по сравнению с контролем. В тоже время параметры временного хода МПКП сохраняли свои исходные значения. Интересно, что в зрелых синапсах воздействие проBDNF (1 нМ) не приводило к изменению ни одного из перечисленных параметров.

Проведённое сравнение действия системы нейротрофина и пронейротрофина в функционально незрелых и зрелых моторных синапсах показало, что BDNF и proBDNF оказывают количественно и качественно разные эффекты. Пронейротрофин обладает более выявленной регуляторной значимостью в новообразованных синапсах, в то время как БДНФ имеет более широкий спектр действия на параметры секреции в зрелых моторных синапсах.

Меланины лишайников *Cetraria islandica* и *Lobaria pulmonaria*: тесное взаимодействие на пути к защите

Рассабина А.Е., Хабибрахманова В.Р., Минибаева Ф.В.

Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

e-mail: AERassabina@yandex.ru

Melanins of lichens *Cetraria islandica* and *Lobaria pulmonaria*: close interaction on the path to protection

Rassabina A.E., Khabibrakhmanova V.R., Minibayeva F.V.

Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

В настоящее время, в связи с необходимостью расшифровки механизмов выживания растений в неблагоприятных условиях, особое внимание уделяется организмам, обладающим высокой стрессовой устойчивостью. К таким организмам относятся лишайники. Известно, что таллом лишайников образован двумя организмами – грибом (микобионт) и/или водорослью, бактериями (фотобионт), находящимися в тесном взаимодействии. В процессе фотосинтеза фотобионт синтезирует различные органические вещества, которые использует гриб в процессе своей жизнедеятельности. В свою очередь, фотобионт получает от гриба воду с растворенными минеральными солями. Благодаря таким симбиотическим взаимоотношениям лишайники содержат уникальные вторичные метаболиты, которые позволяют существовать им в крайне неблагоприятных условиях (УФ-излучение, радиация, засоление и пр.). Среди многообразия вторичных метаболитов особую роль занимают меланины. Эти природные пигменты представляют собой высокомолекулярные полимеры фенольной и индольной природы, синтезируемые соответственно по ацетато-малонатному или шикиматному путям. В различных лишайниках показано наличие меланинов разных типов. При этом установлено, что при агрессивном воздействии окружающей среды в лишайниках активируется синтез меланина, обладающего протекторными свойствами.

Выделены меланины из лишайников *Cetraria islandica* и *Lobaria pulmonaria* для изучения их физико-химических свойств. Установлено, что выделенные меланины отличаются по элементному составу. В меланине, выделенном из лишайника *C. islandica*, количество кислородсодержащих фрагментов больше, меньше степень конденсированности (С/Н) и более низкое содержание азота по сравнению с меланином лишайника *L. pulmonaria*. ИК-спектры исследуемых меланинов сопоставимы и имеют характеристические колебания карбоксильных, гидроксильных и карбонильных групп.

С помощью рентгенофлуоресцентного анализа установлено отличие меланинов по качественному составу и количеству металлов I, II, III групп. С помощью ЭПР показано наличие неспаренных электронов в структурах

меланинов. При этом содержание ПМЦ в меланине лишайника *L. pulmonaria* в 1,6 раза выше.

Выявленные отличия физико-химических свойств меланинов, выделенных из лишайников *C. islandica* и *L. pulmonaria* указывают на различия в их метаболизме, которые, предположительно, связаны с различным составом фотобионта талломов лишайников.

Работа поддержана грантом РФФ (№ 18-14-00198) и грантом РФФИ «Аспиранты» (№ 20-34-90044).

Роль GSK-3-зависимого сигналинга в регуляции трансляционной ёмкости в постуральной мышце крысы в условиях функциональной разгрузки

Рожков С.В., Шарло К.А., Шенкман Б.С., Мирзоев Т.М.

Государственный научный центр РФ Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, Москва, Россия

e-mail: tmirzoev@yandex.ru

The role of GSK-3-dependent signaling in the regulation of translational capacity in rat postural muscle under hindlimb unloading

Rozhkov S.V., Sharlo K.A., Shenkman B.S., Mirzoev T.M.

Institute of Biomedical Problems, RAS, Moscow, Russia

Пониженная сократительная активность скелетных мышц в течение длительного времени приводит к значительному снижению интенсивности синтеза мышечных белков, увеличению протеолиза и последующей атрофии мышечных волокон. На сегодняшний день необходимы новые подходы для решения проблемы мышечной атрофии, вызванной длительной гипокинезией или иммобилизацией. Для этого важно понимать роль различных внутриклеточных сигнальных путей, вовлечённых в регуляцию синтеза и распада белка в мышечном волокне. К настоящему времени, сигнальные пути, контролирующие трансляционную ёмкость (translational capacity), т.е. количество доступных рибосом для процесса трансляции, в скелетной мышце млекопитающих в условиях функциональной разгрузки исследованы недостаточно. Одним из потенциальных негативных регуляторов трансляционной ёмкости (биогенеза рибосом) является киназа гликогенсинтазы-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β). Известно, что GSK-3 β может негативно влиять на биогенез рибосом посредством фосфорилирования и последующей протеасомной деградации β -катенина и транскрипционного фактора с-Мус. Также было показано, что в условиях функциональной разгрузки в постуральной камбаловидной мышце (*m. soleus*) крысы происходит подавление рибосомального биогенеза, а также снижение ингибирующего фосфорилирования GSK-3 β по Ser9, что свидетельствует об активации данной протеинкиназы. Мы предположили, что ингибирование активности GSK-3 (спомощью высокоселективного конкурентного ингибитора AR-A014418, препятствующего связыванию АТФ в активном центре фермента) во время функциональной разгрузки задних конечностей снизит подавление биогенеза рибосом в *m. soleus* крысы. Для проверки этой гипотезы самцы крыс Вистар были случайным образом разделены на 3 группы: 1) контрольная группа (С), 2) группа 7-суточного антиортостатического вывешивания (7HS) и 3) группа 7-суточного антиортостатического вывешивания + AR-A014418 (4 мг/кг, ежедневные инъекции) (7HS+AR). Животным, которые не получали AR-A014418, вводили плацебо (физраствор).

Фосфорилирование GSK-3 β , её субстрата, гликогенсинтазы 1 (GS1), а также содержание β -катенина измеряли методом вестерн-блоттинга. Ключевые маркеры биогенеза рибосом оценивали с помощью электрофореза в агарозном геле и ПЦР в реальном времени.

Как и ожидалось, 7-суточная функциональная разгрузка методом антиортостатического вывешивания привела к значительному снижению фосфорилирования GSK-3 β по Ser9 и увеличению фосфорилирования GS1 по Ser641 по сравнению с контрольной группой животных. Кроме того, антиортостатическое вывешивание в течение 7 суток привело к достоверному снижению содержания β -катенина в *m. soleus* крысы. Введение AR-A014418 (ингибитор GSK-3 β) вывешенным животным предотвратило как увеличение фосфорилирования GS1 (Ser641), так и снижение содержания β -катенина, что указывало на ингибирование GSK-3 β . Введение ингибитора GSK-3 β на фоне антиортостатического вывешивания предотвратило снижение экспрессии мРНК транскрипционного фактора с-Мус, а также снижение экспрессии 45S пре-рРНК и содержания 18S рРНК и 28S рРНК в *m. soleus* крысы. Примечательно, что вызванное ингибированием GSK-3 β предотвращение снижения рибосомального биогенеза на фоне функциональной разгрузки сопровождалось частичным предотвращением снижения интенсивности общего белкового синтеза в *m. soleus* крысы. Полученные данные позволяют заключить, что GSK-3 β может играть значительную роль в снижении рибосомального биогенеза в атрофированной в результате функциональной разгрузки постуральной мышце крысы (*m. soleus*).

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда (проект № 17-75-20152).

Разнообразие возбудителей серой (крапчатой) снежной плесени и их вирулентность

Рязанов Е.А.^{1,3}, Мещеров А.Р.², Гоголева О.А.², Пономарева М.Л.²,
Пономарев С.Н.², Горшков В.Ю.¹

¹ Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

² Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

³ Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

e-mail: eg.ryazanov@gmail.com

The diversity of pathogens causing grey (speckled) snow mold and their virulence

Ryazanov E.A.^{1,3}, Mescherov A.R.², Gogoleva O.A.², Ponomareva M.L.²,
Ponomarev S.N.², Gorshkov V.Yu.¹

¹ Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

² Tatar Research Institute of Agriculture, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

³ Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

Снежная плесень – опасное заболевание озимых злаковых культур. Наибольшую угрозу для северных регионов представляет серая, или крапчатая, снежная плесень, вызываемая психрофильными фитопатогенами рода *Typhula* (*T. incarnata* и *T. ishikariensis*), принадлежащего к отряду *Basidiomycetes*. Представители рода являются облигатными паразитами, поражающими растения под снежным покровом при низких положительных температурах в зимний период. Сообщества грибов, вызывающих серую снежную плесень, имеют разнородную структуру, что играет большую роль в патогенезе. Известно, что представители вида *T. ishikariensis* более вирулентны и ведут преимущественно паразитический образ жизни, в то время как *T. incarnata* склонны к сапротрофной стратегии поведения, однако также способны паразитировать в случае генетической/физиологической предрасположенности растений-хозяев к этому заболеванию.

Ежегодные потери урожая озимых культур из-за снежной плесени на территории республики Татарстан могут достигать 50%. Несмотря на это возбудители снежной плесени, в том числе представители рода *Typhula*, мало изучены. Патокомплекс этих грибов на территории республики Татарстан не описан.

В связи с этим целью нашей работы является анализ разнообразия представителей рода *Typhula* и оценка их вирулентности.

Изоляты грибов выделяли из растений озимой ржи (*Secale cereale*), озимой пшеницы (*Triticum aestivum*) и озимой тритикале (*Triticosecale*), поражённых снежной плесенью. Сбор растительного материала проводили сразу после таяния снега. С помощью стандартных микробиологических методик выделено

52 чистые культуры грибов, по морфологическим критериям отнесенных к роду *Typhula*. Из выделенных изолятов 16 были предварительно отнесены к *T. incarnata* и 36 – к *T. ishikariensis*.

Для оценки вирулентности выделенных изолятов нами была использована методика отсечённых листьев. В эксперименте по инфицированию были использованы растения трёх культур: рожь, пшеница и тритикале; для каждой культуры анализировали закалённые и незакалённые растения. По результатам эксперимента изоляты были распределены на четыре группы по степени вирулентности: слабовирулентные, средневирулентные, сильновирулентные и авирулентные, причём один изолят мог относиться к разным группам в зависимости от физиологического состояния растения (закалённое или незакалённое растение), а также видовой принадлежности растения-хозяина (рожь, пшеница, тритикале). Среди изолятов, предварительно отнесенных как к *T. incarnata*, так и к *T. ishikariensis* были обнаружены как слабо, так и сильновирулентных изоляты примерно в равном соотношении, что свидетельствует о дифференциальной вирулентности отдельных генетических вариантов у обоих видов *Typhula*.

Таким образом, нами показано, что изоляты грибов рода *Typhula* различаются по степени вирулентности, в том числе в зависимости от физиологического состояния растения-хозяина. В настоящее время нами проводится уточнение филогении изолятов с помощью высокопроизводительного секвенирования для выявления генетических групп, характеризующихся наибольшей (или наименьшей) вирулентностью.

Исследование поддержано мегагрантом № 075-15-2019-1881 Министерства науки и высшего образования РФ.

Секреция ацетилхолина в нервно-мышечном синапсе: участие пресинаптических рецепторов и кальциевых каналов

Самигуллин Д.В.^{1,2}, Жиляков Н.В.¹, Архипов А.Ю.¹, Нуруллин Л.Ф.¹, Хазиев Э.Ф.^{1,2}

¹ Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

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

e-mail: samid75@mail.ru

Release of acetylcholine at the neuromuscular junction: participation of presynaptic receptors and calcium channels

Samigullin D.V.^{1,2}, Zhilyakov N.V.¹, Arkhipov A.Y.¹, Nurullin L.F.¹, Khaziev E.F.^{1,2}

¹ Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

² A. N. Tupolev Kazan National Research Technical University, Kazan, Russia

Вход ионов кальция в двигательные нервные окончания в нервно-мышечном синапсе через потенциал-чувствительные кальциевые каналы запускает каскад событий, ведущих к высвобождению нейромедиатора – ацетилхолина. В процессе функционирования синапса внутриклеточное содержание ионов кальция определяется совокупностью нескольких процессов: входом кальция в нервное окончание, секвестрированием буферными системами и выбросом из внутриклеточных кальциевых депо. Активация пресинаптических рецепторов рядом физиологически активных соединений оказывает модулирующее действие как на содержание внутриклеточного кальция в нервном окончании, так и на процесс секреции нейромедиатора. Для выяснения того, каким образом физиологически активные соединения изменяют пресинаптический уровень кальция и регулируют синаптическую передачу, важна количественная оценка динамики содержания кальция в нервном окончании при различных модулирующих воздействиях. Способом, позволяющим измерять уровень внутриклеточного кальция, является оценка кальциевого транзиента, основанная на измерении интенсивности флуоресцентного ответа красителей, специфически взаимодействующих с ионами кальция. В данной работе описан вклад кальциевых каналов разных типов, внутриклеточных кальциевых буферных систем, пресинаптических холино-, пуриновых рецепторов, а также TRPV1 каналов в регуляцию внутриклеточного содержания ионов кальция в нервных окончаниях холоднокровных и теплокровных животных. Для оценки работы секреторного аппарата нервного окончания при изменении внутриклеточного содержания ионов кальция параллельно с экспериментами по регистрации кальциевого транзиента, проводились электрофизиологические исследования, которые позволяли оценить параметры квантовой секреции медиатора. Полученные данные свидетельствуют об участии разнообразных рецепторных систем в модуляции секреции ацетилхолина за счёт влияния на внутриклеточное содержание ионов кальция.

Работа поддержана грантом РФФИ № 19-04-00490 и выполнена с использованием оборудования ЦКП-САЦ ФИЦ КазНЦ РАН.

Элементы ГАМКергической сигнализации в процессе развития поперечно-полосатой мышечной ткани млекопитающих

Сибгатуллина Г.В., Маломуж А.И.

Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

e-mail: kam-guz@yandex.ru

Elements of GABAergic Signaling in the Development of Striated Muscle Tissue in Mammals

Sibgatullina G.V., Malomouzh A.I.

Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

Гамма-аминомасляная кислота (ГАМК) играет одну из ключевых ролей в развитии, созревании и функционировании мозга человека и животных. Однако исследования, проводимые в последнее время, указывают на то, что функции этой аминокислоты не ограничиваются исключительно центральной нервной системой. Компоненты ГАМКергической сигнализации были выявлены в различных отделах периферической нервной системы, включая синаптический контакт между мотонейроном и скелетным мышечным волокном, где данная аминокислота способна играть роль модулятора холинергической нейротрансмиссии. В нашей лаборатории было установлено, что в области зрелого нервно-мышечного синапса млекопитающего присутствуют молекулы ГАМК, основной фермент для синтеза ГАМК L-глутаматдекарбоксилаза (GAD), трансмембранные транспортеры (GAT-2), а также метаботропные ГАМК_B рецепторы. При этом, на ранних этапах развития поперечно-полосатой мускулатуры на сарколемме выявлено наличие ионотропных ГАМК_A рецепторов, экспрессия которых прекращается после образования синаптического контакта с мотонейроном. Эти данные, а также целый ряд данных, полученных на других объектах, позволяют предположить, что ГАМКергическая сигнальная система может принимать участие в процессе развития не только нервной, но и мышечной ткани. Проверка этого предположения и легла в основу настоящего исследования, цель которого заключалась в определении стадий миогенеза, на которых начинают появляться те или иные ключевые звенья ГАМКергической сигнальной системы.

Исследование проводили с помощью методов флуоресцентной иммуногистохимии на первичных культурах миоцитов, полученных из икроножной мышцы новорожденных крыс (P1-P3), а также на препаратах этой мышцы у новорожденных животных. Анализировали наличие следующих элементов ГАМКергической сигнализации: собственно молекулы ГАМК, фермент GAD, GAT-2 транспортеры, ионотропные ГАМК_A и метаботропные ГАМК_B рецепторы. Наблюдения проводили с использованием лазерного конфокального сканирующего микроскопа Leica TCS SP5. Интенсивность флуоресценции в

выбранных областях интереса определяли с помощью лицензионного программного обеспечения LasX.

В ходе проведенного исследования было установлено, что в культивируемых миоцитах обнаруживаются молекулы ГАМК. В образующихся миотрубках, кроме ГАМК, обнаруживаются и молекулы GAT-2 транспортера. При этом получено подтверждение наличия ионотропных ГАМК_A рецепторов. При анализе скелетных мышечных волокон новорожденных животных оказалось, что часть из них также обладают иммунопозитивной реакцией на антитела к аминокислоте, GAT-2 транспортерам и ГАМК_A рецепторам (хотя выраженность реакции была ниже, чем в культуре). Метаботропные ГАМК_B рецепторы не были обнаружены ни в культивируемых миоцитах, ни в миотрубках, ни в волокнах новорожденных животных. Кроме того, во всех изученных вариантах полностью отсутствовала иммуноположительная реакция и к ферменту GAD.

Анализ содержания внутриклеточной ГАМК, оцениваемого по уровню флуоресценции соответствующего сигнала от антител, показал, что в процессе культивирования миоцитов происходит снижение интенсивности сигнала. При этом, образуемые миотрубки превосходили миоциты по содержанию ГАМК.

Результаты данного исследования позволяют заключить, что элементы ГАМКергической системы появляются уже на ранних стадиях онтогенеза поперечно-полосатой мускулатуры и поддерживают гипотезу о возможной роли ГАМКергической сигнализации в развитии мышечной ткани. Вместе с тем, полученные данные породили ряд вопросов: каким образом образуется ГАМК в отсутствие ключевого фермента её синтеза и какова функция ГАМК в онтогенезе поперечно-полосатых мышц? Является ли ГАМК метаболитом или играет сигнальную роль в межклеточной коммуникации? На эти вопросы предстоит найти ответы в дальнейших исследованиях.

Работа выполнена в рамках госзадания ФИЦ КазНЦ РАН с использованием оборудования ЦКП-САЦ ФИЦ КазНЦ РАН.

Корреляция внутриклеточной и внеклеточной активности во время развития фокальных эпилептиформных разрядов в зрелом мозге крысы *in vivo*

Ситдикова В.Р., Шумкова В.В., Минлебаев М.Г.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

e-mail: sitdikovavita@gmail.com

Intra- and extracellular activity's correlation during the evolution of focal epileptiform discharges in the rat mature brain *in vivo*

Sitdikova V.R., Shumkova V.V., Minlebaev M.G.

Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

Эпилепсия – хроническое заболевание центральной нервной системы, для которого характерны повторяющиеся судорожные приступы, является одним из самых распространенных заболеваний мозга, от которого страдают более 70 миллионов человек во всём мире. Выделяют два вида эпилепсии: изначально генерализованная и ограниченная определённым участком полушария (фокальная эпилепсия). Эпилепсия проявляется пароксизмальными гиперсинхронными электрическими разрядами в головном мозге. Считается, что в основе генерации эпилептического возбуждения лежит нарушение баланса возбуждения/торможения. То есть очаг эпилептиформной активности возникает в результате избыточного возбуждения или же недостаточного торможения локальной нейронной сети. Однако, феномен нарушения баланса возбуждения/торможения был в основном продемонстрирован в *in vitro* моделях, в то время как наши познания об этом феномене в *in vivo* моделях остаются ограниченными.

Для того чтобы ответить на этот вопрос мы решили провести параллельную регистрацию внутри- и внеклеточной активности в условиях *in vivo*. Для этого в работе использовались крысы линии Wistar в диапазоне возрастов от P15 до P30, где P0 является днем рождения крысы. Эпилептическая активность вызывалась локальной инъекцией 4-аминопиридина (100 мМ). Для того чтобы охарактеризовать эпилептическую активность производилась регистрация электрической активности нейронов с помощью многоканальных электродов на кремниевой основе с одновременной регистрацией ионных токов с помощью метода локальной фиксации потенциала (метод patch-clamp). Одновременно с этим производилась регистрация активности коры при помощи метода внутреннего оптического сигнала (ВОС), который ранее показал себя как эффективный метод регистрации эпилептической активности.

Анализ записи ВОС показал, что в ответ на локальную инъекцию эпилептогена развивалась фокальная эпилептическая активность. Данная эпилептическая активность после расширения фокуса наблюдалась как на

внутриклеточной фиксации потенциала. Популяционные спайки, наблюдаемые во время иктальных разрядов, высоко коррелировали с популяционной активностью, регистрируемой с помощью метода patch-clamp. При этом регистрация фиксированного потенциала на клетке во время эпилепсии показала как возбуждающие синаптические токи, так и тормозящие.

Роль калиевых каналов в эффектах сероводорода на сократимость гладкомышечных клеток тощей кишки крысы

Сорокина Д.М., Шайдуллов И.Ф., Ситдикова Г.Ф., Ситдииков Ф.Г.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

e-mail: dinagabita@mail.ru

The role of potassium channels in the effects of hydrogen sulfide on the contractility of rat jejunum smooth muscle cells

Sorokina D.M., Shaidullov I.F., Sitdikova G.F., Sitdikov F.G.

Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

Сероводород (H_2S) является эндогенно синтезируемым газом, регулирующим разнообразные физиологические функции, в том числе двигательную активность желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Известно, что K^+ -каналы играют ключевую роль в поддержании тонуса гладких мышц, принимают участие в контроле сокращения гладкой мускулатуры ЖКТ, оказывая влияние на потенциал покоя, медленные волны деполяризации, длительность потенциала действия. K^+ -каналы могут являться мишенью действия $NaHS$ в различных тканях. Целью работы был анализ роли калиевых каналов в эффектах сероводорода на сократительную активность тощей кишки крысы.

Все эксперименты проведены в соответствии с Директивой Совета Европейских сообществ (24 ноября 1986 года; 86/609/ЕЕС) и одобрены Локальным этическим комитетом КФУ (протокол № 8 от 05.05.2015). Эксперименты по анализу спонтанной сократительной активности проводили на изолированных полосках сегмента тощей кишки крысы длиной 5 мм. Для регистрации изометрических сокращений кишечника использовали установку Biopac Systems, Inc. (США). Регистрация и последующий анализ параметров сокращения препарата проводилась с помощью программы AcqKnowledge 4.1. Препарат во время всего эксперимента омывался раствором Кребса при $37^\circ C$ в условии постоянной подачи карбогена.

H_2S в экспериментах получали с помощью донора гидросульфида натрия ($NaHS$). В экспериментах также использовали неселективный блокатор K^+ -каналов тетраэтиламмоний (ТЭА), блокатор потенциал-зависимых K^+ -каналов 4-аминопиридин (4-АП), блокатор K_{ATP} -каналов глибенкламид, активатор K_{ATP} -каналов диазоксид. Анализировали амплитуду сокращения, тоническое напряжение и частоту сокращения сегмента тонкого кишечника. Параметры сократительной активности в контроле принимали за 100%, n указывает на количество изолированных полосок. Значения $p < 0.05$ считались статистически значимыми.

Неселективный блокатор калиевых каналов – ТЭА в концентрации 10 мМ вызывал повышение амплитуды сокращений до 226% ($n = 8$, $p < 0,05$) и тонического напряжения до 139% ($n = 8$, $p < 0,05$) относительно контроля, при этом частота сокращений достоверно не изменялась. Повышение ам-

плитуды сокращения при ингибировании K^+ -каналов связано с увеличением длительности реполяризации потенциалов действия гладкомышечных клеток и усилением входа ионов Ca^{2+} , запускающих процесс сокращения. В условиях блокирования K -каналов ТЭА эффекты NaHS на амплитуду, тоническое напряжение и частоту сокращений полностью сохранялись по сравнению с NaHS в контроле.

Блокатор потенциал-зависимых K^+ -каналов 4-АП в концентрации 200 мкМ приводил к повышению амплитуды до 124% ($n = 12$, $p < 0,05$) относительно контроля, при этом частота сокращений и тоническое напряжение не изменялись. На его фоне угнетающий эффект NaHS на амплитуду и на частоту сохранялся ($n = 12$, $p < 0,05$), а тонус не изменялся ($n = 12$).

Блокатор $K_{ATФ}$ -каналов глибенкламид в концентрации 50 мкМ приводил к снижению амплитуды спонтанных сокращений ($n = 12$; $p < 0,05$), частота и тонус при этом не менялись ($n = 12$, $p > 0,05$). На фоне действия глибенкламида эффект NaHS на амплитуду сохранялся, тогда как на тоническое напряжение и на частоту не влиял ($n = 12$; $p > 0,05$). Диазоксид (100 мкМ), активатор $K_{ATФ}$ -каналов, приводил к снижению амплитуды и частоты спонтанных сокращений ($n = 12$; $p < 0,05$), тонус при этом не менялся (94%, $n = 12$; $p > 0,05$). На фоне действия диазоксиды эффект NaHS на амплитуду сокращений сохранялся ($n = 12$; $p < 0,05$), а ингибирующее влияние NaHS на тоническое напряжение и частоту не проявлялось ($n = 12$; $p < 0,05$).

Таким образом, АТФ-зависимые и потенциал-зависимые калиевые каналы опосредуют эффекты донора H_2S на тоническое напряжение препарата тощей кишки, что может быть связано с гиперполяризацией мембраны, снижением уровня внутриклеточного Ca^{2+} и расслаблением гладкомышечных клеток.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Республики Татарстан в рамках гранта № 18-415-160005.

Анализ последовательностей генов ферментов биосинтеза фосфонатов у фитопатогенных бактерий

Сыромятникова Е.Д.^{1,2}, Горшков В.Ю.^{1,2}, Парфинова О.И.¹, Гоголев Ю.В.^{1,2}

¹ Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

² Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

e-mail: syrolen07@mail.ru

Analysis of gene sequences of phosphonate biosynthesis enzymes in phytopathogenic bacteria

Syromyatnikova E.D.^{1,2}, Gorshkov V.Y.^{1,2}, Parfirova O.I.¹, Gogolev Y.V.^{1,2}

¹ Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

² Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

Вредоносный эффект фитопатогенных микроорганизмов определяется синтезируемыми ими факторами вирулентности (ферменты, токсины, эффекторные белки и т.д.). Однако известный на сегодня набор факторов вирулентности далеко не полон.

В 2021 году у фитопатогенных бактерий *Pantoea ananatis* были описаны новые факторы вирулентности – фосфонаты, низкомолекулярные метаболиты, в структуре которых присутствует химическая связь между углеродом и фосфором. Они обладают бактерицидными, гербицидными и, предположительно сигнальными свойствами. Предполагается, что фосфонаты могут быть потенциальными факторами вирулентности у целого ряда родов фитопатогенных бактерий, вызывающих разнообразные заболевания сельскохозяйственных культур. Но на сегодняшний день только в одной опубликованной работе по фитопатогенным бактериям описана структура фосфонатов и их роль в вирулентности. Показано, что *Pantoea* синтезируют отличные от других микроорганизмов фосфонаты, и что нокаут гена фермента биосинтеза этих соединений приводит к снижению вирулентности. Сотрудники нашей лаборатории впервые обнаружили, что фитопатогенные пектобактерии, вызывающие заболевание мягкие гнили, тоже способны синтезировать фосфонаты. Полученный сотрудниками нашей лаборатории нокаут-мутант по гену *fom1*, который предположительно кодирует фермент биосинтеза фосфонатов – фосфоенолпируватмутаза, Fom1, потерял способность синтезировать фосфонаты.

Чтобы выяснить, какие ещё фитопатогенные бактерии способны синтезировать фосфонаты, мы проанализировали последовательности генов ферментов биосинтеза фосфонатов. Цель нашей работы – поиск генов, кодирующих сходные с Fom1 *Pectobacterium atrosepticum* белки, в геномах других фитопатогенных бактерий.

В биоинформатическом анализе мы использовали аминокислотные последовательности Fom1 трёх организмов: *Pectobacterium atrosepticum*, *Pantoea ananatis*, *Streptomyces wedmorensis*. Они были выбраны как эталонные так, как было экспериментально подтверждено, что ферменты этих организмов,

действительно, катализируют синтез фосфонатов. Для *Pantoea ananatis* и *Pectobacterium atrosepticum* было показано, что они способны синтезировать фосфонаты, мутантные штаммы этих бактерий обладают сниженной вирулентностью. У *Streptomyces wedmorensis* белок Fom1 был выделен, а его структура определена рентгеноструктурным анализом.

С помощью алгоритма выравнивания BLASTp из базы данных NCBI мы отбирали последовательности, максимально схожие с эталонными. В результате мы выяснили, что практически для всех видов рода *Pectobacterium* характерно наличие генов, кодирующих Fom1. Соответствующие белки у разных видов этого рода имеют очень сходные последовательности (более 95% идентичности). При этом все эти последовательности сильно отличались от последовательности Fom1 *Pantoea* (около 30% идентичности), а с последовательностями таксономически далеких стрептомицетов процент идентичности был более 50% при 67% покрытии. В тоже время у близкородственных пектобактериям *Dickeya*, наличие последовательностей, сходных с Fom1, оказалось не родо-специфичным признаком. Лишь у одного вида – *Dickeya dianthicola* – мы обнаружили последовательность, схожую с Fom1 *Pantoea*. Последовательности сходные с Fom1 мы обнаружили у двух видов псевдомонад, двух видов эрвиний, у *Agrobacterium tumefaciens* и у *Xanthomonas translucens*. Следовательно, наличие гена, кодирующего белок, сходный с ключевым ферментом биосинтеза фосфонатов (фосфоенолпируватмутазой), для ряда родов фитопатогенных бактерий (*Erwinia*, *Dickeya*, *Agrobacterium*, *Pantoea* и *Xanthomonas*) скорее уникальный для определённых видов признак. Дальнейшее изучение распространения генов, кодирующих ферменты биосинтеза фосфонатов, поможет в выяснении механизмов развития инфекций.

Исследование было поддержано грантом РФФ № 19-14-00194.

Пролинология. Итоги и перспективы

Тарчевский И.А.

Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

e-mail: tarchevsky@kibb.knc.ru

Prolinology. Results and perspectives

Tarchevsky I.A.

Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

Накопление пролина было обнаружено более 60 лет тому назад у проростков райграса при действии обезвоживания и у листьев, стеблей и колосьев пшеницы – под влиянием почвенной засухи. В первой работе повышение содержания пролина объясняли усилением его синтеза, а во второй – освобождением при деградации белков.

В последующие годы были опубликованы сотни экспериментальных и обзорных работ, в которых сообщалось о пролиновом эффекте при действии на различные виды растений не только обезвоживания и засухи, но также засоления, повышенной и пониженной температур, тяжёлых металлов, фитопатогенов и др. Накопление пролина стали считать наиболее важным механизмом адаптации растений к действию абиотических и биотических стрессоров. Это объяснялось сочетанием таких важных его свойств, как высокая осмиофильность, нейтрализация активных форм кислорода, стабилизирующее действие на структуру белков подобно белковым шаперонам и т.д.

Стало очевидным, что содержание свободного пролина в клетках растений контролируется не только его синтезом и освобождением из «обычных» белков, но также его деградацией, транспортом в другие клетки, ткани и органы, использованием для синтеза обогащенных пролином белков и их депролинизацией. Была получена информация об участии в этих процессах различных видов клеточной сигнализации.

Несмотря на эти достижения, многие вопросы пролинологии остаются невыясненными. Кардинально решить проблему может создание Международной программы «Пролинология», которая предусматривала бы работу с растениями с расшифрованным геномом и участием специалистов, способных проследить «от начала до конца» за пролиновым метаболизмом.

Уникальная защитная функция пролина привлекает всё большее внимание специалистов в области агротехнологии. Для защиты растений от неблагоприятных климатических факторов и патогенов стали использовать обработку растений растворами пролина, а также создавать трансгенные растения с усиленной экспрессией генов, от которых зависит активация реакций повышения содержания пролина.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ КазНЦ РАН.

Структурно-функциональная характеристика белка Svх – предполагаемого фактора вирулентности *Pectobacterium atrosepticum*

Тендюк Н.В.¹, Горшков В.Ю.², Гоголева Н.Е.², Коннова Т.А.²,
Осипова Е.В.², Гоголев Ю.В.²

¹ Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

² Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

e-mail: natasha.tendjuk@rambler.ru

Structural and functional characteristics of the Svх protein, a putative virulence factor of *Pectobacterium atrosepticum*

Tendiuk N.V.¹, Gorshkov V.Y.², Gogoleva N.E.², Konnova T.A.²,
Osipova E.V.², Gogolev Y.V.²

¹ FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

² Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

Фитопатогенные бактерии рода *Pectobacterium* вызывают тяжёлые патологии у культурных растений – мягкие гнили, нанося большой урон сельскому хозяйству. На сегодняшний день молекулярные механизмы взаимодействия пектобактерий с растениями-хозяевами до конца не изучены, что в свою очередь затрудняет разработку эффективных подходов для сдерживания развития заболеваний, вызываемых данными бактериями. Агрессивность микроорганизмов определяется «работой» факторов их вирулентности.

Белок Svх *P. atrosepticum* – это предполагаемый фактор вирулентности, который потенциально влияет на работу сигнальных систем иммунитета растений. Механизм действия этого белка и его роль в патогенезе не исследована. В нашей работе для выяснения функций Svх белка был проведён биоинформатический анализ его аминокислотной последовательности, в ходе которого выяснено, что наличие гомологов Svх белка характерно не только для фитопатогенных, но и для свободно живущих и симбиотических бактерий. На филогенетическом дереве, построенном по аминокислотным последовательностям, Svх-подобные белки фитоассоциированных микроорганизмов формируют отдельную кладу, что не соответствует принятой филогении данных организмов и может свидетельствовать о направленной эволюции данных белков у фитопатогенов.

С помощью серверов для предсказания функциональных доменов и моделирования третичной структуры NCBI Conserved Domain Search, Phyre2, HMMER, I-TASSER было предсказано потенциальное наличие у Svх белка двух доменов – протеазного и ацилтрансферазного. Активный сайт протеазного домена образован мотивом HEXXH...E, характерным для цинковых металлопротеаз, где 2 остатка гистидина и 2 остатка глутаминовой кислоты связывают двухвалентный ион цинка. Чтобы экспериментально подтвердить

наличие у Svх белка предсказанных биоинформатически ферментативных активностей, был получен очищенный препарат рекомбинантного белка с помощью системы для гетерологичной экспрессии на основе клеток *Escherichia coli* BL21 (DE3). Очистку белка проводили методом аффинной хроматографии на сорбенте Strep-tactin superflow. У полученного препарата Svх белка была выявлена протеазная активность.

В настоящее время для изучения роли Svх белка в патогенезе, индуцируемом пектобактериями, проводятся работы по предсказанию его третичной структуры и выяснению влияния этого белка на иммунные ответы растений.

Влияние ограничения двигательной активности на сигнальные маркеры протеостаза в скелетной мышце

Тыганов С.А., Белова С.П., Мочалова Е.П., Шенкман Б.С.

Государственный научный центр РФ Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, Москва, Россия

e-mail: sentackle@yandex.ru

The effect of restricted motor activity on signaling markers of proteostasis in skeletal muscle

Tyganov S.A., Belova S.P., Mochalova E.P., Shenkman B.S.

Institute of Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Атрофия скелетных мышц является сложным процессом, на каждом этапе которого одна сигнальная система сменяется или дополняется другой. Различные виды механической разгрузки приводят к различному снижению массы скелетных мышц в зависимости от уровня снижения активности. Цель исследования состояла в изучении влияния ограничения двигательной активности на процессы синтеза белка в постуральных и локомоторных мышцах. Проведён эксперимент с ограничением двигательной активности продолжительностью 21 день на крысах линии Вистар. Группа крыс, двигательная активность которой была ограничена, содержалась в маленьких клетках (17.0×9.6×13.0 см). Интенсивность синтеза белка и анаболические сигнальные пути исследовались на камбаловидной мышце (*m. soleus*), преимущественно состоящей из медленных волокон, и длинном разгибателе пальцев (*m. EDL*), преимущественно состоящего из быстрых волокон. Масса *m. soleus* и *m. EDL* была снижена, а достоверное снижение интенсивности синтеза белка наблюдалось только в *m. EDL*. Также наблюдалось снижение фосфорилирования S6 рибосомального белка только в быстрой мышце. При этом, в *m. soleus* наблюдалось достоверное снижение GSK3 β , в отличие от *m. EDL*. Кроме того, были изучены маркеры распада белка. В эксперименте наблюдалось снижение экспрессии MuRF-1 в *m. soleus* и Atrogin в *m. EDL*, а также рост экспрессии кальпаинов в *m. soleus*. Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что ограничение подвижности животных в тесных клетках приводит к изменению протеостаза скелетных мышц. При этом, атрофия быстрой и медленной мышцы определяется разными сигналами механизмами.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Москвы в рамках научного проекта № 21-315-70033.

Исследование экспрессии синаптофизина и PSD95 в мотонейронах спинного мозга трансгенных FUS-мышей

Тяпкина О.В.^{1,2}, Нуруллин Л.Ф.^{1,2}, Хабибрахманов А.Н.¹, Мухамедьяров М.А.¹

¹ Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия

² Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

e-mail: anti-toxin@mail.ru

Investigation of the expression of synaptophysin and PSD95 in motoneurons of the spinal cord of transgenic FUS-mice

Тяпкина О.В.^{1,2}, Nurullin L.F.^{1,2}, Khabibrakhmanov A.N.¹, Mukhamedyarov M.A.¹

¹ Kazan State Medical University, Kazan, Russia

² Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

Боковой амиотрофический склероз (БАС) – нейродегенеративное, фатальное заболевание. Поиск маркеров, позволяющих диагностировать его до появления клинических проявлений и прогнозировать течение заболевания, является одной из основных проблем. Генетические мутациями в РНК-связывающих белках Fusedin саркома (FUS) приводят к БАС. У пациента наблюдается особенно тяжёлое развитие патологии, формирующейся в 60% случаев до 40 лет. Изучение различных аспектов данного заболевания проводят на трансгенных FUS-мышях. Пресинаптический белок синаптофизин и белок постсинаптической плотности PSD95 обеспечивают взаимодействие между нервными клетками. Снижение их экспрессии показано на симптомной стадии у мышей с мутацией mSOD1. При этом, отсутствуют данные об экспрессии этих белков у FUS-мышей.

Исследовали поясничный отдел спинного мозга трансгенных FUS-мышей 4 групп: контрольная группа 1 (60-дневные WT1 – мыши дикого типа); 2 группа (60-дневные мыши Tg+, FusHet, досимптомная стадия); 3 группа (140-дневные мыши Tg+, FusHet, с симптомами); группа 4 (120-дневные мыши дикого типа WT2) по $n = 4$ в каждой группе. Выделенный поясничный отдел по 12 ч инкубировали последовательно в растворах: 4% параформальдегида и 30% сахарозы. На криостате Microm HM 560 готовили поперечные срезы (20 мкм), которые окрашивали первичными антителами к синаптофизину (1:400) и к PSD95 (1:200), затем вторичными антителами (1:250, IgG козлиные против кролика, конъюгированные с Alexa488). Изображения получали на конфокальном сканирующем микроскопе Leica TCS SP5 MP. Анализ интенсивности флуоресценции в мотонейронах передних рогов поясничного отдела спинного мозга выполняли в программе ImageJ. Статистический анализ данных в программе Origin 8.0 с использованием U-критерия Манна-Уитни показал, что у мышей с FUS-мутацией достоверно увеличивается интенсив-

ность флуоресценции синаптофизина на досимптомной стадии БАС на 22% и уменьшается на симптомной на 19%. При этом интенсивность свечения у 120-дневных контрольных мышей снижается на 24%. Исследование белка PSD95 выявило достоверное уменьшение флуоресценции у мышей на досимптомной на 21% и на 41% на симптомной стадиях БАС.

Таким образом, на разных стадиях развития БАС у FUS-мышей изменяется уровень экспрессии белков синаптофизина и PSD95.

Исследование поддержано грантом: РФФ № 19-15-00329 с использованием оборудования ЦКП-САЦ ФИЦ КазНЦ РАН.

Анализ N-гликопротеомных профилей в различных тканях стебля льна

Федина Е.О., Ларская И.А., Ибрагимова Н.Н.

Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

e-mail: solo_nika@mail.ru

The analysis of N-glycoproteomic profiles in various flax stem tissues

Fedina E.O., Larskaya I.A., Ibragimova N.N.

Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

Гликозилирование является одной из неотъемлемых и масштабных форм ко-трансляционной и пост-трансляционной модификаций белков, оказывая разноплановое влияние на их фолдинг, транспортировку, растворимость, антигенные свойства и многие другие характеристики, и тем самым, наделяя гликозилированный белок новыми функциями. В зависимости от типа связи между аминокислотой и гликаном, гликозилирование белков делят на несколько видов, ключевыми из которых являются N-гликозилирование и O-гликозилирование. Показано, что N-гликозилированные белки вовлечены в реализацию и регуляцию механизмов роста, развития, морфогенеза и сигнализации эукариот. Однако сопряженность параметров N-гликозилирования с функциональным состоянием организма, которая четко просматривается у животных, для растений практически не охарактеризована. Цель исследования: провести сравнение N-гликопротеомов флоэмной (образцы MID и BOT) и ксилемной (образец XYL) частей стебля льна, клетки которых находятся на разных стадиях дифференцировки.

Анализ N-гликопротеомных профилей проводили при разделении стебля на волокнистую (внешнюю, флоэмную) (MID и BOT) и ксилемную (внутреннюю, XYL) части, что позволило сопоставить набор N-гликозилированных белков в тканях с различной функциональной нагрузкой. Флоэмная часть стебля MID содержала волокна на ранних стадиях утолщения клеточной стенки, тогда как BOT – волокна со зрелой утолщенной клеточной стенкой.

Количественная оценка общего пула гликозилированных белков показала, что наибольшее количество гликопротеинов содержат волокна на ранних стадиях утолщения третичной клеточной стенки (образец MID). При разделении гликозилированных белков методом 2D-электрофореза было выявлено, что гликопротеины преимущественно характеризуются молекулярными массами в диапазоне от 11 до 35 кДа и изоэлектрическими точками в щелочной области. Использование моноклональных антител к остаткам бета-1,2-ксилозы и коровой альфа-1,3-фукозы, которые являются специфичными для N-гликанов гликопротеинов растений, показало, что N-гликаны исследуемых образцов преимущественно содержат остатки альфа-1,3-фукозы. Наибольшим содер-

жанием N-гликопротеинов отличалась флоэмная часть стебля, содержащая волокна со зрелой утолщенной третичной клеточной стенкой (ВОТ). Различия в связывании N-гликанами антител к альфа-1,3-фукозе и бета-1,2-ксилозе косвенно подтверждают имеющееся в литературе предположение о существовании у растений двух независимых путей N-гликозилирования белков. При идентификации некоторых обнаруженных нами белков методом ESI-MS была выявлена анионная секретлируемая пероксидаза PRXR1. При сопоставлении результатов транскриптомного и протеомного анализа было обнаружено, что ткане-специфичная экспрессия генов пероксидазы PRXR1 коррелирует с уровнем N-гликозилирования изоформ этого белка. Максимальная экспрессия PRXR1 и уровень N-гликозилирования идентифицированной пероксидазы наблюдались в образце ВОТ.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 19-04-01077.

Вопросы кластерного анализа активности тригеминального нерва в менингеальной оболочке крысы

Федорина А.И., Гафуров О.Ш.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

e-mail: alyon.fedorina@mail.ru

Cluster analysis of trigeminal nerve activity in rat meningeal membrane

Fedorina A.I., Gafurov O.Sh.

Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

Мигрень – болезненное и изнурительное заболевание. Оно широко распространено, затрагивает примерно 1 миллиард человек во всём мире. Мигрень с её сложным патогенезом, включающим изменения со стороны нервной, иммунной и сердечно-сосудистой систем, представляет собой одну из самых актуальных проблем современной медицины.

На сегодняшний день считается, что мигрень связана с активностью тригеминального нерва, поэтому многие исследования направлены на изучение взаимодействия нервных волокон менингеальных оболочек. При таком неврологическом расстройстве, как мигрень, активация волокон тройничного нерва в мозговых оболочках может являться пусковым механизмом для генерации болевого сигнала. Изучение активности различных типов нервных волокон в менингеальной оболочке является одним из актуальных направлений современной нейрофизиологии.

Данная задача решается различными методами, в том числе и таким математическим методом, как кластерный анализ. Главной особенностью этого метода является использование особенностей временного хода регистрируемых потенциалов действия для разбиения исследуемой активности нервных волокон на обособленные группы.

Кластерный анализ с помощью программы «KlustaKwik» показал, что потенциалы действия, полученные в ходе эксперимента, можно разделить на несколько кластеров – групп. Используя результаты кластерного анализа, далее можно рассчитать активность возникновения потенциалов действия в каждом кластере в течении всего эксперимента. В результате можно отметить, что активность кластеров различна. Предположительно, активность возникновения потенциалов действия в кластерах может соответствовать активности возникновения потенциалов действия в отдельных нервных волокнах.

Однако возникает вопрос, соответствует ли множество потенциалов действия, принадлежащих одному кластеру, группе волокон или отражают активность одного нервного волокна. В нашей работе мы обсуждаем возможные ошибки кластеризации, а также предлагаем методы их решения/

Закисление внутриклеточной среды активирует митофагию и защищает клетки мозга в токсических и наследственных моделях болезни Паркинсона

Федотова Е.И.¹, Комилова Н.Р.², Надеев А.Д.¹, Крицкая К.А.¹,
Абрамов А.Ю.^{3,4}, Бережнов А.В.¹

¹ Институт биофизики клетки Федерального исследовательского центра «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», Пушкино, Россия

² Кафедра биофизики, Национальный университет Узбекистана, Ташкент, Узбекистан

³ Институт неврологии Лондонского университетского колледжа, Лондон, Великобритания

⁴ Орловский государственный университет имени И. С. Тургенева, Орёл, Россия

e-mail: g_56@rambler.ru

Intracellular acidification activates mitophagy and protects brain cells in toxic and hereditary models of Parkinson's disease

Fedotova E.I.¹, Komilova N.R.², Nadeev A.D.¹, Kritskaya K.A.¹,
Abramov A.Y.^{3,4}, Berezhnov A.V.¹

¹ Institute of Cell Biophysics of the Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia

² Department of Biophysics, National University of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan

³ Department of Clinical and Movement Neurosciences, UCL Queen Square Institute of Neurology, Queen Square, London, UK

⁴ Orel State University named after I. S. Turgenev, Orel, Russia

Болезнь Паркинсона (БП) представляет собой прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, вызванное потерей дофаминергических нейронов среднего мозга. Механизм нейродегенерации связан с накоплением патологических белковых агрегатов, окислительным стрессом и митохондриальной дисфункцией. В ряде исследований показано, что в развитие нейродегенерации при БП вовлечены нарушения аутофагии и митофагии. Можно ожидать, что умеренная активации митофагии может защищать клетки мозга при БП. Ранее мы показали, что митофагия может быть активирована кратковременным закислением цитозоля нигерицином или FCCP, однако эти соединения токсичны для клеток. В данном исследовании мы предприняли попытку поиска нетоксичных воздействий, способных закислять внутриклеточную среду и активировать процессы аутофагии/митофагии, и оценили их нейропротекторные свойства в токсических и наследственных клеточных моделях БП. Кроме того, оценивали эффективность кратковременного закисления на животной токсической модели БП в поведенческих тестах.

Работу проводили с применением методов флуоресцентной и конфокальной микроскопии, ПЦР в реальном времени, вестерн-блоттинга и др. на клеточных культурах – токсических (первичные культуры мозга крысы и клетки SH-SY5Y, обработанные MPP+) и наследственных (человеческие фибробласты с мутациями в генах, кодирующих Pink1, Pink1/Park2, трипликация альфа-синуклеина, мутантный ген альфа синуклеина – A53T) моделях БП, а также на мышинной токсической модели БП (ротенон).

Мы обнаружили, что лактат или пируват в форме натриевых солей способны кратковременно (несколько минут) снижать внутриклеточный рН в концентрациях 5–50 мМ. При этом инкубация клеток с лактатом или пируватом в концентрации до 20 мМ не оказывала токсического эффекта и не вызывала митохондриальной дисфункции. Инкубация клеток SH-SY5Y или первичных нейронов и астроцитов с лактатом или пируватом также активировала митофагию и аутофагию после обработки MPP⁺, что приводило к восстановлению функции митохондрий и защите этих клеток от гибели по пути некроза или апоптоза. Защитный эффект в виде увеличения жизнеспособности и восстановления до контрольных значений параметров биоэнергетикатакже наблюдался и в наследственных моделях БП. Во всех случаях закисление внутриклеточной среды лактатом и пируватом приводило к активации митофагии, что было оценено по экспрессии маркеров митофагии и при оценке колокализации митохондрий и лизосом в клетках.

Из литературы известно, что увеличение концентрации CO₂ во вдыхаемом воздухе приводит к закислению клеток мозга и этот эффект легко обратим. С другой стороны, интенсивные физические нагрузки приводят к увеличению уровня лактата в крови. Мы использовали эти воздействия в экспериментах на мышах для проверки гипотезы о том, что кратковременное закисление может защищать от развития симптомов БП в ротеноновой токсической модели. Животных разделили на группы: контроль (получали растворитель – оливковое масло интраперитонеально), группа без лечения: животные получали ротенон 2 мкг/кг 5 раз в неделю в течение 5 недель; группа «Ротенон+CO₂»: ротенон – 5 недель, через 2 недели после того, как мыши начинали получать ротенон, один раз в два дня на протяжении трёх недель мыши помещались в ёмкость с 20% CO₂ на 2 минуты; «Ротенон+бег»: как и в предыдущей группе, но вместо обработки 20% CO₂ мыши бегали на тредбане 3 раза по 2 минуты на субмаксимальной скорости. Было выявлено снижение количества ошибок у группы «Ротенон+CO₂» в тесте «сужающаяся дорожка» и увеличение/восстановление ориентировочно-исследовательского поведения в тесте «цилиндр».

Таким образом, кратковременное закисление цитозоля лактатом и пируватом активирует митофагию и аутофагию и защищает клетки в токсических и наследственных моделях БП, а кратковременное закисление мозга при дыхании в атмосфере с 20% CO₂ вызывает восстановление двигательных нарушений и активацию ориентировочно-исследовательского поведения в токсической животной модели БП.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 20-34-70074 с использованием оборудования ЦКП № 670266 и УНУ № 445679.

Участие 2-арахидоноил-глицерина в регуляции спонтанной и вызванной секреции ацетилхолина в моторных синапсах мыши

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

Московский государственный университет, Москва, Россия

e-mail: natashakhotkina@yandex.ru

2-arachidonoyl-glycerol in regulation of spontaneous and evoked secretion of acetylcholine in mouse motor synapses

Khotkina N.A., Tarasova E.O., Gaydukov A.E., Balezina O.P.

Moscow State University, Moscow, Russia

2-арахидоноил-глицерин (2-АГ) – эндогенный каннабиноид, выполняющий функцию ретроградной регуляции синаптической активности в ЦНС. 2-АГ синтезируется из липидов постсинаптической мембраны и активирует каннабиноидные рецепторы СВ1- и СВ2-типа на пресинаптическом окончании, модулируя секрецию нейромедиаторов. Показано, что эндоканнабиноидная система также способна регулировать секрецию ацетилхолина (АХ) в нервно-мышечных синапсах, однако влияние 2-АГ на параметры секреции АХ изучено недостаточно.

Объектом данного исследования служил нервно-мышечный препарат диафрагмы мышей линии BALB/c. Применяли стандартную микроэлектродную технику отведения биопотенциалов. При исследовании спонтанной активности регистрировали миниатюрные потенциалы концевой пластинки (МПКП). При изучении вызванной стимуляцией нерва (50 Гц, 1 сек) активности регистрировали МПКП и залпы потенциалов концевой пластинки (ПКП). Статистическую значимость различий между выборками оценивали при помощи однофакторного или двухфакторного дисперсионного анализа, критерия Краскела-Уоллиса. Количество синапсов (n) в каждой серии составляло не менее 15 в контроле и под действием вещества.

2-АГ (1 мкМ) оказался способным вызывать прирост амплитуды МПКП на 50% ($p < 0,05$). Данный эффект предотвращался при добавлении АМ 251 (1 мкМ), обратного агониста СВ1-рецепторов, а также при блокаде везикулярного ацетилхолинового транспортера везамиколом (1 мкМ). Ингибитор протеинкиназы А Н-89 (1 мкМ) также предотвращал прирост амплитуды МПКП. Следовательно, увеличение амплитуды МПКП при аппликации 2-АГ связано с активацией пресинаптических СВ1-рецепторов, активацией РКА и увеличением транспорта ацетилхолина в везикулы. Кроме того, 2-АГ оказался способным влиять на вызванную стимуляцией нерва мультиквантовую секрецию АХ. На фоне 2-АГ происходил значительный прирост амплитуд ПКП по всему ходу залпа примерно на 40% по сравнению с контролем ($p < 0,05$). При этом 2-АГ-индуцированное увеличение амплитуд ПКП не сопровождалось возрастанием их квантового состава. Прирост амплитуд

ПКП был вызван увеличением амплитуд одноквантовых МПКП. Обратный агонист СВ1-рецепторов АМ 251 (1 мкМ), а также ингибитор РКАН-89 (1 мкМ) предотвращали прирост амплитуд ПКП по всему ходу залпа. Следовательно, прирост амплитуд ПКП вызван активацией СВ1-рецепторов и РКА.

Таким образом, 2-АГ в нервно-мышечных синапсах, в отличие от центральных синапсов, вызывает облегчение секреции медиатора. 2-АГ активирует пресинаптические СВ1-рецепторы, РКА и повышает транспорт АХ в везикулы. В результате, возрастает амплитуда МПКП и, как следствие, амплитуда ПКП. Квантовый состав при этом остается неизменным.

Работа поддержана грантом РФФИ № 19-04-00616а.

Применение РНК-секвенирования для поиска потенциальных регуляторов взаимодействия между пектобактериями и растениями

Церс И.Д.^{1,3}, Горшков В.Ю.^{2,3}, Гоголева Н.Е.^{2,3}, Гоголев Ю.В.^{2,3}

¹ Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

² Казанский институт биохимии и биофизики Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

³ Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

e-mail: ivantsers@gmail.com

Applications of RNA sequencing for searching the regulators of interaction between pectobacteria and plants

Tsers I.D.^{1,3}, Gorshkov V.Y.^{2,3}, Gogoleva N.E.^{2,3}, Gogolev Y.V.^{2,3}

¹ FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

² Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

³ Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

Ежегодно от 10 до 50% урожая культурных растений теряется в результате деятельности пектобактерий, вызывающих заболевание мягкие гнили. Молекулярные механизмы, лежащие в основе процессов физиологического преобразования растений в ходе развития этих заболеваний, остаются невыясненными. Чтобы приблизиться к пониманию таких механизмов, мы сравнивали транскриптомные профили неинфицированных и инфицированных растений методом высокопроизводительного секвенирования.

Транскриптомный анализ сопряжен со сложностью объективной физиологической интерпретации получаемого большого массива данных. Чтобы адекватно интерпретировать молекулярные события, происходящие в инфицированном растении, мы сосредоточили внимание на генах, кодирующих рецепторные белки и белки, содержащие домены, способные специфично взаимодействовать с молекулами, синтезированными клетками паразита (например, хитиназоподобные белки).

С использованием баз данных KEGG, MapMan, CAZy мы составили интегрированный список генов, продукты которых относятся к этим двум категориям, и провели дальнейшую функциональную классификацию на подкатегории в зависимости от структурно-функциональных характеристик белков. Затем мы сравнивали зависимость профиля экспрессии генов этих подкатегорий от присутствия определённых регуляторных элементов в их промоторных областях.

Нами было показано, что при инфекции, вызванной *Pectobacterium atrosepticum*, у 8606 генов растений табака уровень экспрессии меняется по сравнению с контрольными неинфицированными растениями. При этом повышается уровень экспрессии большинства генов, кодирующих рецепторы ПАМП (G-тире лектины, CRR- и LRR-киназы), однако уровень транскриптов

генов WAK-like киназ клеточной стенки не различается в инфицированных и неинфицированных растениях. Нам удалось выявить патоген-индуцируемое усиление экспрессии генов растения, кодирующих хитиназоподобные белки, лектины, а также экстензины, содержащие домены лейцин-насыщенных повторов. Эти результаты позволили нам выяснить ряд деталей «рецепторной стороны» взаимодействия пектобактерий и растений при патогенезе.

Средствами MAST выполнили поиск цис-регуляторных элементов в промоторах генов растения (позиционные весовые матрицы мотивов для поиска загружены из PlantPAN3.0). Поиск цис-регуляторных элементов, значимых для регуляции экспрессии, проводили с помощью специально написанных нами на языке R скриптов. Эти скрипты автоматически составляют множество выборок ДЭГ по критерию наличия/отсутствия определённых цис-регуляторных элементов, ранжируют их по размеру и составу, тестируют достоверность различия экспрессии внутри них, представляют результат анализа в виде диаграмм. В промоторах генов растения найдено ~2,3 млн вариантов цис-регуляторных элементов, которые являются сайтами связывания для 999 различных ТФ. Из этих цис-регуляторных элементов ~18% расположены в промоторах ДЭГ. Несколько групп генов, содержащих определённые цис-регуляторные элементы, были насыщены ДЭГ. Это пулы генов, которые имеют цис-регуляторные элементы, связывающие ТФ: WRKY6, 42, 45, 51, 57 и TCP3, 15. Гены, кодирующие перечисленные WRKY (кроме WRKY57), были ДЭГ с повышенным уровнем экспрессии. Эти ТФ – потенциальные «мастер-регуляторы» развития инфекции. Мы также обнаружили, что присутствие сайтов связывания с WRKY в промоторах генов хитиназ увеличивает вероятность усиления их экспрессии при инфекции; аналогичные закономерности обнаружили для ряда других групп ДЭГ.

Работа поддержана грантом РНФ № 19-14-00194.

Динамика развития ранней неонатальной эпилептической активности вызванной инъекцией эпилептогена *in vivo*

Шарипзянова Л.¹, Якупова А.¹, Речапов И.¹, Минлебаев М.^{1,2,3}

¹ Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

² Средиземноморский институт нейробиологии, Марсель, Франция

³ Университет Экс-Марсель, Марсель, Франция

e-mail: g_56@rambler.ru

The dynamics of development of neonatal epileptic activity caused by injection an epileptogenic *in vivo*

Sharipzyanova L.¹, Yakupova A.¹, Rechapov I.¹, Minlebaev M.^{1,2,3}

¹ Kazan (Volga Region) Federal University, IAL "Neurobiology", Kazan, Russia

² Institut de neurobiologie de la mediterranee, Marseille, France

³ University Aix-Marseille II, Marseille, France

Неонатальная эпилепсия является одним из самых распространенных заболеваний у новорожденных опасное, в первую очередь, своими последствиями после приступов, такие как реорганизация нейронных сетей, глубокие поражения мозга, приводящие к временной или постоянной потере функций организма, к расстройству личности и даже к смерти. Знание свойств и параметров эпилептической активности с очага генерации, в данной период развития, поможет дифференцировать эпилептические припадки у новорожденных от неэпилептических. Поэтому становится важно изучить динамику изменения эпилептической активности, а также свойства, чтобы предотвратить отсроченные последствия данного заболевания. Существует множество экспериментальных моделей эпилептической активности, однако самым эффективным в неонатальный период развития можно считать 4-аминопиридиновую (4-АП) модель. В данной работе эпилептическая активность вызывалась локальной инъекцией смеси эпилептогенов 4-АП и бикакуллина (100 мМ и 1 мМ, соответственно) *in vivo* у новорожденных крыс линии Wistar на ранних этапах постнатального развития (P7-11, P0 – день рождения). Для того, чтобы охарактеризовать эпилептическую активность производилась внеклеточная регистрация электрической активности нейронов с помощью многоканльного электрода на кремниевой основе. Использование методики регистрации внутреннего оптического сигнала (ВОС) позволило зарегистрировать электрофизиологическую активность непосредственно из места очага генерации эпилептиформной активности.

В ходе эксперимента однократная инъекция эпилептогенов приводила к генерации множественных икталных разрядов (до 17 разрядов за 3 часа, средняя частота икталных разрядов 5 ± 0.5 /час). В период развития эпилептиформной активности наблюдалось постепенное усиление мощности икталных разрядов, которые становились мощнее более чем в 15 раз в сравнении с мощностью первого разряда (средняя мощность первого икталного разряда $0.8 \pm 0.3 \cdot 10^3$ мкВ²/Гц, средняя мощность последующих разрядов $3.2 \pm$

$0.5 \cdot 10^3$ мкВ²/Гц, $n = 17$ крыс возраста P7-11. Наряду с увеличением мощности, также происходило удлинение иктальных разрядов до 150% от длительности первого иктального разряда (средняя длительность первого иктального разряда 149 ± 2.08 сек, средняя длительность последующих иктальных разрядов 221 ± 7.8 сек) с некоторым учащением популяционных спайков. Таким образом, на основании представленных результатов можно предположить, что 4-AP модель вызванной эпилептической активности является эффективной моделью по изучению параметров и свойств эпилептических приступов в развивающейся ЦНС *in vivo*.

Работа выполнена за счёт средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности, проект № 0671-2020-0059.

Опорная афферентация регулирует экспрессию «медленной» изоформы миозина и биогенез митохондрий и предотвращает вызванную функциональной разгрузкой утомляемость в камбаловидной мышце крысы

Шарло К.А., Львова И.Д., Тыганов С.А., Шенкман Б.С.

Государственный научный центр РФ Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, Москва, Россия

e-mail: sharlokris@gmail.com

Support afferentation coregulates mitochondrial biogenesis and slow myosin expression and prevents hindlimb suspension-induced fatigue in rat soleus muscle

Sharlo K.A., Lvova I.D., Tyganov S.A., Shenkman B.S.

Institute of Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Реальная или моделируемая невесомость вызывает функциональную разгрузку скелетных мышц, ведущую к трансформации типа мышечных волокон из «медленного» в «быстрый», и снижению митохондриального биогенеза, что вызывает повышение мышечной утомляемости постуральных скелетных мышц задних конечностей. Восстановление опорной аффертации в условиях моделирования невесомости ведёт к предотвращению подавления транскрипции мРНК медленной изоформы миозина. Некоторые литературные данные предполагают, что восстановление экспрессии мРНК медленной изоформы миозина может приводить к стабилизации медленного окислительного типа волокон и повышать сопротивляемость утомляемости.

Целью этого исследования было проверить гипотезу о том, что восстановление опорной аффертации во время функциональной разгрузки задних конечностей крысы увеличивает устойчивость к утомлению и активацию биогенеза митохондрий в постуральной камбаловидной мышце, а также выявить механизмы такого предотвращения.

Самцы крыс линии Вистар были разделены на три группы ($n = 8$): виварный контроль (С); 7-дневное вывешивание задних конечностей (7HS); 7-дневное вывешивание задних конечностей механической стимуляцией опорных зон стопы (7HS + PMS). Животным из группы 7HS + ПМС в течение 4 часов в сутки на протяжении всего эксперимента выполняли механическую стимуляцию стоп по схеме, имитирующей нормальную ходьбу животного. Индекс утомляемости камбаловидной мышцы измеряли как уменьшение силы после 20 тетанических изометрических сокращений (40 Гц, 20 В, 3 секунды). Экспрессию медленного миозина (MyHC I (β)), генов митохондриального биогенеза (включая PGC1 α) и экспрессию myh7b, микроРНК-499 и SOX6 анализировали с помощью ОТ-ПЦР. Уровень фосфорилирования киназы GSK-3 β в тотальной белковой фракции анализировали с помощью вестерн-блоттинга.

После 7 дней вывешивания задних конечностей мы наблюдали достоверное снижение индекса утомляемости камбаловидной мышцы на 40% по сравнению с контролем, в то время как в группе 7HS + PMS не было значимых отличий от контроля. Снижение экспрессии медленной изоформы МyHСI (β), PGC1 α , COX1, COXII и митофузинов 1 и 2 и подавление mir499/myh7b, а также активация GSK-3beta наблюдалась в группе 7HS. Все эти изменения были предотвращены в группе с ПМС. Таким образом, было обнаружено, что восстановление опорной афферентации корегулирует биогенез митохондрий и тип мышечных волокон, что приводит к формированию устойчивого к утомлению, «медленного» окислительного фенотипа волокон. Эта корегуляция может осуществляться за счёт активации сигнального пути myh7b / mir-499 и инактивации GSK-3 β .

Работа поддержана Программой фундаментальных исследований ИМБП.

Влияние ионотропных глутаматных рецепторов на развитие распространяющейся кортикальной депрессии у крыс с пренатальной гипергомоцистеинемией

Шахматова В.И., Яковлев А.В.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

e-mail: vicysic94@mail.ru

Effect of ionotropic glutamate receptors on the development of spreading cortical depression in rats with prenatal hyperhomocysteinemia

Shakhmatova V.I., Yakovlev A.V.

Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

Дефицит витаминов группы В, генетические мутации ферментов метаболизма, почечная недостаточность могут быть причиной развития гипергомоцистеинемии (гГЦ). Последние два десятилетия было выявлено, что гГЦ вызывает патологии сердечно-сосудистой и нервной систем. Установлено, что высокий уровень гомоцистеина был отмечен у больных мигренью и особенно мигрени с аурой. В основе механизма мигрени с аурой лежит феномен кортикальной распространяющейся депрессии, характеризующейся устойчивой деполяризацией как нейронов, так и глиальных клеток. Ранее было показано, что деполяризация и отек после РКД происходит не без участия глутаматных рецепторов, агонистом которых является гомоцистеин. В связи с этим мы поставили цель проверить вклад глутаматных рецепторов нейронов и глиальных клеток соматосенсорной коры в развитии кортикальной депрессии у крыс с пренатальной гипергомоцистеинемией.

Эксперименты были проведены на таламокортикальных срезах (400 мкм) мозга крыс второй-третьей недели после рождения. Хроническая пренатальная гипергомоцистеинемия была индуцирована с помощью пищевой метиониновой нагрузки в течение всей беременности самок крыс, согласно Gerasimova E., 2017. Внеклеточными электродами регистрировали кортикальную распространяющуюся депрессию (РКД), вызванную 5 секундной аппликацией 50 мМ KCl в область IV слоя соматосенсорной коры. Анализировали латентный период, амплитуды, и длительность развития РКД. При помощи оценки изменения оптических свойств нервной ткани (внутренний оптический сигнал, ВОС) исследовали изменение клеточного объема нейронов и глиии в соматосенсорной коре крыс. Оценивали интенсивность, время спада ВОС.

Анализ электрофизиологических данных показал, что в срезах мозга крыс с пренатальной гГЦ наблюдалось снижение латентного периода развития РКД с 2.34 ± 0.9 сек ($n = 14$) до 1.4 ± 0.8 сек ($n = 7$, $p < 0.05$). Применение ингибиторов НМДА и АМПА рецепторов приводило к достоверному снижению амплитуд и латентного периода развития РКД, как в срезах контрольной группы, так и в срезах у животных с пГЦ. В присутствии селективного

блокатора АМПА-каналов CNOX (15 мкМ) регистрировалось уменьшение амплитуд на $22 \pm 10\%$ ($n = 18$, $p < 0.05$) в контроле, а в срезах с пренатальной ГГц на $46 \pm 16\%$ ($n = 9$, $p < 0.05$) относительно контроля. Воздействие блокатора НМДА-каналов (40 мкМ) также снизило амплитуды РКД на $8 \pm 3\%$ в контроле и до $45 \pm 5\%$ в группе крыс с пренатальной ГГц ($n = 9$, $p < 0.05$). Ингибирование НМДА рецепторов приводило к восстановлению латентного периода развития РКД в срезах с пренатальной ГГц.

В следующей серии экспериментов была произведена оценка изменения параметров внутреннего оптического сигнала (ВОС) в соматосенсорной коре крыс. Считается, что ВОС связан с перераспределением воды между клетками и внеклеточной жидкостью в активности нейронов и глии. Инъекция 50 мМ KCl вызывала усиление интенсивности ВОС в контроле до 713 ± 83 о.е. ($n = 12$) с временем спада 5 ± 1 мин ($n = 12$). В условиях пренатальной ГГц наблюдалось достоверное снижение амплитуд и увеличение времени спада ВОС до 254 ± 46 о.е. ($n = 11$, $p < 0.001$) и 8 ± 1 мин ($n = 11$, $p < 0.05$) соответственно. Ингибирование глутаматных рецепторов приводило к уменьшению времени спада ВОС на $61 \pm 9\%$ ($n = 4$, $p < 0.01$) в присутствии CNQX, относительно контроля и на $69 \pm 11\%$ ($n = 4$, $p < 0.01$) относительно контроля при действии d-APV.

Таким образом, пренатальная гипергомоцистеинемия повышает чувствительность нейронов соматосенсорной коры к развитию кортикальной депрессии, которая нормализуется при помощи блокады глутаматных рецепторов. Активация глутаматных рецепторов усиливает развитие РКД и снижает способность нейронов и глиальных клеток регулировать проницаемость мембраны для ионов калия и воды.

Работа выполнена в рамках гранта РНФ № 20-015-00100.

Ранние сигнальные ответы и мессенджеры постуральной мышцы в условиях безопорности

Шенкман Б.С., Мирзоев Т.М., Вильчинская Н.А.

Государственный научный центр РФ Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, Москва, Россия

e-mail: bshenkman@mail.ru

Early signaling responses and messengers in the postural muscle under conditions of support withdrawal

Shenkman B.S., Mirzoev T.M., Vilchinskaya N.A.

Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Основная постуральная мышца млекопитающих – камбаловидная мышца (*m. soleus*) – очень активна. Она работает в течение всего периода бодрствования. Однако при устранении силы реакции опоры (невесомость, вывешивание задних конечностей) она немедленно инактивируется. Эта инактивация запускает в волокнах *m. soleus* ряд сигнальных механизмов, которые при дальнейшем сохранении состояния механической разгрузки приводят к устойчивому снижению интенсивности белкового синтеза, усилению протеолитических процессов, деструкции цитоскелетных и матриксных белков и изменению характера экспрессии ключевых белков клеточного фенотипа (медленной и быстрых изоформ миозина). Уже после 24 часов разгрузки наблюдается достоверное увеличение экспрессии генов ключевых мышечных E3 убиквитин лигаз MuRF-1 и MAFbx/atrogin-1. Увеличивается и содержание этих ферментов в волокнах *m. soleus* крысы в этот период. Одновременно регистрируется снижение синтеза белка более, чем на 40% (по включению пурамицина) и более, чем двукратное снижение синтеза 18S и 28S рибосомальных РНК. При этом снижается транскрипция гена *myh7*, кодирующего последовательность аминокислот в медленной изоформе тяжёлых цепей миозина (MyHC I(β)). В связи с этим, чрезвычайно важно понять, какие метаболические, ионные и механобиологические события, непосредственно обусловленные остановкой сократительной активности камбаловидной мышцы, оказываются триггерами, сдвигающими баланс анаболических и катаболических сигнальных путей в сторону преобладания деструктивных процессов.

Естественным следствием прекращения сократительной активности мышечного волокна является изменение баланса пуриновых нуклеотидов АТФ/АДП/АМФ в сторону накопления АТФ. Многие авторы считают одним из решающих факторов в гипогравитационной перестройке мышцы накопление активных форм кислорода. При этом концентрация оксида азота в волокнах камбаловидной мышцы при разгрузке драматически снижается. Снижается и содержание нейрональной синтазы оксида азота в саркомере. Можно считать, что макроэргические нуклеотиды выполняют роль метаболических сигналов, влияющих на состояние регуляторных сетей, определяющих из-

менения белкового обмена и миозинового фенотипа при изменении характера сократительной активности постуральной мышцы. Не исключено, что такую же роль выполняют и активные формы кислорода, включая оксид азота.

Среди ранних и, возможно, триггерных событий раннего этапа разгрузки можно назвать изменение ионного баланса в результате прекращения волны критической деполяризации. При этом наблюдаются нарушения в работе Na^+ , K^+ -АТФазе, натриевых и хлоридных каналов с последующим изменением характера кальциевых потоков. В 1995 году было предсказано, а в 1999–2001 годах обнаружено накопление ионов кальция в миоплазме волокон камбаловидной мышцы уже после 2 суток вывешивания. На возможную сигнальную роль этого феномена указала S. Kandarian. Но лишь в последние годы выяснилось, что избыток кальциевых ионов не только способствует активации протеолитических ферментов и участвует в регуляции экспрессии ряда ключевых генов, включая гены изоформ тяжёлых цепей миозина, но и принимает участие в регуляции митохондриального и свободно-радикального метаболизма. Таким образом, ионы кальция также можно отнести к метаболическим триггерам гравитационной разгрузки.

Сарколемма весьма богата механосенсорными молекулами, наиболее изученными из которых являются интегрины и механочувствительные/стретч-активируемые каналы (SAC). С прекращением сократительной активности мышцы следует ожидать соответствующего прекращения действия механических стимулов на механосенсорные молекулы. Это прекращение работы механосенсоров также может служить триггером для изменения баланса активности анаболических и катаболических сигнальных путей.

В настоящем докладе, основанном на результатах экспериментов, поставленных в нашей лаборатории в последние 5 лет, мы рассмотрим ряд метаболических сигнальных событий, характерных для наиболее раннего этапа прекращения сократительной активности *m. soleus* (преимущественно до 24 часов). И попробуем связать их в единую логическую и непротиворечивую картину, позволяющую не только представить себе последовательность сигнальных реакций, но и выявить атрофическую направленность этой регуляторной цепи.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ (проект № 17-75-20152).

Метод детектирования нейронов и глии при межклеточной передаче митохондрий

Широкова О.М.¹, Першин В.И.^{1,2}, Мухина И.В.^{1,2}

¹ ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

² Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

e-mail: shirokovaom@gmail.com

Method for detecting neurons and glia in inter cellular transmission of mitochondria

Shirokova O.M.¹, Pershin V.I.^{1,2}, Mukhina I.V.^{1,2}

¹ Privolzhsky research medical university, Nizhni Novgorod, Russia

² Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod, Nizhni Novgorod, Russia

При исследовании механизмов межклеточной передачи митохондрий, играющее большую роль в сигнализации между клетками широкое распространение получили методы прижизненного маркирования митохондрий с помощью плазмидных векторов, несущие флуоресцентными метками, а также флуоресцентный кальциевый имиджинг.

Однако, ввиду существенных различий в кальциевом сигналинге в нервной ткани между кальциевой активностью нейронов и астроцитов, возникает необходимость идентификации конкретных типов клеток

Для этого необходимо разработать протокол культивирования и корреляционной микроскопии для идентификации клеток с осуществленной межклеточной передачей. При исследовании первичных культур различных областей мозга исследователи получают клеточные культуры, гетерогенные по составу. Многие исследователи используют Sulforhodamine 101 для мечения астроцитов, однако этот подход имеет ряд минусов. Целью работы было разработка протокола культивирования и оптического имиджинга для раздельного анализа нейронов и глиальных клеток при идентификации клеток с «донорскими митохондриями».

В качестве биологической модели использовались первичные диссоциированные клетки гиппокампа, взятые из эмбрионов (E18) мышей линии C57BL/6 и культивируемые 10–15 дней развития *in vitro*. В качестве кальциевого зонда был выбран Oregon Green-488 BAPTA-1 AM. Диссоциированные клетки культивировались на термоустойчивой плёнке (Agar Scientific, AGL4458) с предварительно начерченной координатной сеткой в виде цифр, по стандартному протоколу культивирования. Для визуализации флуоресценции использовался конфокальный лазерный сканирующий микроскоп Zeiss LSM 510. Донорами митохондрий являлись первичные диссоциированные клетки коры больших полушарий, взятые из эмбрионов (E18) мышей линии C57BL/6 и культивируемые до 4 дня развития *in vitro*. На первый день культивирования осуществлялась трансфекция плазмидой pTagRFP-mito (Евроген, FP147) с использованием набора NeuroPorter™ Transfection Kit (Sigma-Aldrich).

После мониторинга функциональной кальциевой активности координаты исследованных клеток сохраняли с помощью фотоснимковразного фокуса (плёнка автофлуоресцирует). Впоследствии клетки фиксировались для иммуноцитохимического маркирования нейронов и астроцитов. После проведённых процедур те же поля зрения фотографировали на том же микроскопе. Часть клеток исследовались на ультраструктурном уровне с использованием просвечивающей электронной микроскопии, с пробоподготовкой, описанной ранее.

Данный метод позволяет идентифицировать донорские митохондрии в клетках-реципиентах и производить их дальнейший морфофункциональный анализ с помощью разных видов микроскопий. В частности, позволяет отдельно исследовать активность нейронов и астроцитов после оптического имиджинга и сопоставить морфо-функциональные особенности клетки с донорскими митохондриями с сестринскими клетками, не подверженными межклеточной передаче.

Однако данный метод имеет ряд ограничений: важна плотность клеток – культуры клеток должна образовывать равномерный монослой; ввиду наличия автофлуоресценции используемой плёнки необходимо использовать прямой микроскоп; данный протокол требует больших трудозатрат по сравнению с протоколами, подразумевающими использование флуоресцентных красителей для прижизненного разделения исследуемых клеток в сложных культурах (например, Sulforodamine 101 – для маркирования астроцитов).

Влияние уретана и изофлурана на кортикальный функциональный и гемодинамический ответы в бочонковой коре новорожденной крысы

Шумкова В.В., Ситдикова В.Р., Минлебаев М.Г.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

e-mail: victshumkova@gmail.com

The effect of urethane and isoflurane on cortical functional and hemodynamic responses in the barrel cortex of a newborn rat

Shumkova V.V., Sitdikova V.R., Minlebaev M.G.

Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

Использование анестетиков в острых биомедицинских исследованиях является необходимым условием, которое не только снижает двигательную активность и стресс у животного, но и улучшает качество эксперимента. Но действие анестетика на центральную нервную систему (ЦНС) может сопровождаться модуляцией предмета исследования, что усложняет интерпретацию результатов. В то время, как на взрослых животных механизмы действия анестетиков являются предметом подробного изучения, эффекты анестезирующих агентов на развивающуюся ЦНС остаются малоизученными. В данной работе мы постарались ответить на этот вопрос, изучая влияние различных концентраций анестетиков (изофлурана и уретана) на вызванную нейронную активность и локальные изменения кровоснабжения соматосенсорной коры новорожденных крыс. Для этого использовался метод внутреннего оптического сигнала (ВОС).

Чтобы описать церебральный кровоток и функциональную активность были оценены амплитудно-временные зависимости ВОС от концентрации анестезии. Наблюдалось прогрессивное падение амплитуды ВОС при увеличении концентрации как уретана, так и изофлурана. Это падение хорошо описывается экспоненциальной моделью (e значения составляют 1.4 ± 0.1 г/кг и $1.2 \pm 0.1\%$, соответственно) и не показывает достоверных возрастных изменений на животных, использованных в исследовании. Также оба анестетика экспоненциально подавляют функциональный кортикальный ответ. Наши результаты показывают, что изофлуран сильнее воздействует на тканевую компоненту (ТК), в то время как зависимость ТК от концентрации уретана описывается менее выраженным экспоненциальным спадом.

Наши результаты показывают негативную корреляцию между анестезией и гемодинамическими параметрами. Оксигемоглобин и общий гемоглобин описываются моделью экспоненциального спада. Также нами были проанализированы площади гемодинамического и функционального ответов. В то время как в контрольных условиях область усиленной оксигенации примерно соответствует области функционального ответа, применение анестезии приводило к непропорциональному увеличению кортикальной области усиленной

оксигенации, что превышало площадь функционального ответа примерно на 50%, независимо от типа анестезии.

Мы впервые продемонстрировали зависимость от дозы и анестезии функциональной реакции коры и гемодинамических изменений в развивающемся мозге. Функциональные кортикальные и гемодинамические ответы экспоненциально зависят от концентрации анестезии. По сравнению с уретаном, изофлуран сильно влияет на функциональную реакцию. Наши результаты показали, что в то время как гемодинамический ответ, который высоко коррелирует с функциональным состоянием коры головного мозга, активная область гемодинамических изменений показывает более выраженное увеличение площади по сравнению с функциональным ответом.

Работа выполнена при поддержке гранта РФ № 16-15-10174.

Роль ИУК в повышении эндобактериями *B. subtilis* 26Д и 10-4 засухоустойчивости яровой мягкой пшеницы сорта Экада 70

Юлдашев Р.А.¹, Ласточкина О.В.¹, Аллагулова Ч.Р.¹, Авальбаев А.М.¹, Шакирова Ф.М.¹, Дмитриева А.Н.², Зикрина И.И.²

¹ Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия

² Башкирский государственный университет, Уфа, Россия

e-mail: yuldashevra@gmail.com

Role of IAA in enhancement of drought tolerance in soft spring wheat cv. Ekada 70 mediated by endobacteria *B. subtilis* 26D and 10-4

Yuldashev R.A.¹, Lastochkina O.V.¹, Allagulova Ch.R.¹, Avalbaev A.M.¹, Shakirova F.M.¹, Dmitrieva A.N.², Zikrina I.I.²

¹ Institute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia

² Bashkir State University, Ufa, Russia

Ранее нами было показано, что предпосевная обработка семян яровой мягкой пшеницы сорта Экада 70 эндобактериями *B. subtilis* (штаммы 26Д и 10-4) повышает засухоустойчивость растений, о чём судили по числу семян, проросших на растворах сахарозы с осмотическим давлением в 16, 18 и 20 атм, моделирующих прогрессирующую засуху. При этом было выявлено, что предобработка семян штаммом 10-4 лучше повышает засухоустойчивость растений при прорастании в сравнении с действием штамма 26Д. Одновременно было показано, что штамм 10-4 продуцирует большее количество ИУК (5.8 мг/л), чем штамм 26Д (2.2 мг/л). В связи с этим, было предположено, что выявленное действие исследуемых штаммов *B. subtilis* на засухоустойчивость яровой мягкой пшеницы сорта Экада 70 на ранних этапах онтогенеза может быть опосредовано действием продуцируемой ими ИУК. Для проверки этого предположения было исследовано влияние предобработки семян яровой мягкой пшеницы сорта Экада 70 растворами ИУК в концентрациях 0.1–100 мг/л на прорастание семян на растворах сахарозы (16, 18 и 20 атм), моделирующих прогрессирующую засуху.

В результате работы было выявлено, что предпосевная полусухая обработка семян яровой мягкой пшеницы сорта Экада 70 экзогенной ИУК по-разному влияет на прорастание семян в условиях дефицита влаги в зависимости от концентрации фитогормона. Так, предобработка семян раствором ИУК в концентрации 0.1 мг/л угнетала их прорастание в условиях прогрессирующей засухи, что выражалось в меньшем количестве проросших семян по сравнению с числом проросших в тех же условиях ничем не обработанных семян (контроль). Влияние ИУК в концентрации 1 мг/л выражалось в количестве

проросших семян, сопоставимом с числом проросших необработанных семян. Предобработка семян растворами ИУК в концентрациях 10 и 100 мг/л оказывала стимулирующее влияние на их прорастание в условиях дефицита влаги, сопоставимое с действием штаммов *B. subtilis*. Причём, предобработка ИУК в концентрации 100 мг/л лучше повышала засухоустойчивость растений в сравнении с действием концентрации 10 мг/л.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют в пользу того, что продуцируемая штаммами *B. subtilis* 26Д и 10-4 ИУК может вносить вклад в качестве интермедиата в проявление антистрессового эффекта этих бактерий на растения яровой мягкой пшеницы сорта Экада 70 в условиях засухи на ранних этапах онтогенеза. Что касается различий в концентрациях ИУК, продуцируемых бактериями (2.2–5.8 мг/л) и экзогенной ИУК (10–100 мг/л), повышающих засухоустойчивость в наших опытах то нельзя не отметить, что эти концентрации заметно различаются. Возможно, это объясняется тем, что эндофитным бактериям, колонизирующим семена после предобработки, достаточно поддерживать небольшой, зато постоянный уровень ИУК для оказания своего физиологического действия на растения. Для проявления же сопоставимого эффекта экзогенно применяемой ИУК, видимо, требуются большие количества фитогормона.

Работа выполнена в рамках государственного задания по теме № АААА-А21-121011990120-7 с привлечением приборного парка РЦКП «Агидель» УФИЦ РАН и частично при финансовой поддержке РФФИ (проект № 19-016-00035_а).

Роль эндогенных тиолов – гомоцистеина и сероводорода в развитии нейрональной сети гиппокампа крыс в онтогенезе

Яковлев А.В., Ситдикова Г.Ф.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

e-mail: alv.yakovlev@kpfu.ru

The role of endogenous thiols – homocystiene and hydrogen sulfide in the postnatal development of the neural networks of rat hippocampus

Yakovlev A., Sitdikova G.

Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

Гомоцистеин и сероводород относятся к группе эндогенных тиолов, соединениям, содержащим SH группу, обеспечивающим окислительно-восстановительный баланс клеток. В зависимости от физиологического состояния тиолы могут проявлять как про-, так и антиоксидантные свойства. Изменения концентраций эндогенных тиолов могут приводить к нарушениям во многих системах организма, в том числе, сердечно-сосудистой, нервной, патологиям развития нервной системы, нейродегенеративным заболеваниям. Гомоцистеин вызывает аккумуляцию активных форм кислорода (АФК) и стимулирует нейротоксичность, тогда как H_2S связывает АФК и защищает нейроны от оксидативного стресса, сохраняя функции митохондрий. Целью данной работы было исследовать роль и механизмы действия эндогенных тиолов на развитие нейрональной сети гиппокампа в первую и вторую постнатальную неделю развития мозга крыс.

Экзогенный и эндогенный доноры сероводорода вызывают двойной эффект на спонтанную сетевую активность нейронов гиппокампа: наблюдалось первоначальное усиление, а затем в дозозависимой манере угнетение частоты гигантских потенциалов и потенциалов действия клеток. Усиление нейрональной активности гиппокампа связано с H_2S -вызванной деполяризацией мембранного потенциала за счёт угнетения входящих калиевых токов клеток. Последующее H_2S -зависимое угнетение спонтанной сетевой активности было связано с изменением проводимости Na^+ и НМДА-каналов. Было показано, что $NaHS$ вызывал смещение активации и инактивации натриевых каналов, снижал ток через НМДА-каналы и не влиял на работу АМПА/каинатных и ГАМК(A)-рецепторов нейронов. Кроме того, H_2S устранял эпилептоформную активность в гиппокапме, вызванную аппликацией бикуккулина. Анализ синаптических токов, вызванных активацией глутаматных рецепторов, выявил, что донор H_2S оказывал необратимый ингибирующий эффект на амплитуду НМДА-вызванного синаптического тока нейрональной клетки у новорожденного крысенка в СА3 области гиппокампа, в тоже время в гиппокампе взрослых крысят H_2S вызывал потенциацию НМДА-индуцированных ответов. Анализ действия H_2S на НМДА-рецепторы, экспрессируемые в НЕК293Т клетках

показал, что эффекты донора сероводорода на амплитуду вызванного тока зависят от субъединичного состава глутаматного рецептора. Так H_2S усиливал ток через GluN1/2A НМДА-рецепторы, а в клетках с GluN1/2B субъединицей происходило подавление НМДА-вызванного ответа. В присутствии восстановителя DTT действие H_2S не проявлялась лишь в клетках, экспрессирующих GluN1/2АНМДА-рецепторы.

В следующей серии экспериментов было проведено исследование действия гомоцистеина и его производных на сетевую и популяционную активность нейронов гиппокампа крыс. Гомоцистеин и его производные в дозозависимой манере усиливали спонтанную сетевую активность через активацию НМДА-рецепторов и изменение возбудимости клеток, при этом гомоцистин оказывал наиболее значительное повышение сетевой и нейрональной активности. Предварительной инкубации в гомоцистеин-тиолатоне срезов или в условиях пренатальной гипергомоцистеинемии было показано, что нейронная сеть гиппокампа обладает повышенной спонтанной активностью и чувствительностью к развитию судорожной активности, вызванной аппликацией хемоконвульсантов (4-аминопиридина). Анализ механизмов развития пренатальной гипергомоцистеинемии показал, что нейроны гиппокампа СА3 области у новорожденных крысят обладают повышенной возбудимостью за счёт снижения порога генерации потенциала действия отсутствием частотной адаптации потенциалов действия. Кроме того, в отличие от нейронов контрольной группы, длительность потенциала действия не изменяется в условиях пачечной активности, что, возможно, указывают на ускорение реполяризации.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что H_2S и гомоцистеин, являясь метаболитами метионина, оказывают полностью противоположные эффекты на возбудимость нейрональных клеток, спонтанную активность гиппокампа. Можно предположить, сероводород способен снижать вероятность возникновения эпилептоформенной активности в условиях пренатальной гипергомоцистеинемии у новорожденных крысят.

Работа выполнена в рамках гранта РФФИ № 20-015-00100.

Нейроимиджинг-регистрация вызванной фокальной эпилептиформной активности в соматосенсорной коре новорожденной крысы

Якупова А.И., Шарипзянова Л.С., Минлебаев М.Г.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

e-mail: annaiakupova@yandex.ru

Neuroimaging-recording of evoked focal epileptiform activity in the somatosensory cortex of a newborn rat

Yakupova A.I., Sharipzyanova L.S., Minlebaev M.G.

Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

Эпилептогенез – процесс, в ходе которого генетические или другие приобретенные нарушения приводят к изменениям в мозге, которые могут привести к развитию пароксизмальной активности. В процессе развития происходят непрерывные изменения в структуре и функционировании нервной системы, что может изменить механизмы, лежащие в основе возникновения эпилептических приступов. Понимание механизмов эпилептогенеза в различных возрастных периодах позволит разработать соответствующие методы лечения и профилактики.

В данной работе исследовалась вызванная инъекцией 4-аминопиридина фокальная эпилептическая активность у новорожденных крыс от р7 до р11. Для детекция эпилептических эпизодов использовался метод регистрации внутреннего оптического сигнала (ВОС), позволяющий определить не только положение активных участков коры, но и оценить изменения локального кровотока и оксигенации крови. Для определения времени генерации эпилептической активности мы также одновременно проводили электрографическую запись с помощью многоканального электрода.

Анализ показал, что однократной инъекции эпилептогена достаточно, чтобы вызвать множественную фокальную эпилептиформную активность (средняя частота иктальных разрядов 5 ± 0.5 эпизодов/час, $n = 17$). Сравнение экспериментальных результатов, полученных с помощью электрофизиологических записей и регистрации ВОС показало, что в 96,1% случаев количество электрографических признаков эпилептиформной активности, зарегистрированной на ближайшем к месту инъекции электроде, совпадало с количеством задетектированных эпилептиформных разрядов с помощью методики регистрации ВОС. Сравнение длительности зарегистрированных событий также продемонстрировало отсутствие достоверных различий между электрографическими и нейроимиджинговыми результатами (длительность иктального разряда по ВОС составляла медиана 178.2 сек, 25% 119.9 сек, 75% 248.8 сек и по электрографической регистрации медиана 197.5 сек, 25% 134.3 сек, 75% 292.1). Начальные площади развития эпилептической актив-

ности имели значения 0.6 ± 0.1 мм² и с течением времени рост вовлекаемых областей продолжался.

Полученные результаты позволяют сделать вывод, что методика регистрации ВОС эффективна для обнаружения очага эпилептической активности и его горизонтального распространения.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-15-10174.

Салицилат- и жасмонат-опосредованная регуляция активности защитных белков в растениях картофеля при обработке *Bacillus subtilis* и инфицировании *Phytophthora infestans* в условиях засухи

Яруллина Л.Г.¹, Цветков В.О.², МаксUTOва В.О.², Бурханова Г.Ф.¹, Калацкая Ж.Н.³

¹ Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия

² Башкирский государственный университет, Уфа, Россия

³ Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича, Минск, Республика Беларусь

e-mail: zv347@yandex.ru,

Salicylate- and jasmonate-mediated regulation of the activity of protective proteins in potato plants during treatment with *Bacillus subtilis* and infection with *Phytophthora infestans* under drought conditions

Yarullina L.G.¹, Tsvetkov V.O.², Maksutova V.O.², Burkhanova G.F.¹, Kalatskaya J.N.³

¹ Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Centre, RAS, Ufa, Russia

² BashkirState University, Ufa, Russia

³ Institute of Experimental Botany named after V. F. Kuprevich, Minsk, Republic of Belarus

Исследовано влияние обработки бактериями *Bacillus subtilis* в сочетании с салициловой и жасмоновой кислотами на изменение протеома листьев в связи с развитием устойчивости картофеля к возбудителю фитофтороза – оомицету *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary при недостатке влаги. Особенностью стимулирующих рост растений бактерий, в том числе *B. subtilis*, является способность воздействовать на рост растений непосредственно за счёт синтеза метаболитов гормональной и сигнальной природы, таких как салициловая (СК) и жасмоновая (ЖК) кислоты. Значительный интерес представляет выяснение механизмов индуцирования устойчивости растений к патогенам и абиотическим стрессам под действием бактерий рода *Bacillus* в комплексе с сигнальными молекулами.

Методом двумерного электрофореза в протеоме листьев картофеля обнаружены различия в присутствии 19 белков в диапазоне pI от 4,0 до 9,0 с молекулярными массами от 30 до 125 кДа. Наибольшие отличия в спектре белков отмечены у инфицированных растений, обработанных *B. subtilis* в смеси с ЖК, что коррелировало с повышенной экспрессией гена PR-6 – маркера активации жасмонатного сигнального пути формирования индуцированной системной устойчивости. Как известно, жасмонаты регулируют процессы развития растений и адаптации к внешним биотическим и абиотическим стрессорам.

Во всех вариантах обработки, в отличие от контроля, наблюдалось присутствие белка хлоропластов, вовлечённого в генерацию АФК (oxygen-evolving enhancer protein 1). Наибольшее содержание данного белка отмечалось в растениях, обработанных *B. subtilis*, а также в заражённых растениях, обработанных *B. subtilis* + ЖК. Известно, что окислительный взрыв является сигналом для реакции сверхчувствительности (СВЧ), которая тесно связана с эффективным ответом растений на инфицирование патогеном. В литературе имеются данные о взаимосвязи белка окислительного взрыва RPH1 с устойчивостью растений к *Phytophthora brassicae*. Следует отметить, что в растениях, обработанных СК (с повышенной экспрессией гена PR-1 – маркера салицилатного сигнального пути) данный белок также присутствовал в количестве вдвое меньшем, чем при обработке ЖК. Таким образом, в условиях абиотического стресса обработка бактериями через жасмонат- и салицилат-опосредованные сигнальные пути активирует СВЧ-реакцию, связанную с ответом на внедрение микроорганизмов в растение. Вероятно, множественность путей активации обуславливает стабильность защитного ответа при заражении патогеном и абиотическом стрессе.

В заражённых *P. Infestans* растениях, предобработанных *B. subtilis* в смеси с ЖК, также наблюдалось крайне высокое (более 20 мкг/г массы) содержание Н-белка глицин-декарбоксилазного комплекса митохондрий (glycine cleavage system H protein). Известно, что повышенная экспрессия данного белка в генетически-трансформированных растениях табака вызывает интенсификацию процессов фотосинтеза и накопления биомассы. Интересно, что данный белок не выявлялся в других вариантах опыта с заражёнными растениями и в контроле, однако присутствовал в значительно большем количестве в обработанных *B. subtilis* незаражённых растениях. По-видимому, обработка бактериями в условиях засухи вызывает жасмонат-опосредованную активацию экспрессии данного белка, которая блокируется при поражении фитопатогеном. Предобработка растений картофеля *B. subtilis* в сочетании с ЖК при заражении *P. infestans* позволяет индуцировать данный защитный механизм, повышая устойчивость растений к поражению фитопатогеном.

Таким образом, обработка растений картофеля бактериями *B. subtilis* в сочетании с сигнальными молекулами в условиях засухи приводит к существенному повышению устойчивости растений к поражению *P. infestans*, развивающейся в основном по жасмонат-опосредованному сигнальному пути. Результаты подобных исследований могут быть использованы для разработки эффективных и экологически-безопасных подходов к защите растений от патогенных микроорганизмов.

Работа выполнялась при финансовой поддержке РФФИ и БРФИ в рамках научного проекта № 20-516-00005, на оборудовании ЦКП «Биомика» и УНУ «КОДИНК»

АВТОРСКИЙ ИНДЕКС

Абрамов А.Ю.	122
Авальбаев А.М.	2, 4, 6, 140
Агеева М.В.	26
Агеева М.Н.	89
Аллагулова Ч.Р.	2, 4, 6, 140
Андрианов В.В.	16
Архипова Т.Н.	8, 52
Архипов А.Ю.	104
Ахтямова З.А.	8
Балабан П.М.	12, 38
Балезина О.П.	96, 124
Балкин А.С.	70
Баранова Н.Б.	68
Безрукова М.В.	4, 59
Беккет Р.П.	10
Белимов А.А.	22
Белова С.П.	35, 77, 116
Бережнов А.В.	122
Блохина А.С.	54
Богачева П.О.	96
Богодвид Т.Х.	16
Брежестовский П.Д.	92, 94
Брилкина А.А.	89
Буглинина А.Д.	48
Бурханова Г.Ф.	146
Бурыгин Г.Л.	40
Валитова Ю.Н.	14
Васильев И.Д.	59
Вершинина З.Р.	66
Викторова Л.В.	14
Вильчинская Н.А.	134
Винарская А.Х.	12
Воденеев В.А.	89
Воробьев В.Н.	26
Воробьев В.Н.	40
Гавриченко А.В.	57
Газизова Н.И.	62
Гайдуков А.Е.	124
Гайнутдинов Х.Л.	16
Галеева Е.И.	14
Галибина Н.А.	18

Гатаулина Э.Д.	20
Гафуров О.Ш.	121
Гиляева А.А.	54
Гоголева Н.Е.	22, 23, 26, 70, 83, 114, 126
Гоголева О.А.	23, 70, 102
Гоголев Ю.В.	22, 23, 26, 40, 70, 73, 83, 111, 114, 126
Головченко А.Н.	16
Гомзикова М.О.	75
Гончарова А.М.	25
Горшкова Т.А.	28, 56, 72, 86
Горшков В.Ю.	23, 26, 40, 70, 73, 83, 87, 102, 111, 114, 126
Горшков О.В.	56
Гринберг М.А.	89
Даминова А.Г.	62
Демьянчук И.С.	36
Дерябина И.Б.	16
Дмитриева А.Н.	140
Дмитриева С.А.	50, 91
Егорова А.М.	29
Ермакова Е.В.	46, 48
Ермекалиев Т.С.	22
Ж иляков Н.В.1	31, 104
Закирьянова Г.Ф.	33
Зарипова К.А.	35, 77
Захарова Е.В.	36
Здобнова Т.А.	89
Зикрина И.И.	2, 140
Зинкевич В.В.1	36
Золотых М.А.	75
Зюзина А.Б.	12, 38
И брагимова Н.Н.	119
Иванова Д.С.	18
Исламов Б.Р.	26, 40, 83
К адыйров А.И.	40
Калацкая Ж.Н.	146
Климшин С.И.	57
Ковалева Л.В.	36
Ковязина И.В.	42
Колубако А.В.	44
Комилова Н.Р.	122
Коннова Т.А.	22, 114
Королёва К.С.	46, 48
Костенко В.В.	68
Краснова А.Н.	50
Крицкая К.А.	122
Кудоярова Г.Р.	52

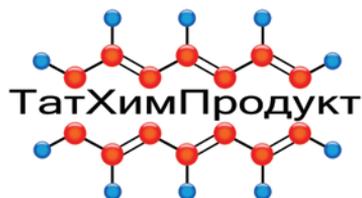
Кузакова О.В.	25
Кузнецова Е.А.	33
Кузьмина Л.Ю.	8
Кунцевич Е.С.	54
Курмашова Е.Д.	20
Лазутин С.А.	16
Ларская И.А.	56, 119
Ласточкина О.В.	4, 6, 64, 140
Лексин И.Ю.	81
Ленина О.А.	42, 85
Ломоватская Л.А.	25
Лопатина Е.В.	57
Лубянова А.Р.	2, 4, 59
Львова И.Д.	61, 130
Мазина А.Б.	62, 81
Максутова В.О.	146
Маломуж А.И.	105
Маркелова М.И.	68
Мартыненко Е.В.	8, 52
Масленникова Д.Р.	4, 64, 66
Медведева Е.С.	68
Мещеров А.Р.	23, 70, 102
Микшина П.В.	40
Минибаева Ф.В.	10, 14, 62, 81, 98
Минлебаев М.	128
Минлебаев М.Г.	107, 138, 144
Мирзоев Т.М.	61, 100, 134
Мокшина Н.Е.	72
Молчанова А.И.	96
Моруженкова В.А.	73
Мочалова Е.П.	35, 77, 116
Мошков И.Е.	78
Мощенская Ю.Л.	18
Музыкантов А.А.	68, 75
Муранова Л.Н.	16
Мухамедьяров М.А.	117
Мухина И.В.	136
Мухитова Ф.К.	14
Мухутдинова К.А.	33
Надеев А.Д.	122
Немировская Т.Л.	35, 77
Никерова К.М.	18
Николайчик Е.А.	44
Новикова Г.В.	78
Новицкая Л.Л.	18
Нужная Т.В.	8
Нуруллин Л.Ф.	104, 117

Одношивкина Ю.Г.	79
Онеле А.О.	81
Осипова Е.В.	22, 23, 70, 114
Парфирова О.И.	26, 73, 83, 87, 111
Пасатецкая Н.А.	57
Першин В.И.	136
Петров А.М.	33, 79
Петрова Н.В.	72, 86
Петрова О.Е.	23, 26, 40, 70, 73, 83, 87
Петров К.А.	85
Петухова Е.О.	92, 94
Печёрина А.А.	89
Плотников А.А.	4
Пономарева А.А.	14, 91
Пономарева Д.Н.	92, 94
Пономарева М.Л.	23, 70, 102
Пономарев С.Н.	23, 70, 102
Правдивцева Е.С.	96
Рассабина А.Е.	98
Рахматуллина Д.Ф.	14
Ренкова А.Г.	14
Речапов И.	128
Рожина Э.В.	75
Рожков С.В.	61, 100
Рощин М.В.	12
Рязанов Е.А.	102
Сабанцев М.О.	50
Сабуни Р.Г.	68
Самигуллин Д.В.	31, 104
Семенова Л.И.	18
Серкова А.А.	18
Сибгатуллина Г.В.	62, 105
Силантьева Д.И.	16
Ситдикова В.Р.	107, 138
Ситдикова Г.Ф.	46, 48, 109, 142
Ситдигов Ф.Г.	109
Смирнов И.В.	38
Смолобочкин А.В.	83
Соболев Д.С.	36
Соколова М.Г.	57
Сорокина Д.М.	109
Сыромятникова Е.Д.	111
Тарасова Е.О.	124
Тарелкина Т.В.	18
Тарчевский И.А.	113
Тендюк Н.В.	114

Трифонова Т.В.	14
Трофимова О.И.	56
Тыганов С.А.	116, 130
Тяпкина О.В.	117
Фахруллин Р.Ф.	75
Федина Е.О.	119
Федорина А.И.	121
Федорова К.А.	4
Федотова Е.И.	122
Хабибрахманова В.Р.	14, 98
Хабибрахманов А.Н.	117
Хаертдинов Н.Н.	54
Хазиев Э.Ф.	104
Хамо Хамза	22
Хоткина Н.А.	124
Хуснутдинова Д.Р.	68
Цветков В.О.	146
Церс И.Д.	26, 126
Часов А.В.	81
Чернова О.А.	68, 75
Чернов В.М.	68, 75
Чирва О.В.	18
Чубукова О.В.	66
Шайдуллов И.Ф.	109
Шакирова Ф.М.	2, 4, 59, 140
Шапошников А.И.	22
Шарипзянова Л.	128
Шарипзянова Л.С.	144
Шарло К.А.	61, 100, 130
Шахматова В.И.	132
Шенкман Б.С.	35, 61, 100, 116, 130, 134
Широкова О.М.	136
Шихаб А.В.	16
Шумкова В.В.	107, 138
Юзихин О.С.	22
Юлдашев Р.А.	2, 4, 6Ю 140
Яковлев А.В.	50, 132, 142
Якупова А.	128
Якупова А.И.	144
Яруллина Л.Г.	146

© Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, 2021

Ответственный редактор И. Ю. Карпилова;
редактор: С. М. Ахмин; технический редактор О. Б. Яндуганова.
Издательство ФИЦ КазНЦ РАН, 420029, Казань, Сибирский тракт, 10/7,
лицензия № 0325 от 07.12.2000.



Начиная с 2004 года, наша группа компаний зарекомендовала себя в качестве надёжного и добросовестного поставщика во всех ведущих научных и учебных учреждениях г. Казани.

У нас Вы всегда сможете заказать всё, что необходимо для обеспечения нормального функционирования современной научно-исследовательской лаборатории: химические и биохимические реактивы, посуду и расходные материалы, лабораторное оборудование ведущих отечественных и зарубежных производителей, лабораторную мебель.

Мы всегда рады подобрать оптимальный вариант закупки, исходя из Ваших средств, сроков поставки и других факторов.

Думается, что немаловажным будет для Вас и тот факт, что большинство продукции поставляется нами по ценам производителей или их официальных российских представителей. Доставка продукции осуществляется нами в пределах Казани бесплатно.

С уважением и надеждой на взаимовыгодное сотрудничество,

Заместитель директора по развитию ГК «ТатХимПродукт»

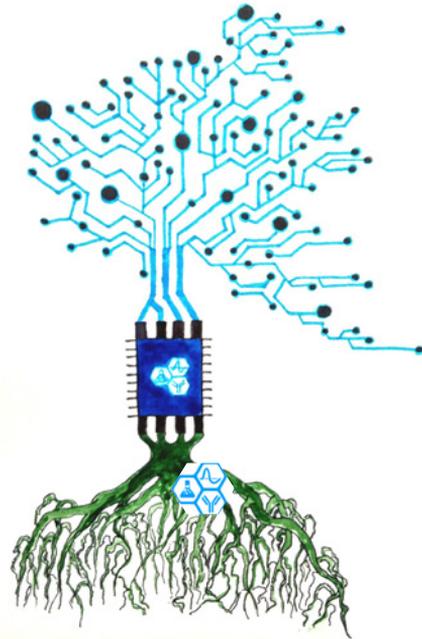
Ефремов Александр Валериевич

тел./факс +7 (843) 278-31-18, доб. 112; тел. моб. +7 (917) 877-31-67

www.tatcp.ru

alex130768@gmail.com

Все элементы решения задачи в одной компании:



- Экспертиза проектов для оптимизации методик и требуемого оборудования
- Поставка оборудования и обучение работы на нём
- Гарантийное обслуживание и постгарантийный ремонт
- Производство оборудования. Контрактные и серийные разработки

Адрес: г. Санкт-Петербург, проспект Тореза 44

Web: www.biotechnologies.ru

E-mail: info@biotechnologies.ru

Tel.: +7 (812) 383-99-41, +7 (812) 294-22-06

