

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
Пушинский научный центр Российской академии наук

Межфакультетский научно-образовательный центр  
Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова в г.Пушино



**20-я Международная Пушинская школа-конференция молодых ученых  
«БИОЛОГИЯ - НАУКА XXI ВЕКА»**

The 20th INTERNATIONAL PUSHCHINO SCHOOL CONFERENCE OF YOUNG SCIENTISTS  
“BIOLOGY – THE SCIENCE OF THE XXI CENTURY”

Пушино, 2016

УДК 57.08; 573.4; 574.24; 574.6; 577.1; 577.2; 577.3; 578,5; 579,6; 581.1; 591.1; 631.4

**БИОЛОГИЯ – НАУКА XXI ВЕКА: 20-я Международная Пушинская школа-конференция молодых ученых (Пушино, 18 - 22 апреля 2016 г.). Сборник тезисов. Пушино, 2016.**

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

Работа школы-конференции проводится в следующих секциях:

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

В программу школы-конференции, кроме устных и стендовых докладов участников, входят лекции ведущих российских и зарубежных ученых, круглые столы, мастер-классы, тренинги, экскурсии по институтам Пушинского научного центра, научные и творческие конкурсы, насыщенная культурная и спортивная программа.

## **СЕКЦИЯ «МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ»**

### **ACTINOBACTERIA WITH ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES ISOLATED FROM A POLLEN OF PINUS SYLVESTRIS GROWN AT BAIKAL SHORE**

**Axenov-Gribanov D.V., Voytsekhovskaya I.V., Protasov E.S., Timofeyev M.A.**  
Institute of Biology at Irkutsk State University, Irkutsk, Russia

*Denis.axengri@gmail.com*

The natural products are a chemical compounds or substances that are formed by living systems. Bacteria are responsible for synthesis of 70% natural products of pharmaceutical, medical and agricultural interests. Actinobacteria are the largest and inexhaustible source of such compounds.

The isolated ecosystems with the defined environmental conditions and inhabitants are proved to be the promising sources of new actinobacteria. The long-lasting interactions lead to development of specific functions for every member of the system including the specialization of the secondary metabolism of actinobacteria in order to fit the ecological niche. This adaptation of secondary metabolism increases the chances to find new biologically active compounds. Here, we report the isolation and characterization of eighteen actinobacteria strains isolated from male cones of *Pinus sylvestris* grown on the shore of the ancient Lake Baikal. Beside the commonly found *Streptomyces* species several minor actinobacteria of *Rhodococcus*, *Amycolatopsis* and *Micromonospora* genera were isolated. Metabolites produced by the strains grown in different mediums were tested for antimicrobial and antioxidant activities. Majority of the strains were found to produce compounds inhibiting the growth of fungi, including pathogenic *Candida albicans*. Several strains were active against Gram-positive and Gram-negative bacteria. The high proportion of biologically active strains producing antibacterial and especially antifungal compounds might reflect their employment in protecting of pollen from phytopathogens.

This study was supported by the Ministry of education and science of Russian Federation as a part of Goszadanie projects (№6.382.2014/K, 6.734.2016 DAAD, 6.696.2016 DAAD), Russian science foundation, Russian foundation for basic research (projects N 14-04-00501, 15-54-04062, 16-34-00686), Grants of Irkutsk State University for researchers and Deutscher Akademischer Austauschdienst.

### **BACTERIAL BREX DEFENSE SYSTEM AFFECTS REPLICATION AND TRANSCRIPTION OF PHAGE GENOMES**

**Isaev A. B.<sup>1,2</sup>, Tsvetkova K. M.<sup>1,2</sup>, Pechenov P. Y.<sup>1</sup>, Matlashov M. E.<sup>1,2</sup>,  
Severinov K. V.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Institute of Gene Biology RAS, Moscow, Russia; <sup>2</sup>Skolkovo Institute of Science and Technology, Skolkovo, Russia

*tcft18@gmail.com*

BREX is a novel phage defense system widespread in bacterial and archaeal genomes. Transfer of this system to the sensitive strain provides resistance to a broad range of viruses, both virulent and temperate ones. BREX consists of 6 genes, including putative Lon-like protease, alkaline phosphatase and DNA methyltransferase, which functions were predicted by homology and were not proved by *in vitro* experiments. General mechanisms of action of BREX system are not defined by the moment and our goal was to investigate which stages of viral infection may be affected by BREX.

In this work we have used BREX gene cluster from *Escherichia coli* HS strain. When this system is being expressed from low-copy number plasmid (pBTB) in sensitive strain BW25113, it confers resistance to a spectrum of DNA-containing phages, such as T7, T4, Lambda, but not to RNA-containing phages as MS2 or Q $\beta$ . Previously we shown that adsorption of phage particles to a cell is not affected by the action of BREX system. Therefore we decided to see whether accumulation of phage DNA may change in BREX active cells. Samples of total DNA were collected from culture infected with T7 phage and digested with a set of restriction endonucleases. Results were analyzed by agarose gel electrophoresis. In control cells transfected with an empty vector accumulation of phage DNA and disappearance of host DNA is visible at 30 min after addition of T7 phage at 30 C. In BREX-positive cells degradation of host DNA was significantly delayed and T7 DNA accumulation was not observed even after 3 hours of incubation with the virus. This may indicate that replication of viral genome was inhibited. To test, whether these results could be explained by inhibition of switching between early and middle/late gene classes we investigated transcription of T7 phage in BREX active cells by quantitative PCR with the use of external "tracer" RNA approach. Levels of mRNA's of T7 RNA-Polymerase (early gene), SSB (middle gene) and tail coat protein (late gene) were measured. The total level of viral transcription in BREX active cells was two orders of magnitude lower, comparing to control cells, but no specific shift in timing of genes expression was observed.

From our data we conclude that BREX system acts at early stages of viral infection. Since BREX does not affect phage adsorption, main purpose of the following experiments is to examine injection of viral DNA in host with BREX active cells.

The reported study was funded by RFBR according to the research project No. 16-34-00656 мол\_а.

#### **HANTAVIRUS N PROTEIN CO-LOCALIZES WITH RAB 5 PROTEIN OF THE EARLY ENDOSOME**

**Muyangwa M., Garanina E.E., Khaiboullina S.F., Rizvanov A.A.**

Kazan (Volga region) Federal University, Kazan, Russia

*musalwam@yahoo.co.uk*

Hantaviruses belong to the Bunyaviridae family. They have a negative sense, single stranded RNA genome. This genome consists of three segments designated small (S), medium (M) and large (L), which encode Nucleocapsid (N) protein, envelope glycoproteins (G1 and G2) and an RNA dependant RNA polymerase, respectively. Contact with infected animal waste results in Hantavirus infection. Depending on the virus strain, three infections are caused by hantaviruses; hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS), hantavirus cardiopulmonary syndrome (HCPS) and nephropathia epidemica (NE). The mortality rate for HFRS and HCPS exceed 10% and 60%, respectively.

Hantaviruses utilize intracellular traffic pathways for virus assembly and budding. One of the mechanisms used involve endosomes. Endosomes are membrane-delimited intracellular transport carriers.

In this study, we use 3 recombinant lentiviruses (LV) encoding the S segment of HTNV, PHV, and SNV hantaviruses constructed by us to study co-localization of the developed constructs with the early endosome *in vitro*. Recombinant LV was constructed by co-transfecting HEK293-FT cells with three plasmids; lentiviral plasmid based on the pLX303 vector encoding the S segment, psPAX2 (packaging plasmid) and pCMV-VSV-G (envelope plasmid).

Infection of A459 cells with the specific lentivirus construct (MOI=10) expressing N protein was conducted 48 hours after transfection with either DsRed Rab 5 DN or DsRed Rab 5WT plasmid. Cell monolayers were harvested 24, 48, 72 and 98 hours post infection for further analysis by immunocytochemistry and western blot. A polyclonal rabbit anti-ANDV antibody exerting cross reactivity with the produced viruses and a secondary fluorescent antibody (goat anti-rabbit Alexa Flour 488, Invitrogen) were used to visualize N protein. Imaging was conducted using a Carl Zeiss LSM 780 confocal microscope. Western blot was conducted using the polyclonal rabbit anti-ANDV antibody (exerting cross reactivity with the produced viruses) and goat anti-rabbit IgG-HRP antibodies (Santa cruz).

The level of N protein expression was twice as much in WT Rab 5 expressing cells than in DN Rab 5 expressing cells. These results show that hantavirus N protein expression depends on correct functioning of the early endosome. This was true for all the Hantavirus strains used.

#### **GREEN MICROALGA *DUNALIELLA SALINA* – PROMISING SOURCE OF ORGANIC GERMANIUM**

**Zosim L.S.<sup>1</sup>, Bivol C.M.<sup>2</sup>, Elenciuc D.I.<sup>3</sup>, Bafir L.M.<sup>2</sup>, Djur S.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Moldova State University, Chisinau, Republic of Moldova; <sup>2</sup>Institute of Microbiology and Biotechnology of ASM, Chisinau, Republic of Moldova; <sup>3</sup>University of the Academy of Sciences of Moldova, Chisinau, Republic of Moldova

*zosim\_liliana@yahoo.fr*

The conversion of germanium from toxic chemical compounds to germanium metabolised in the easily assimilated compounds by the human body using microorganisms as bio-transformers, is an alternative way to obtain effective remedies with anticancer effect. Previously results obtained in the "Ficobiotechnology" laboratory from the Moldova State University revealed the ability of *Spirulina* sp. to accumulate germanium in biomass at the cultivation in the presence of Ge(IV) compounds. In the specialized literature the studies about the influence of organic compounds of germanium on the accumulation of the metal in the biomass of microalga *Dunaliella salina* are missing. Thus, the cultivation of *D. salina* in the presence of some organic compounds of germanium in order to obtain biomass enriched with germanium and other bioactive substances, presents interest.

The object of study was the strain of microalgae *Dunaliella salina* CNM-AV-02, deposited in the National Collection of Nonpathogenic Microorganisms of the Institute of Microbiology and Biotechnology of ASM. The temperature of cultivation was 27-29°C. The cultivation was performed at 5000 lx and 3500 lx. As a source of germanium inorganic compound GeO<sub>2</sub> and the coordination compounds of Ge (IV) coded FM-30 in the concentrations of 15-30mg/L was used.

The results showed that in all experimental variants (the cultivation under normal lighting 3500lx and heavy lighting 5000lx), the content of germanium in biomass increased with the increase of the concentration of the compound in the cultivation medium of *D. salina*, reaching the maximal values at the concentration of 30 mg/L. The

highest content of the germanium was obtained at the supplementation of FM-30 compound, quantitative values ranging from 34mg/% -75mg/% at the cultivation of *D. salina* under normal lighting and from 40mg/% -100mg /% under intense illumination.

Thus, we concluded that the investigated compounds of the germanium can be used in biotechnology as regulators of growth and production of the biomass of *D. salina* with high content of germanium and other bioactive substances – promising source of the germanium-component products with potential anticancer and immunostimulating effects.

### ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРОБИОТИЧЕСКИХ КОРМОВЫХ ДОБАВОК НА МИКРОБИОЦЕНОЗ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ

Абдулжанова М.А., Кули Ж.Т., Каналбек Г.К., Усманова А.Д., Кистаубаева А.С., Жабакова А.Б.  
КазНУ им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан

malika\_81\_@mail.ru

В КазНУ им. аль-Фараби, на кафедре биотехнологии были получены экспериментальные образцы пробиотических кормовых добавок: СУБАЦИЛ-1 в виде лиофилизированной биомассы *Bacillus subtilis* P-2, содержащей  $9 \times 10^{12}$  спор в 1 г, и СУБАЦИЛ-2 - комбинированный кормовой пробиотик, включающий метаболиты *B. subtilis* P-2, иммобилизованные на подсолнечном шроте с добавлением гидролизата соевой муки. В ходе исследования было изучено влияние кормовых добавок СУБАЦИЛ-1 и СУБАЦИЛ-2 на: лактобациллы, обеспечивающие колонизационную резистентность, условно-патогенные энтеробактерии (УПЭ) рода *Proteus*, *Citrobacter*, *Enterobacter* и целлюлозолитические бактерии, которые играют одну из ведущих ролей в симбионтном пищеварении, поскольку корма содержат большое количество трудноперевариваемой клетчатки.

Опытная и контрольная группы включали по 20 цыплят. В течение технологического цикла выращивания - 41 день, с основным рационом цыплята-бройлеры получали кормовые добавки СУБАЦИЛ. Биомассу, содержащуюся в 1 флаконе СУБАЦИЛ-1 разводили в 30 л воды и выпаивали птицам в течение дня. Метаболитный пробиотик СУБАЦИЛ-2 в виде высушенного иммобилизованного порошка добавлялся в корм в количестве 1 г на 1 кг сухого корма.

Количество лактобактерий, высеванных из помета цыплят первой опытной группы в пределах контроля, то есть  $10^7$  КОЕ/г. При применении метаболитного пробиотика СУБАЦИЛ-2 их популяционный уровень возрастает в 10 раз. Содержание бактерий, разрушающих клетчатку (рода *Bacillus*), возросло стократно в 1-й опытной группе, получавших СУБАЦИЛ-1. Это означает, что вводимые в составе пробиотика бациллы успешно вегетируют в организме бройлеров. Титр УПЭ снизился на 2 порядка во второй опытной группе. Титр энтеробактерий по сравнению с контрольной группой при применении СУБАЦИЛ-1 снизился на порядок. Дело в том, что в организме птицы происходит переход в вегетативные формы покоящихся спор. Это сопровождается интенсивным продуцированием ферментов, антибиотических веществ, лизоцима и других биологически активных веществ и ингибированием этой группы микроорганизмов.

Таким образом, пробиотические кормовые добавки подавляют развитие условно-патогенной микрофлоры, представленной представителями семейства *Enterobacteriaceae*, стимулируют размножение целлюлозолитических бактерий в кишечнике, не изменяя темпов колонизации кишечника лактобактериями. Это означает, что используемые пробиотические кормовые добавки СУБАЦИЛ-1 и СУБАЦИЛ-2 позитивно влияют на микробиоценоз кишечника цыплят-бройлеров.

### ВЫДЕЛЕНИЕ НОВЫХ ИЗОЛЯТОВ ГРИБОВ АРБУСКУЛЯРНОЙ МИКОРИЗЫ И ИХ РАЗВИТИЕ В КОРНЯХ РАСТЕНИЙ

Абдурашитов С.Ф. Ошибка! Закладка не определена.  
ФГБУН НИИ сельского хозяйства Крыма, Симферополь, Россия

asuleyman83@rambler.ru

Арбускулярная микориза (АМ) – наиболее распространенная разновидность симбиоза растений и микроорганизмов, образована грибами из отдела *Glomeromycota*. Более 80 % видов изученных растений вступают в мутуалистические отношения с грибами АМ. Они широко представлены в почвах и являются связующим звеном между корнями растений и минеральными элементами их питания, особенно труднодоступных. Эта свойство позволяет применять их в агротехнологиях выращивания сельскохозяйственных культур. Различные виды грибов АМ или изоляты одного вида могут отличаться по эффективности взаимодействия с растениями. При этом выделенные в культуру микроорганизмы могут терять свои положительные свойства при применении их далеко от мест выделения, что объясняется малой приспособленностью микобионтов к условиям окружающей среды. В связи с этим поиск и изучение новых

эффективных изолятов для пополнения коллекции агрономически полезных организмов является важным направлением исследований.

Для выявления наиболее продуктивных пар (гриб-растение) использован метод, основанный на применении сосудов Леонардо для выделения ассоциативных микроорганизмов. Объектом выделения были различные почвы Крыма и Херсонской области. Вегетационные опыты проводили в условиях естественного освещения и поливали питательным раствором Хогланда.

Выделение изолятов АМ грибов показало, что микориза в фазу бобообразования развивалась по корням сои сорта Аннушка вверх из нестерильной части сосуда в стерильную в вариантах L4, L5, L6, L7, о чем свидетельствует небольшой уровень частоты встречаемости микоризной колонизации 2,5-29,5 %, при этом арбускулы просматривались в поле зрения единичные, а сформированных везикул не выявлено. Анализ количества спор в стерильной части используемых сосудов их не выявил, что возможно в данную фазу развития растений. При осмотре развития микоризы в корнях отмечено, что гриб не проникал из корней второго порядка в корни третьего. Это явление также наблюдается и при выращивании коллекционных культур микоризных грибов и при нормальных условиях выращивания в бинарной культуре. При последующем пересеве образцов L4, L5, L6, L7 с семенами сои и суданской травы колонизации корней грибами АМ не обнаружено. Это объясняется отсутствием запасующих органов гриба (везикул и спор) в инокуляционном материале из первого эксперимента.

Таким образом, выявлена колонизация грибами АМ корней сои в стерильной части сосудов Леонардо, но для сохранения выделенных изолятов и последующей инокуляции других растений этого недостаточно, что требует дополнительной проверки. Эксперимент будет продолжен в будущем.

### **СТИМУЛЯЦИЯ РОСТА И ПОВЫШЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ ГОРОХА ПРИ КОЛОНИЗАЦИИ АЭРОБНЫМИ МЕТИЛОБАКТЕРИЯМИ *METHYLOBACILLUS ARBOREUS* IVA**

**Агафонова Н.В.<sup>1</sup>, Доронина Н.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушино, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушино, Россия

*nadyagafonova@gmail.com*

Аэробные метилотрофные бактерии (метилобактерии), использующие метанол в качестве источника углерода и энергии, часто ассоциированы с растениями, поскольку метанол является естественным продуктом метаболизма растений. Исследование физиолого-биохимических основ фитосимбиоза метилобактерий актуально для разработки биотехнологий повышения продуктивности растений.

Цель работы – изучение влияния облигатного метилотрофа *Methylobacillus arboreus* Iva<sup>T</sup> (VKM В-2590<sup>T</sup>, CCUG 59684<sup>T</sup>, DSM 23628<sup>T</sup>) на рост, морфогенез и антиоксидантную защиту растений гороха (*Pisum sativum* L.) в опытах *in vitro*.

Показано, что при колонизации метилобактериями семян гороха на 10 сутки длина и масса филлосферы колонизированных (опытных) растений превышала контрольные (стерильные) в 2-3 раза, а длина и масса корней – в 2-4 раза. Также колонизированные растения гороха обладали большей устойчивостью к окислительному стрессу (обработка 5мкМ раствором параквата). Активности ферментов-антиоксидантов у опытных растений возросли: супероксиддисмутазы – в 2 раза, каталазы и пероксидазы – в 1,5 раза. Содержание пролина (протектора мембран) после стресса у контрольных растений не изменилось, у опытных возросло в 2 раза, что указывает на повышение устойчивости колонизированных растений к стрессу. Это подтверждалось также низким содержанием ключевого показателя повреждения клеточных мембран опытных растений – малонового диальдегида (в 1,6 раза ниже, чем в варианте со стерильными растениями).

Кроме того, колонизированные растения после стресса отличались более стабильной работой фотосинтетического аппарата. Так соотношения суммарного содержания хлорофиллов (*a+b*)/каротиноиды и хлорофиллов *a/b* в норме стабильно, но активно реагирует на изменения условий окружающей среды. У гороха, колонизированного метилобактериями, после окислительного стресса эти показатели практически не изменялись, у стерильных растений отмечали уменьшение соотношения хл (*a+b*)/каротиноиды в 3,5 раза, а хл *a/b* – почти в 1,5 раза.

Установлено, что фитосимбионт *Mb. arboreus* Iva<sup>T</sup> синтезирует фитогормоны – ауксины (6,6 мкг/мл) и соллюбилизирует нерастворимый Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (концентрация свободных фосфатов достигает 180 мкг/л).

Таким образом, метилобактерии *Mb. arboreus* Iva<sup>T</sup> синтезируют фитогормоны, обладают фосфатсоллюбилизирующей активностью, стимулируют рост и повышают стрессоустойчивость растений гороха.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 16-04-00381\_a.

## ПРОБИОТИЧЕСКИЕ ЛАКТОБАЦИЛЛЫ НЕ ЯВЛЯЮТСЯ ИСТОЧНИКОМ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ГЕНОВ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ В МИКРОБИОМЕ ЧЕЛОВЕКА

Анисимова Е.А.<sup>1</sup>, Бруслик Н.Л.<sup>1</sup>, Ахатова Д.Р.<sup>1</sup>, Исмаилова Р.К.<sup>1</sup>,  
Тойменцева А.А.<sup>1</sup>, Яруллина Д.Р.<sup>1</sup>

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

*elizaveta-real@mai.ru*

Важным критерием при отборе пробиотических штаммов является наличие у них устойчивости к антибиотикам - только устойчивые к антибактериальным препаратам (АБП) бактерии можно совмещать с антимикробной терапией при лечении кишечных инфекций или применять для профилактики антибиотикоассоциированной диареи. Однако, существует риск распространения генов антибиотикорезистентности (АР) в микробиоме человека с помощью конъюгативных плазмид и транспозонов, что противоречит требованиям лекарственной безопасности пробиотиков. Целью данной работы является выявление и характеристика потенциально мобильных генов устойчивости к антибиотикам у пробиотических штаммов рода *Lactobacillus*.

В данной работе из кисломолочных продуктов, пробиотических препаратов и фекалий человека было выделено 34 штамма лактобацилл и методом MALDI TOF масс-спектрометрии установлена их видовая принадлежность. Диско-диффузионным методом была оценена резистентность исследуемых лактобацилл к АБП девяти различных классов. Обнаружена высокая устойчивость лактобацилл к ципрофлоксацину, ванкомицину и к аминогликозидам. У 1 штамма установлена резистентность к эритромицину (Erm) и у 5 штаммов - к тетрациклину (Tet). Поскольку гены устойчивости к Erm и Tet подвержены горизонтальному транспорту, в геномах устойчивых к данным антибиотикам бактерий с помощью секвенирования амплифицированных фрагментов ДНК было проверено наличие 15 генов, кодирующих устойчивость к Erm и Tet. В результате были обнаружены гены *ermB* и *ermA* в геномной ДНК и ряд генов (*tetM*, *tetK*, *ermA*, *ermC*, *mefA*) - в плазмидной ДНК. У некоторых штаммов, не проявляющих устойчивость к Erm, выявлены молчание гены *ermA*, *ermC* и *mefA*, также у одного штамма обнаружен ген *aph(3')-III*, детерминирующий устойчивость к аминогликозидам. Возможность горизонтального транспорта генов АР от лактобацилл к условно-патогенным бактериям гастроинтестинальной микрофлоры была оценена с помощью трансформации чувствительного к Tet штамма *E. coli* геномной и плазмидной ДНК лактобацилл, а также при совместном культивировании бактерий в условиях, имитирующих кишечник человека. В обоих случаях у *E. coli* не происходило приобретения генетических детерминант устойчивости к АБП. Проведенное исследование хотя и не снимает полностью вопрос о риске распространения в микробиоме кишечника человека генов АР от пробиотических микроорганизмов, но убедительно свидетельствует в пользу безопасности применения рассмотренных лактобацилл в контексте проблематики антибиотикорезистентности.

## ПОИСК ГЕНЕТИЧЕСКИХ ДЕТЕРМИНАНТ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ СИМБИОТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ПРИРОДНЫХ ШТАММОВ *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM* BV. *VICIAE*

Афонин А. М.<sup>1,2</sup>, Сулима А. С.<sup>1</sup>, Ахтемова Г. А.<sup>1</sup>, Жуков В. А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*Afoninalexeym@gmail.com*

Растения семейства Бобовые, обладают способностью формировать симбиотические взаимоотношения с бактериями группы ризобий. Специфичность взаимодействий при формировании симбиозов обеспечивается спектром сигналов бактерии и набором рецепторов хозяина. За восприятие одной из групп сигналов – Nod-факторов – отвечает набор LysM-подобных рецепторных киназ. Одним из таких рецепторов является продукт гена *Sym37* гороха посевного, отвечающий за распознавание жирнокислотного остатка Nod-фактора. Было показано, что растения линии K24 с мутацией в киназном домене гена *Sym37*, практически не способны к клубенькообразованию, а горох линии RisNod4, у которого мутация в гене *Sym37* приводит к изменению структуры рецепторного участка может образовывать клубеньки только при инокуляции штаммом *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* A1. Штамм A1 способен образовывать клубеньки со многими линиями гороха, в том числе с «афганскими», требующими ацетилирования редуцирующего конца молекулы Nod-фактора.

Целью данного исследования было 1) охарактеризовать геном штамма A1 и сравнить его со штаммами, не способными образовывать клубеньки с растениями линии RisNod4, для выделения детерминант, обеспечивающих повышенную эффективность данного штамма. 2) Попытаться выделить схожий штамм из дикой среды для дальнейшей работы по поиску детерминант.

После секвенирования на Illumina HiSeq2000 и сборки геномов были охарактеризованы геномы трех штаммов бактерий, используемых в лаборатории: A1, TOM и RCAM1026. После анализа геномов выяснилось, что штамм A1 имеет не менее 90 предсказанных уникальных генов, отсутствующих в геноме штаммов TOM, RCAM1026 и 3841. При этом штамм A1 и RCAM1026 показали значительную степень родства. Роль уникальных генов штамма A1 и их связь с проявлением симбиотического фенотипа будет изучена в дальнейшем.

Был проведен эксперимент по выращиванию растений линий RisNod4, K24 и «афганских» разновидностей в почвах различного происхождения, без специальной инокуляции клубеньковыми бактериями. Из трех различных почв таким образом было выделено 10 штаммов, способных образовывать клубеньки как с растениями линии RisNod4, так и K24, и 15 штаммов, способных образовывать клубеньки с растениями «афганских» разновидностей. В дальнейшем планируется анализ выделенных штаммов с учетом уникальных характеристик, выявленных в геноме штамма A1, для получения более полной картины о механизмах, используемых ризобиями для успешного установления симбиоза с растениями гороха.

ИРНФ (14-24-00135 и 16-16-00118) и РФФИ (14-04-01442, 15-29-02737 и 16-04-01859).

### **ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА УСТОЙЧИВОСТЬ *ESCHERICHIA COLI* К ПЕРОКСИДНОМУ СТРЕССУ**

**Безматерных К.В., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н.**  
ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия  
*hydrargyrum@iegm.ru*

Полифенолы, будучи широко распространенными компонентами вина, фруктов и овощей, являются одними из биологически активных соединений, синтезируемых растениями, которые проявляют высокую антиоксидантную, противовоспалительную, антиканцерогенную, кардиопротекторную и др. активности. Несмотря на многочисленные доказательства положительного влияния полифенолов на здоровье человека, молекулярные механизмы их воздействия до сих пор остаются неясными.

В данной работе была исследована антиоксидантная активность (АОА) полифенолов кверцетина (1, 12, 20, 40 мкг/мл) и ресвератрола (1, 12, 40, 100 мкг/мл), биодобавки «Трансверол» (1, 40, 100, 160 мкг/мл), экстракта кожицы винограда сорта Кишмиш (0.1, 1, 2, 4 мг/мл) и красного вина (0.1, 1.1, 2.1, 4.2 мг/мл) на бактерии *Escherichia coli* BW25113 в контроле и в условиях окислительного стресса, вызванного перекисью водорода. Для выявления зависимости «доза-эффект» в опытах с бактериями, исследования проводили с несколькими концентрациями изучаемых субстанций.

Внесение 2 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в среду культивирования сопровождалось остановкой удельной скорости роста ( $\mu$ ) бактерий, возобновление роста происходило при снижении концентрации пероксида в среде под действием внутриклеточных каталаз. Предобработка бактерий высокими концентрациями субстанций вызывала снижение  $\mu$  от 9–21%, в случае кверцетина, ресвератрола и трансверола, до 28–37% при обработке экстрактами вина и кожицы винограда. Этот эффект может быть связан с ингибирующим действием полифенолов, которые в экстрактах вина и кожицы содержались в большем количестве, чем те, которые достигались в культурах бактерий при введении чистых ресвератрола и кверцетина. Все вещества, кроме ресвератрола, оказывали защитное действие на рост *E. coli*, обработанной H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, причем степень защиты возрастала с увеличением концентрации исследуемых веществ. Индекс АОА изменялся в диапазоне от 1.2–2.2 для трансверола и кверцетина до 1.6–4.2 для экстракта кожицы и вина. Примечательно, что ресвератрол не только не защищал бактерии от бактериостатического действия H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, но и усиливал токсичность оксиданта. Этот эффект может быть связан с ингибированием активности каталазы, как это было показано для лимфоцитов млекопитающих. Таким образом, исследуемые субстанции в различной степени проявляли модулирующее влияние на рост *E. coli*. Кверцетин, трансверол, экстракт виноградной кожицы и вино проявляли адаптогенное влияние, повышая устойчивость бактерий к перекиси, в то время как ресвератрол усиливал ее повреждающее действие. Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ № 14-04-96031, 16-04-00762.

### **ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ТЕМПЕРАТУР НА ПРОЦЕСС ФОРМИРОВАНИЯ БИОПЛЁНКИ *LISTERIA MONOCYTOGENES* В АССОЦИАЦИИ С САПРОТРОФНЫМИ БАКТЕРИЯМИ**

**Бердасова А.С.<sup>1</sup>, Бузолева Л.С.<sup>1,2</sup>, Богатыренко Е.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> ФГАОУ ВПО Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия; <sup>2</sup> ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова, Владивосток, Россия

*berdasova\_as@mail.ru*

Для изучения влияния различных температур на процесс формирования биоплёнки *L. monocytogenes* в ассоциации с сапротрофными бактериями была определена способность



штаммов *L. monocytogenes* к биоплёнкообразованию в монокультуре при температуре 37°C. В результате проведенных исследований, было установлено, что у разных штаммов одного вида *L. monocytogenes* была обнаружена неодинаковая способность к биоплёнкообразованию. Так, можно было выделить штаммы со средне-, сильно- и слабо образующими способностями к образованию биоплёнки. Штамм 5642/6 обладал высокой способностью к образованию биоплёнки (оптическая плотность составила 0,284), а штамм 9156/2 образовывал биоплёнку слабо (оптическая плотность равна 0,129).

Для дальнейшего изучения способности *L. monocytogenes* образовывать биоплёнки совместно с сапротрофными микроорганизмами были взяты штаммы *L. monocytogenes*, с более выраженными биопленкообразующими свойствами, а именно 5642/6 и 9156/2. В качестве тест-культур были использованы 16 изолятов сапротрофных бактерий, ассоциированных с *L. monocytogenes* на различных продуктах питания. Опыты для определения действия различных температур на биоплёнкообразующие свойства листерий в ассоциации с сапротрофами проводили при трех температурах (5 °С, 22 °С и 37 °С).

Всего было исследовано 66 вариантов биоплёнкообразования на двух штаммах *L. monocytogenes*: 5642/6, 9156/2 и 16 изолятах сапротрофных бактерий. Показано, что биопленкообразующими свойствами обладали, как листерии, так и сапротрофы. При этом стимулирующим эффектом биопленкообразования обладали 59,1% штаммов.

Установлено, что температура оказывает влияние на биопленкообразующие свойства ассоциации *L. monocytogenes* и сапротрофов, так, большее число биопленкостимулирующих вариантов было обнаружено при температуре равной 22 °С.

Максимальная стимулирующая способность биопленкообразования обнаружена у *L. monocytogenes* 9156/2 при 37 °С в ассоциации с сапротрофными штаммами. Причём данный штамм *L. monocytogenes* слабо образует биоплёнку в монокультуре.

#### СРАВНЕНИЕ МИКРОБИОЦЕНОЗОВ КИШЕЧНИКА У ЗДОРОВЫХ И БОЛЬНЫХ РЫБ НА ПРИМЕРЕ АМУРСКОГО ОСЕТРА *ACIPENSER SCHRENCKII* И КАЛУГИ *HUSO DAURICUS*

Бойко А.Н.<sup>1,2</sup>, Богатыренко Е.А.<sup>1</sup>, Узолева Л.С.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> ФГАОУ ВПО Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия;

<sup>2</sup> ФГБУН Биолого-почвенный институт ДВО РАН, Владивосток, Россия;

<sup>3</sup> ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова, Владивосток, Россия.

nastyas28.92@mail.ru

Искусственные условия воспроизводства рыб существенно отличаются от природной среды. Такие различия могут серьезно влиять на состояние рыб, в том числе на состояние их нормальной микрофлоры. В литературе отсутствуют данные по изучению изменений состава нормальной микрофлоры осетровых рыб под действием патологических процессов в организме хозяина.

В связи с этим, целью работы было изучить и сравнить состав бактериальных сообществ кишечника здоровых и больных особей амурского осетра *Acipenser schrenckii* и калуги *Huso dauricus*, выращенных в искусственных условиях.

Объектами исследования послужили здоровые особи калуги *Huso dauricus* и амурского осетра *Acipenser schrenckii*, а также особи калуги с признаками патологических процессов, также исследовался микробный состав воды из мест разведения осетровых.

Анализ полученных данных показал, что во всех объектах исследования преобладали представители семейства *Enterobacteriaceae* - роды *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Escherihia*, *Edwardsiella* и представители семейства *Moraxellaceae* – роды *Acinetobacter*, *Moraxella*. В воде и здоровых рыбах также были многочисленны представители родов *Acinetobacter*, *Flavobacterium* и *Aeromonas*.

Бактериальное сообщество воды характеризовалось более богатым таксономическим разнообразием по сравнению с бактериальными сообществами кишечника рыб. При этом все группы микроорганизмов, выделенные из кишечника рыб, были обнаружены и в воде, что свидетельствует о том, что микрофлора рыб формируется за счет микрофлоры воды.

В кишечнике амурского осетра было отмечено присутствие тех же групп микроорганизмов, что и в кишечнике здоровой калуги, а также бактерий, отнесенных к родам *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Citrobacter*. Следовательно, несмотря на одинаковые возраст, условия содержания и кормления гидробионтов, состав кишечной микрофлоры этих видов рыб имеет различия, что может быть связано с особенностями организмов животных разных таксонов.

Из состава кишечной микрофлоры больных особей исчезали представители родов *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Edwardsiella*, *Moraxella*. Полностью отсутствуют кокковые формы.

Таким образом, показано, что снижение численности и уменьшение таксономического разнообразия бактерий в кишечнике осетровых рыб свидетельствует о неблагоприятном физиологическом состоянии макроорганизмов. Данные признаки могут указывать на появление в среде возбудителей инфекционных

заболеваний до массового распространения патологического процесса, а также могут быть использованы для оценки влияния любых других стрессовых факторов на животных.

### **ИММУНИЗАЦИЯ ДОМАШНИХ УТОК ЖИВЫМ НЕПАТОГЕННЫМ ВИРУСОМ ГРИППА H5N3 ПРЕДОТВРАЩАЕТ ЦИРКУЛЯЦИЮ ВЫСОКОПАТОГЕННОГО ВИРУСА H5N1**

**Боравлева Е.Ю.<sup>1</sup>, Ломакина Н.Ф.<sup>1</sup>, Гордейчук И.В.<sup>1</sup>, Луницын А.В.<sup>2</sup>, Гамбарян А.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУ Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН, Москва, Россия; <sup>2</sup> ГНУ ВНИИ ветеринарной вирусологии и микробиологии Россельхозакадемии, пос. Вольгинский, Владимирская обл., Россия.

*elisa 13@yandex.ru*

Основными хозяевами вирусов гриппа А являются дикie водоплавающие птицы, в первую очередь – утиные. В утках вирус размножается в кишечнике, и передаётся преимущественно фекально-оральным путём через воду. В редких случаях вирус адаптируется к новому хозяину и продолжает циркулировать в нём, образуя стабильную эволюционную линию. Вирусы гриппа диких птиц тысячелетиями подвергались стабилизирующему естественному отбору по признаку авирулентности. Лишь в противоестественных условиях птицеводческих ферм с круглогодичной скученностью птицы повышение вирулентности перестаёт быть препятствием для распространения вируса. Адаптация к курам, как правило, сопровождается усилением патогенности.

Несмотря на все усилия контролирующих организаций и научной общественности вирус H5N1 остаётся важнейшей проблемой.

Стратегия борьбы, заключающаяся в полном искоренении домашних птиц в районах вспышек и превентивная вакцинация птицы инактивированными вакцинами в зонах риска оказывается неэффективной. Инактивированные вакцины защищают птиц, но плохо препятствуют распространению вируса.

Основным хозяином и главными жертвами высокопатогенных H5N1 вирусов являются куры. Но кто же переносит вирус от фермы к ферме?

Представляется вероятным, что эффективнее всего работает цепочка дикie утки – домашние утки – куры. Проблема в том, что H5N1 вирус, смертельный для кур, вызывает у уток бессимптомную инфекцию, и поэтому занос вируса будет оставаться незамеченным до тех пор, пока не начнётся падёж кур. Прерывание цепочки на стадии домашних уток могло бы затормозить распространение вируса.

Мы исследовали возможность использования апатогенного вируса гриппа дикой утки A/duck/Moscow/4182/2010 (d/4182) в качестве живой вакцины, препятствующей циркуляции высокопатогенных вирусов H5N1 между утками и курами. При заражении уток высокопатогенным вирусом A/chicken/Kurgan/3/2005 (H5N1), они не болеют, но выделяют с фекалиями инфекционный вирус. Мы продемонстрировали, что цыплята, подсаженные к таким уткам, заражаются и гибнут. Если же утки были предварительно вакцинированы вирусом d/4182, то при последующем заражении вирусом H5N1 они не выделяют вирус в окружающую среду и цыплята не инфицируются. Вирус d/4182 вызывает у уток хороший иммунный ответ при добавлении низких доз вируса в поилки, очевидно вследствие того, что утки являются природным хозяином данного вируса. Таким образом, вирус A/duck/Moscow/4182/2010 способен подавлять циркуляцию высокопатогенных H5N1 при однократной оральной иммунизации уток, и может рассматриваться как дешёвый и удобный в использовании кандидат в вакцинный штамм.

### **СВОЙСТВА И РОЛЬ ФОСФОТРАНСАЦЕТИЛАЗЫ ИЗ *M. ALCALIPHILUM* 20Z**

**Бочарова К.А., Розова О.Н., Бут С.Ю., Хмеленина В.Н., Троценко Ю.А.**

ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов РАН, Пушино, Россия

*ksenia.alpha4160@mail.ru*

Метан – существенный компонент глобального цикла углерода и один из наиболее опасных парниковых газов. Являясь доминирующей составной частью природного газа и возобновляемого биогаза, метан считается перспективным источником углерода для продукции полезных соединений с использованием аэробных метанотрофов и их ферментов. Галокалотолерантный метанотроф *Methylomicrobium alcaliphilum* 20Z является одним из перспективных продуцентов полезных соединений из метана и модельным организмом при изучении специфического метаболизма метанотрофов. Штамм ассимилирует углерод метана на уровне формальдегида через рибулозомонофосфатный путь с образованием в качестве первичных продуктов фосфосахаров. Недавно у метанотрофов с РМФ-циклом обнаружены ксилулозо-5-фосфат/фруктозо-6-фосфат фосфокетолаза и ацетаткиназа, коэкспрессия которых предполагает функционирование у *M. alcaliphilum* 20Z третьего, фосфокетолазного, пути распада фосфосахаров.

Цель данной работы – изучение свойств и роли фосфотрансацетилазы (ЕС 2.3.1.8), кодируемой геном *pta* у *M. alcaliphilum* 20Z.

Гомогенный препарат с гексагистидинами на С-конце был получен клонированием и гетерологичной экспрессией гена *pta* (MALCv4\_2342) в *Escherichia coli* и очисткой с помощью аффинной металл-хелатной хроматографии.

Фермент активен в широком диапазоне pH 6,5-9,0 с максимальной активностью при pH 8,0 и при температуре 50°C. Поскольку *M. alcaliphilum* 20Z - мезофил, свойства фермента изучали при 30°C. Кривые насыщения фермента субстратами в прямой и обратной реакциях подчинялись уравнению Михаэлиса-Ментен. Были определены значения  $K_m$  каж и  $V_{max}$  для субстратов реакции:  $V_{max}$  в реакции образования ацетил-КоА в 4,5 раза выше таковой в направлении образования ацетилфосфата. Однако фермент работает с ацетил-КоА в 10 раз более эффективно с ацетил-КоА ( $V_{max}/K_m = 1042$ ) по сравнению с ацетилфосфатом ( $V_{max}/K_m = 109$ ). Какие-либо аллостерические регуляторы фермента не выявлены. Функционирование фосфотрансацетилазы *in vivo* зависит исключительно от концентраций в клетках субстратов. Предположено, что фосфотрансацетилаза у *M. alcaliphilum* 20Z *in vivo* предпочтительно функционирует в направлении синтеза ацетилфосфата из ацетил-КоА, при этом основным источником ацетил-КоА для данной реакции является окислительное декарбоксилирование пирувата. Фосфотрансацетилаза *M. alcaliphilum* 20Z функционирует сопряженно с пируватдегидрогеназным комплексом и является компонентом метаболического пути, осуществляющего ферментацию формальдегида до ацетата с образованием дополнительной метаболической энергии.

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА КИНЕТИКИ ВИРУЛЕНТНОГО И ВАКЦИННОГО ШТАММОВ ВИРУСА АЧС

Бурмакина Г.С.<sup>1</sup>, Титов И.А.<sup>1</sup>, Мима К.А.<sup>1</sup>, Малоголовкин А.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ГНУ ВНИИ ветеринарной вирусологии и микробиологии Россельхозакадемии, пос. Вольгинский, Владимирская обл., Россия

*malogolovkin@inbox.ru*

Африканская чума свиней (АЧС) — вирусная особо опасная болезнь свиней и кабанов, характеризующаяся лихорадкой, геморрагическим диатезом, воспалительными и некродистрофическими изменениями паренхиматозных органов. В России вспышки АЧС регистрируют с 2007 года. За этот промежуток времени произошло формирование эндемичных по АЧС районов, вследствие распространения вируса среди диких кабанов. Большой экономический ущерб и отсутствие средств лечения и профилактики обуславливают актуальность изучения возбудителя данной болезни.

Возможность специфической защиты от АЧС была показана многократными исследованиями с применением «классических» аттенуированных вариантов вируса. Однако несовершенство перекрестной защиты от гетерологичных штаммов вируса и потенциальная опасность вакцинных препаратов не позволили им найти широкое применение.

Целью данной работы являлось сравнительная оценка кинетики вирулентного и вакцинного штаммов вируса АЧС и возможность их дифференциации у инфицированных/иммунизированных животных.

У животных (n=6) иммунизированных вакцинным штаммом АЧС КК-262 (2 сероиммунотип) отмечали кратковременное повышение температуры на 7 день после заражения, что коррелировало с обнаружением вируса в крови с 7 суток на протяжении 42 дней эксперимента. У животных (n=6) инфицированных вирулентным штаммом вируса АЧС (К-49, 2 сероиммунотип) уровень вируса в крови на 5 день после заражения составлял  $4,07-7,42E+07$  копий вирусной ДНК, что значительно превосходило показатели для иммунизированной группы. Инфицированные животные были умерщвлены гуманным способом на 7 день после заражения.

Иммунизированная группа животных была заражена (на 42 день после вакцинации) вирулентным штаммом АЧС К-49 в дозе 100 ГАЕ. Согласно результатам ПЦР в режиме реального времени и выделения вируса на культуре клеток костного мозга свиней, вирус в крови удалось обнаружить только у двух животных в группе на 13 и 27 день после заражения.

Для идентификации выделенного вируса использовали амплификацию переменных участков генома вируса АЧС (B602L, MGF360/530), отличающихся по длине у вирулентного и аттенуированного штаммов вируса АЧС. Было установлено, что детектируемый в крови вирус является вирулентным штаммом К-49.

Таким образом, было продемонстрировано: существенное отличие в течение болезни и кинетики вируса в крови у инфицированных/иммунизированных животных, возможность дифференциации вакцинных и вирулентных штаммов вируса АЧС путем амплификации переменных фрагментов генома.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Гранта Президента РФ МК-6875.2015.4 и Гранта РНФ №16-16-00090

## ВЫЖИВАЕМОСТЬ И АНТИМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА СТРЕПТОМИЦЕТОВ ПОСЛЕ ЛИОФИЛИЗАЦИИ С РАЗНЫМИ ЗАЩИТНЫМИ СРЕДАМИ

Бырса М.Н.

Институт микробиологии и биотехнологии АНМ, Кишинев, Республика Молдова

mellon23@yandex.ru

Актиномицеты рода *Streptomyces* играют важную роль, как в природном сообществе, так и в разных отраслях, являясь продуцентами биологически активных веществ.

Хранение штаммов рода *Streptomyces* периодическими пересевами приводит к постепенному снижению активности, а хранение под минеральным маслом – к инфицированию культуры. Поэтому, самым оптимальным вариантом хранения является лиофилизация.

Объектами исследований явились штаммы: *Streptomyces canosus* CNMN-Ac-02; *S. canosus* CNMN-Ac-03; *S. canosus* CNMN-Ac-04; *S. levoris* CNMN-Ac-01; *S. levoris* var. k-1; *S. levoris* var. 4; *S. massasporeus* CNMN-Ac-06; *S. massasporeus* CNMN-Ac-07; *S. massasporeus* CNMN-Ac-08.

Для лиофилизации были использованы следующие защитные среды: обезжиренное молоко; обезжиренное молоко + глюкоза 7 %; желатин 1 % + сахароза 10 %; желатин 2,5 % + сахароза 7,5 %; желатин 2,5 % + глюкоза 7,5 %. Регидратацию проводили дистиллированной водой, жидкой минеральной средой Чапека и жидкой минеральной средой Дюлоне.

Были использованы следующие режимы заморозки перед сублимацией – -20°C, -50°C и -80°C.

Антимикробная активность определялась методом агаровых блоков.

Опыты показали, что выживаемость у всех трех штаммов *S. canosus* составила от 67 до 91 %. У штаммов *S. levoris* выживаемость варьировала от 64 до 71 %, а у *S. massasporeus* от 69 до 82 %. Следует также отметить, что в большинстве случаев при использовании в качестве регидранта солевых растворов, выживаемость повышается до 5 % по сравнению с вариантом дистиллированной воды.

Замечено, что при снижении температуры выживаемость также постепенно снижается. Так, при -20°C выживаемость составила 75-99 %, -50°C – 75-90 %, при -80°C – 53-96 %. Вероятно, надо учитывать изменения культуральных свойств штаммов, что негативно может сказаться на их активности, несмотря на высокую выживаемость.

Результаты определения антимикробной активности показали, что штаммы и варианты *S. canosus* и *S. levoris* не теряют антибактериальных свойств после лиофилизации, только у *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 она снижается на 30 % по отношению к *Erwinia carotovora* 8982.

Антифунгальная активность у всех штаммов, осталась неизменной, кроме *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, у которого она увеличилась по отношению к *Fusarium oxysporum* (на 20 %). Эти результаты указывают, скорее всего, на изменения в составе популяции культуры.

Таким образом, проведенные исследования показали, что для каждого штамма в отдельности необходимо подбирать благоприятные условия лиофилизации.

## КОЛЛЕКЦИЯ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ БАКТЕРИЙ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM L.*)

Васильева Е.Н.<sup>1</sup>, Афонин А.М.<sup>1,2</sup>, Ахтемова Г.А.<sup>2</sup>, Жуков В.А.<sup>2</sup>, Борисов Ю.А.<sup>2</sup>, Тихонович И.А.<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

grayman616@gmail.com

В природе достаточно широко распространены растительно-микробные взаимодействия, которые представлены как нейтральными, так и мутуалистическими взаимоотношениями. Большинство микроорганизмов, населяющих внутреннюю среду растений (эндосферу), образуют растительно-микробные симбиозы. К ним относятся бобово-ризобийный и микоризный симбиозы, они наиболее изучены. В последнее время все большее внимание стали уделять изучению растительных эндомикробиомов. К ним относятся эндофиты - микроорганизмы-эндосимбионты растительных организмов, в нормальных условиях не причиняющие вреда развитию и функционированию хозяина, а во многих случаях играющие важную положительную роль в жизненных процессах растения. Эндофиты способны влиять на рост растения, улучшать снабжение необходимыми веществами, а также повышать устойчивость хозяина к различным факторам биотического и абиотического стрессов.

Цель работы: создать коллекцию эндофитных бактерий гороха посевного (*Pisum sativum L.*).

Эндофитные бактерии выделяли из стеблей, листьев и семян гороха посевного (*Pisum sativum L.*), изучали коммерческий сорт «Триумф», селекция которого велась на повышение эффективности симбиотической азотфиксации.

Органы растений предварительно стерилизовали с помощью 70% спирта и 5% гипохлорита натрия с последующим высевом на агаризованные питательные среды TSA, 1/20 TSA.

Из листьев и стеблей было выделено 179 штаммов эндофитных бактерий и 65 штаммов из семян гороха посевного линии «Триумф».

Штаммы бактерий, выделенные из семян гороха идентифицировали путем секвенирования с помощью универсальных праймеров последовательности гена 16S рРНК, включающей участки V1-V9.

Культивируемые штаммы эндофитных бактерий гороха представлены 8 родами: *Bacillus sp.* (доминирующий), *Stenotrophomonas sp.*, *Microbacterium sp.*, *Paenibacillus sp.*, *Kocuria sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Micrococcus sp.*, *Actinobacterium sp.*

В настоящее время в лаборатории создана и поддерживается коллекция бактериальных эндофитов, выделенных из разных частей гороха посевного (*Pisum sativum L.*). В дальнейшем предполагается идентифицировать все выделенные штаммы эндофитов и выявить наиболее агрономически-полезные.

Исследование поддержано грантами РФФИ (14-24-00135 и 16-16-00118) и РФФИ (14-04-01442, 15-29-02737 и 16-04-01859).

### ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ГАЛОТОЛЕРАНТНЫХ БАКТЕРИЙ РОДА *ARTHROBACTER*

Гагарских О.Н.<sup>1</sup>, Ястребова О.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

*gagarskih.olga@yandex.ru*

На территории Пермского края находится одно из крупнейших месторождений калийно-магниевых и натриевых солей (Верхнекамское месторождение, ВМС). В отходах соледобывающих предприятий ПАО «Уралкалий» присутствуют стойкие органические загрязнители, обладающие устойчивостью к внешним воздействиям и канцерогенными свойствами. Бактерии рода *Arthrobacter* являются типичными представителями микрофлоры почвенных экосистем и способны к разложению ряда природных ароматических, алифатических соединений и ксенобиотиков, поступающих в почву в результате промышленной деятельности человека.

Из рабочей коллекции микроорганизмов Лаборатории молекулярной микробиологии и биотехнологии Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН для проведения исследований было отобрано два штамма *Arthrobacter* spp. SF27 и DF14, способных к деструкции ряда моно- и полиароматических углеводов, в том числе *орто*-фталата, нафталина, фенантрена.

Изучены параметры роста штамма *Arthrobacter* sp. SF27 в минеральной среде с *орто*-фталатом и нафталином в качестве субстратов при разной концентрации NaCl. При выращивании штамма SF27 на *орто*-фталате, повышение концентрации NaCl в среде культивирования с 0 до 5 % приводило к увеличению подготовительной фазы роста (15 – 49 ч), однако максимальная удельная скорость роста и максимальное значение оптической плотности культуры снижались незначительно. Рост штамма на нафталине при повышении концентрации NaCl в среде до 5 % сопровождался увеличением подготовительной фазы роста (18 - 46 ч) и снижением максимальной удельной скорости роста, максимальное значение оптической плотности культуры оставалось на уровне контроля.

Методом пульс-электрофореза в клетках исследуемых штаммов *Arthrobacter* spp. SF27 и DF14 обнаружены плазмиды размером 360 и 500 т.п.н. соответственно. Методом ПЦР у данных штаммов были обнаружены *narAa*- и *phtB*-гены, кодирующие  $\alpha$ -субъединицу нафталин диоксигеназы и фталат-3,4-дегидрогеназу (ферменты начального этапа разложения нафталина и *орто*-фталата).

Таким образом, галотолерантные штаммы *Arthrobacter* spp. SF27 и DF14 способны к эффективной деструкции ароматических углеводов в условиях повышенного засоления среды и являются перспективными для разработки биотехнологических методов очистки загрязненных/засоленных объектов окружающей среды.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-34-01009 мол\_а.

### АБОРИГЕННЫЕ НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИЕ МИКРООРГАНИЗМЫ ИЗ ЗАЛЕЖЕЙ НЕФТЕЙ БАШКИРСКОГО ЯРУСА

Галлямова С.Р.<sup>1</sup>, Морозов Н.В.<sup>1</sup>

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

*galliamova@mail.ru*

Из призабойных зон нефтяных скважин Ерыклинского, Мало-Титовского, Ивинского и Шереметьевского месторождений (Республика Татарстан, зона Башкирского яруса) выделены 35 видов нефтеоокисляющих бактерий. Путем неоднократных манипуляций и изучения физиолого-биохимических свойств, а также определения активности биодеструкции ими различных фракций нефти (бензина,

керосина, солярового и трансформаторного масла, тяжелых нефтей с удельной плотностью от 0,91 до 0,94 и динамической вязкостью в пределах 20,2-22,8 мПа\*с) идентифицировано 6 изолятов. Они отнесены к родам: *Bacillus* (3 вида), *Brevundimonas* (2 вида), *Ochrobactrum* (1 вид) (остальные виды как менее эффективные в окислении нефти и нефтепродуктов забракованы).

По морфологическим свойствам изученные виды представлены палочковидными формами, грамположительны. У них хорошо выражена протеазная, оксидазная, каталазная и уреазная активность. Интервал температуры развития колеблется от 12 до 30 °С, активно растут при pH от 5 до 10. При окислении нефти pH среды близка к 4-6. Испытания окисления тяжелых нефтей выявило, что идентифицированные штаммы обладают высокой эмульгирующей и сурфактантной активностью. Это позволяет рассматривать их как потенциальные виды нефтеокисляющих бактерий для перевода вязких нефтей в легкотекучие углеводороды. Все шесть штаммов совместимы между собой, не зоо- и фитопатогенны и подлежат объединению как производственный консорциум для дальнейшего применения в решении практических задач, связанных с повышением нефтеотдачи пластов тяжелых нефтей и управляемой утилизации нефтяных загрязнений в воде и почве, а также в технологических стоках различных отраслей промышленности, сельского хозяйства и быта.

### ПЦР-СКРИНИНГ ГЕНОВ ЭНТЕРОТОКСИНОВ СТАФИЛОКОККОВ В МОЛОКЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Гарцева А.С.<sup>1,2</sup>, Фурсова К.К.<sup>1,3</sup>, Лоскутова И.В.<sup>1,2,3</sup>, Щанникова М.П.<sup>1,2,3</sup>, Артемьева О.А.<sup>3</sup>,  
Никанова Д.А.<sup>3</sup>, Виноградова И.В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Филиал ФГБУН Института биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия; <sup>3</sup>ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства им. академика Л.К. Эрнста, п. Дубровицы, Московская обл., Россия

*sanchoy713@gmail.com*

Мастит у крупного рогатого скота (КРС) - распространенное инфекционное заболевание, поражающее паренхиму и строму молочной железы. Наиболее частым этиологическим патогеном, вызывающим мастит, являются бактерии *Staphylococcus aureus*. Токсигенные штаммы стафилококков могут продуцировать более 20 различных энтеротоксинов и лишь немногие из них были подробно исследованы. Стафилококковые энтеротоксины являются суперантигенами, способными активировать Т-лимфоциты и антиген-представляющие клетки. Вследствие этого происходит гиперпродукция воспалительных цитокинов, которые оказывают токсическое действие на организм КРС. Наличие бактериальных энтеротоксинов может влиять на иммунную систему потребителя молока и молочной продукции – человека. Стафилококковые энтеротоксины способны вызывать пищевые отравления, поскольку пастеризация их не инактивирует. Для разработки методов профилактики и заболеваний животных, оценки безопасности пищевых продуктов необходима информация о наличии токсигенных штаммов стафилококков и генов токсинов, которые они содержат.

Целью настоящего исследования является обнаружение специфических ДНК-последовательностей генов энтеротоксинов А, В, С, D, Е, G, H, I, наиболее часто встречающихся при заболеваниях, вызываемых стафилококками, в образцах молока КРС с патологией - мастит.

В работе использовали гены известных энтеротоксинов, образцы молока КРС Центрального региона России.

*Staphylococcus aureus* выделяли методом поверхностного посева молока на Baird Parker Agar и Azide Blood Agar. Для подтверждения принадлежности выделенных штаммов к *S. aureus* использовали биохимический ряд ФБУН ГНЦ ПМБ и набор HiStaph KB004R. С помощью лиофилизированной кроличьей плазмы подтверждали коагулазную активность. Морфологические свойства выделенных изолятов изучали путем бактериоскопии мазков, окрашенных по Граму. Праймеры тестировали на клонированных генах энтеротоксинов А, В, С, D, Е, G, H и I, полученные ПЦР-продукты использовали в качестве референс образцов. Для одновременной детекции генов нескольких стафилококковых энтеротоксинов применяли метод мультиплексной ПЦР. Во избежание перекрытия между продуктами амплификации, кодирующими энтеротоксины G и С, проводили независимый ПЦР анализ с использованием праймеров к ДНК-последовательности гена стафилококкового токсина С.

Проанализировано 65 образцов, установлено, что 43% не содержали генов энтеротоксинов. Ген энтеротоксина А обнаружен в 30,8% случаев, энтеротоксина D – в 4,6%, энтеротоксина G – в 15,4%, энтеротоксина I – в 6,2%.

Работа проведена в рамках гранта РФФИ № 15-16-00020.

## ИЗМЕНЕНИЕ ПРОТЕОМНОГО ПРОФИЛЯ *BACILLUS SUBTILIS* SK1 ПРИ ДЕЙСТВИИ 2,4,6-ТРИНИТРОТОЛУОЛА

Горбунова А.С.<sup>1</sup>, Яковлева Г.Ю.<sup>1</sup>, Ибрагимов Э.М.<sup>1</sup>, Романова Ю.Д.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия; <sup>2</sup>НОЦ фармацевтики Казанского (Приволжского) федерального университета, Казань, Россия

*ankapulimetchitsa@yandex.ru*

Нитроароматические соединения традиционно используются в качестве красителей, взрывчатых веществ и пестицидов. Утилизация этих продуктов вызывает загрязнение окружающей среды. 2,4,6-тринитротолуол (ТНТ) является опаснейшим из данных загрязняющих веществ вследствие наличия у него мутагенных свойств и устойчивости к биодеградации. В настоящее время наряду с физическими и физико-химическими способами детоксикации отходов, загрязненных ТНТ, разрабатываются подходы для их биоремедиации с использованием микроорганизмов.

В основе адаптации микроорганизмов к токсическим веществам лежит использование различных ферментных систем клетки. В связи с этим, нами был проведен анализ изменения протеомного профиля при действии 2,4,6-тринитротолуола с использованием метода двумерного гель-электрофореза, идентификация метаболитов ТНТ проводилась с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и ионообменной хроматографии.

В экспериментах использовался широкий диапазон концентраций ТНТ - от 20 до 200 мг/л. Несмотря на подавление роста культуры в присутствии ксенобиотика, к 24 ч *B. subtilis* SK1 полностью элиминировала ТНТ из среды культивирования при его исходной концентрации 20 и 50 мг/л и к 48 ч на 40, 24 и 18 % при начальной концентрации 100, 150 и 200 мг/л соответственно. Трансформация низких концентраций ТНТ (20 и 50 мг/л) шла по пути восстановления нитрогрупп с образованием гидроксиламино- и аминодинитротолуолов. Накопление нитритов в среде культивирования *B. subtilis* SK1 с высокими концентрациями ксенобиотика (выше 100 мг/л) свидетельствует о том, что процесс трансформации ТНТ шел по пути денитрации. Протеомный анализ продемонстрировал различие в составе белков в клетках *B. subtilis* SK1, находящихся в контакте с ксенобиотиком, с клетками контрольного (без ТНТ) варианта. Отличия так же отмечались и в клетках, находящихся в контакте с разными концентрацией ТНТ (20 и 200 мг/л), что свидетельствует об использовании *B. subtilis* SK1 различных ферментных систем для трансформации ксенобиотика.

Следовательно, изменение протеомного профиля *B. subtilis* SK1 в присутствии ТНТ, а так же различие в продуктах трансформации в зависимости от его концентрации, свидетельствует способности *B. subtilis* SK1 использовать различные ферментативные системы для детоксикации ксенобиотика. Очевидно, что “выбор” систем зависит от исходной концентрации ТНТ, от чувствительности ферментов системы редукции к токсическому действию ТНТ или продуктам его превращения и от наличия ферментов (ферментных систем), способных обеспечить альтернативную стратегию трансформации ксенобиотика.

## ХАРАКТЕРИСТИКА ПЛАЗМИДЫ PPA21A *PECTOBACTERIUM ATROSEPTICUM*

Дюбо Ю.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

*yuliya.dyubo@mail.ru*

*Pectobacterium atrosepticum* – грамотрицательные энтеробактерии, способные вызывать заболевания картофеля – “черную ножку” и мягкую гниль. Штамм 21А, в отличие от большинства других *P. atrosepticum*, индуцирует реакцию сверхчувствительности у растений табака *Nicotiana tabacum*, которые не являются для него естественным хозяином. При секвенировании генома *P. atrosepticum* 21А было обнаружено два репликона — хромосомный и плазмидный (коды доступа в GenBank CP009125 и CP009126). Последовательности хромосом *P. atrosepticum*, присутствующие в GenBank, имеют очень высокое сходство и практически идентичны по содержащемуся в них набору генов (за исключением генов транспозонов и бактериофагов), в связи с чем мы предположили, что способность бактерий штамма 21а вызывать реакцию сверхчувствительности связана именно с наличием плазмиды и провели анализ последовательности этой плазмиды, а также начали экспериментальное исследование ее свойств.

Плаزمида pPA21A имеет размер 32 444 н.п. и присутствует в клетке в количестве 3-4 копий. Стабильное поддержание этой низкокопийной плазмиды предположительно обеспечивается двумя системами токсин-антитоксин. Возможным фактором вирулентности, способным оказать влияние на индукцию реакции сверхчувствительности, может быть кодируемая плазмидой фосфолипаза D. Следует также отметить присутствие на плазмиде генов трех транскрипционных регуляторов, один из которых подобен H-NS (и является одним из трех HNS-подобных белков этих бактерий) и может иметь отношение к транскрипционному контролю факторов вирулентности.

Чуть меньше половины последовательности плазмиды занимают гены, кодирующие компоненты секреторной системы IV типа. Такие секреторные системы чаще всего отвечают за перенос плазмид между клетками. Имеется также вероятность участия этой секреторной системы в доставке факторов вирулентности в клетки организма-хозяина. Для проверки конъюгативных свойств плазмиды мы маркировали плазмиду путем инсерции гена гентамицинрезистентности в межгенный участок, что позволяет контролировать присутствие этой плазмиды в клетках. Внутривидовые (между штаммами *E. coli*) и межродовые (между *E. coli* и *P. carotovorum*) скрещивания показали способность плазмиды к конъюгативной передаче.

#### **БАКТЕРИИ РОДА *PSEUDOMONAS* – ПАТОГЕНЫ МХА *PHYSCOMITRELLA PATENS***

**Егорова Е.Д.<sup>1</sup>, Виноградова С.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт биоинженерии, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия

*svetlana.vinogradova@biengi.ac.ru*

Представитель отдела бриофиты – мох *Physcomitrella patens* – новый модельный объект для исследований эволюционирования устойчивости к фитопатогенам. Преимущества *P. patens* заключаются в относительно простом морфологическом строении, коротком периоде генерации (4-8 недель), небольшом размере (1-5 мм), высокой скорости роста и простоте генетической трансформации. Всё это в сочетании с филогенетической позицией группы мохообразных и преобладанием гаплоидной стадии жизненного цикла делает *P. patens* удобным модельным организмом.

Ранее было изучено, что оомицеты и некротрофные грибы способны заражать *P. patens*, вызывая некроз и мацерацию тканей. Однако сообщения о взаимодействии *P. patens* и специализированных бактериальных патогенов отсутствуют. Фитопатогенные бактерии *Pseudomonas fluorescens* и *Pseudomonas syringae* вызывают корневые гнили, некрозы стеблей и листьев у широкого круга растений. Целью нашей работы является изучение взаимодействия специализированных фитопатогенных бактерий *P. fluorescens* и *P. syringae* и мха *P. patens*.

Для фенотипического анализа гаметофоры *P. patens* культивировали на агаризованной питательной среде Кнопа в течение двух месяцев и инокулировали фитопатогенными бактериями. Культуры *P. fluorescens* и *P. syringae* наращивали на агаризованной питательной среде Luria-Bertani (LB) в течение 48 часов и готовили суспензии с оптической плотностью 0,4 для инокуляции гаметофоров. В качестве контроля использовали инокуляцию водой.

При инокуляции *P. patens* бактерией *P. syringae* было отмечено слабое пожелтение гаметофоров. Интенсивное развитие симптомов патогенеза, сопровождающееся пожелтением гаметофоров, наблюдали при инокуляции бактерией *P. fluorescens*.

Для подтверждения размножения бактерий в клетках *P. patens* делали смыв с поверхности гаметофоров, а также растирали их до получения однородной массы. Затем делали серийные разведения суспензий и высевали на питательную среду LB. В результате на второй и пятый дни после инокуляции было показано увеличение количества колоний бактерий на питательной среде, что подтверждает размножение бактерий в клетках мха.

Полученные данные свидетельствуют о том, что штаммы *P. fluorescens* и *P. syringae* являются патогенами *P. patens*.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 13-04-40104 и Гранта Президента РФ МК-7138.2015.4 на базе Экспериментальной установки искусственного климата (регистрационный номер УНУ U-73547).

#### **БАКТЕРИОФАГИ ШТАММОВ *ACINETOBACTER LWOFFII*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ МНОГОЛЕТНЕМЕРЗЛЫХ ОТЛОЖЕНИЙ КОЛЫМСКОЙ НИЗМЕННОСТИ**

**Ермакова А.Я.<sup>1</sup>, Белецкий А.В.<sup>1</sup>, Петрова М.А.<sup>2</sup>, Ракитин А.Л.<sup>1</sup>, Марданов А.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт биоинженерии, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

*alex.ermakova@mail.ru*

Грамотрицательная бактерия *Acinetobacter lwoffii* относится к семейству *Moraxellaceae*. Бактерии рода *Acinetobacter* широко распространены в природе, некоторые виды являются причиной различных инфекций. На данный момент известно около 39 вирусов *Acinetobacter spp.*, большинство из них относится к порядку *Caudovirales*, среди них есть как умеренные, так и вирулентные фаги, которые, как правило, обладают узкой специфичностью.

Ранее в нашей лаборатории были просеквенированы геномы пяти штаммов *Acinetobacter lwoffii*, выделенных из многолетнемерзлых образцов грунтов (от 15 тыс. лет до 3 млн. лет; Колымская низменность,



Якутия). В результате анализа геномных последовательностей в четырех штаммах были обнаружены интегрированные в хромосому геномы бактериофагов. Размеры этих геномов составляют от 11 до 69 т.п.н. Интеграция бактериофагов *Acinetobacter* phage ED4523-1, VS15-1 и ED9\_5a-1 происходит в гены транспортной РНК, бактериофаг *Acinetobacter* phage EK30A-1 встраивается в ген транспортно-матричной РНК. ПЦР анализ геномной ДНК соответствующих штаммов показал, что умеренные фаги ED4523-1, ED9\_5a-1 и EK30A-1 могут находиться как в интегрированной в хромосому форме, так и вырезаться из хромосомы т.е. они являются функционально активными.

Аминокислотные последовательности белков бактериофагов, полученные при анализе открытых рамок считывания, сравнивали с базой данных BLAST. В исследуемых геномах были обнаружены белки, гомологичные известным интегразам, терминазам, структурным белкам бактериофагов разных видов. Филогенетический анализ на основе последовательностей белков оболочки показал, что бактериофаги *Acinetobacter* phage ED4523-1 и ED9\_5a-1 относятся к лямбда-подобным фагам семейства *Siphoviridae*, а бактериофаг *Acinetobacter* phage VS15-1 к P2-подобным фагам семейства *Myoviridae*.

Работа поддержана грантом РФФИ 14-04-01317.

### ИЗУЧЕНИЕ МОРСКИХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ ИЗ АКВАТОРИЙ С РАЗНОЙ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКОЙ

Еськова А.И.<sup>1</sup>, Бузолева Л.С.<sup>1,2</sup>, Богатыренко Е.А.<sup>1</sup>, Ким А.В.<sup>1</sup>, Долматова Е.С.<sup>1</sup>, Голозубова Ю.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВПО Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия; <sup>2</sup>ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова, Владивосток, Россия

*kim-sandra@mail.ru*

Известно, что влияние антропогенного загрязнения на морские экосистемы приводит к нарушению естественного гомеостаза, чрезмерному насыщению биогенными и органическими веществами, отходами морского транспорта, а также целым комплексом токсичных веществ. Загрязнение морских акваторий оказывает отрицательное воздействие на микроорганизмы, влияя на их биологические свойства, состав микробных ценозов. Приспосабливаясь к новым химическим соединениям, загрязняющим морскую среду, они способны трансформировать и утилизировать практически все существующие в природе органические вещества. Можно предположить, что они представляют опасность для гидробионтов, наземных организмов и человека.

Цель исследования – изучить таксономический состав и биохимические свойства морских бактерий, выделенных из акваторий с разной антропогенной нагрузкой.

Для проведения исследований была сформирована коллекция культивируемых гетеротрофных бактерий, выделенных из акваторий Японского моря. Район работ включал бухты Золотой Рог и Находка, испытывающие значительное влияние промышленных, бытовых и речных стоков, а также бухты Круглая и Киевка с минимальными антропогенными нагрузками.

В результате проведенных исследований были выделены и идентифицированы до рода 331 штамм бактерий, из них 83- из вод б. Золотой Рог, 86 – из б. Круглая, 94 – из б. Киевка и 65 – из б. Находка.

Согласно полученным данным, наибольшее количество штаммов было выделено из чистого района – б. Киевка, также отмечалось высокое таксономическое разнообразие (14 родов бактерий). В водах б. Киевка доминировали представители рода *Bacillus* (13 штаммов), бактерии родов *Pseudoalteromonas*, *Aeromonas*, *Vibrio* - являются типичными представителями морской микробиоты. Из вод б. Круглая было выделено 14 родов, доминировали псевдомонады, были выделены представители родов *Micrococcus*, *Actinomyces*, *Bacillus*, *Vibrio*, *Pseudoalteromonas*.

Из б. Золотой Рог было выделено 86 штаммов бактерий, из них доминирующие - энтеробактерии (*Escherichia*, *Klebsiella*). Кроме того, преобладали бактерии родов *Bacillus*, *Pseudomonas* и *Enterococcus*.

Из б. Находка было выделено 11 родов, доминировали представители рода *Pseudomonas*, *Klebsiella* и *Vibrio*.

Установлено, что в районах с высоким антропогенным влиянием значительную долю бактериального сообщества составили условно-патогенные микроорганизмы: в б. Находка – 21,4% от выделенных штаммов, в б. Золотой Рог – 30%. В водах условно чистой б. Киевка санитарно-показательные микроорганизмы не выявлены.

Не было выявлено явных различий по гидролитической активности у микроорганизмов, выделенных из морских акваторий с разной антропогенной нагрузкой. Это объясняется наличием большого количества разнообразного органического субстрата во всех исследуемых акваториях. Однако, природа органики имеет разный характер, в б. Киевка – органические вещества природного происхождения, в б. Золотой Рог и в б. Находка – коммунально-бытовые стоки.

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ ГИФОСФЕРЫ БАЗИДИОМИЦЕТОВ И КОНТРОЛЬНОЙ ПОЧВЫ

Загрядская Ю.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

1989july@mail.ru

Базидиальные грибы, формируя значительный по биомассе мицелий, составляющий около трети от всей микробной биомассы почвы, играют важную роль в почве как эдификаторы, создавая вокруг себя среду, насыщенную продуктами обмена и оказывая существенное влияние на формирование микробных ценозов.

Целью данной работы было изучение влияния гифосферы базидиомицетов на бактериальные сообщества почв в природных условиях. Сбор образцов проводился на территории Звенигородской Биологической Станции МГУ имени М.В. Ломоносова в течение трех лет (2009-2011) на постоянных картированных площадках. Образцы гифосферы отбирались непосредственно под плодовыми телами базидиомицетов, контрольная почва отбиралась за пределами колоний грибов. Всего были исследованы образцы гифосферы 34 видов базидиальных грибов.

По результатам подсчета общей численности в образцах гифосферы базидиомицетов и контрольной почвы с помощью прямого микроскопического метода (краситель акридин оранжевый и L7012), все исследованные виды грибов можно разделить на две группы. В первую группу вошли виды (43,5% видов), численность бактерий в гифосфере которых ниже, чем в контроле в 1,2-2,9 раза и при этом, доля клеток бактерий с неповрежденной клеточной мембраной ниже, чем в контроле в 1,7 раз. Во вторую группу входили виды (56,5% видов), показатели численности бактерий в гифосфере которых были сравнимы или выше, чем в контрольной почве (в 1-4 раза), а доля клеток с неповрежденной клеточной мембраной выше, чем в контроле в 1,3 раз.

Показатели численности сапротрофных бактерий, определенных с помощью метода посева на глюкозо-пептонно-дрожжевую среду, в гифосфере большинства (68,6%) видов базидиомицетов были выше, чем в контроле в 1,1-36,2 раза. Закономерности, указанные выше для двух групп грибов, здесь сохраняются только у 61% видов базидиомицетов.

Сапротрофные бактериальные комплексы гифосферы большинства (85,3%) видов базидиомицетов показывают значительное сходство с таковыми контрольной почвы (на основании расчета количественного модифицированного коэффициента Серенсена). Всего было выделено и идентифицировано 30 родов бактерий. В обоих локусах доминировали грамположительные бактерии (у 70,6% видов грибов в гифосфере и 76,5% – в контроле), в основном представленные родами *Bacillus*, *Streptomyces*, *Arthrobacter*. Частота встречаемости родов бактерий, а также соотношения долей бактерий гидролитиков, копитрофов и олиготрофов практически не отличались между гифосферой и контрольной почвой.

## МУТАЦИОННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ОНКОЛИТИЧЕСКОГО ВИРУСА СЕНДАЙ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ В СИСТЕМАХ *IN VITRO* И *IN OVO*

Зайнутдинов С.С.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия; <sup>2</sup>ФБУН ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор», п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

zainutdinovsergei@ngs.ru

Вирус Сендай обладает выраженными онколитическими свойствами, и в настоящее время ряд препаратов на его основе проходит клинические испытания в качестве противоопухолевых средств. Он хорошо размножается в аллантоисной полости куриных эмбрионов (культивирование *in ovo*), но препараты, полученные таким путём, высокоаллергенны из-за большого количества куриного белка. Есть также проблема стандартизации таких препаратов. Решение этих проблем – культивирование вируса на культуре клеток; однако при смене системы культивирования могут возникнуть мутации, меняющие свойства вируса.

Данная работа посвящена выявлению адаптивных мутаций штамма Moscow вируса Сендай (прошёл ~50 пассажей *in ovo*) при культивировании на клетках 4647 (клетки почки африканской зелёной мартышки) и 293 (клетки почки эмбриона человека), аттестованных для производства вакцин в России. В результате его адаптации *in vitro* получены штаммы Sen4647mos25 и Sen4647nsk0410, прошедшие 25 и 10 пассажей на клетках 4647, и Sen293nsk21, Sen293nsk1310 и Sen293nsk1616, прошедшие 21, 10 и 16 пассажей на клетках 293 соответственно. Штаммы Sen4647mos25 и Sen293nsk21 получены прямым пассированием, а остальные – методом предельных разведений. Проведено полногеномное секвенирование (15 384 н.) всех перечисленных

штаммов, а также частичное секвенирование предыдущих пассажей для выявления динамики возникновения мутаций.

Для оценки стабильности мутаций проведено возвратное пассирование *in ovo* пяти полученных культуральных штаммов (10 пассажей) с последующим секвенированием наиболее мутабельных районов генома. Для сравнения также отсеквенированы те же районы генома штамма Moscow после 12 пассажей *in ovo*.

Анализ генома всех полученных вирусов дал следующие результаты:

1. Спектр мутаций различен между штаммами, адаптированными к разным культурам клеток (293 и 4647), но схож у штаммов, адаптированных независимо к одной культуре клеток (как 293, так и 4647).

2. Плотность мутаций наибольшая в генах поверхностных белков.

3. Штаммы, полученные методом предельных разведений, имеют изменения генома, видимые с первых пассажей как мутации; на следующих пассажах идут обратные замены. У штаммов, полученных прямым пассированием, таких обратных замен не найдено.

4. У штаммов Сендая, адаптированных к клеткам 4647, большая часть мутаций вернулась к исходному состоянию после возвратного пассирования *in ovo*. У штаммов, адаптированных к клеткам 293, подобных эффектов не найдено.

5. Исходный штамм Moscow сохраняет свою структуру по крайней мере в течение 12 пассажей *in ovo*.

Геном штамма Moscow вируса Сендай депонирован в базе GenBank (KP717417.1).

### **АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЧЕТВЕРТИЧНОЙ ФОСФОНИЕВОЙ СОЛИ ПИРИДОКСИНА НА ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ**

**Зелди М.И., Никитина Е.В., Штырлин Н.В., Пугачёв М.М., Сапожников С.В., Штырлин Ю.Г.**  
НОЦ фармацевтики Казанского (Приволжского) федерального университета, Казань, Россия

*zeldimarina@gmail.com*

Поиск новых лекарственных средств, в частности антимикробных - одна из актуальных проблем современности. Классом соединений, который может стать перспективным в качестве антимикробного агента, являются четвертичные фосфониевые соли на основе пиридоксина, в частности новое соединение этого ряда: 2,2,8-триметил-4Н - [1,3] диоксин [4,5-с] пиридин-5,6-диен) бис (метилен)) бис (три-р-толилфосфоний) дихлорид пиридоксина.

В работе были использованы методики определения минимальной ингибирующей концентрации (МИК) и минимальной бактерицидной концентрации (МБК); метод определения МИК в присутствии хлорида кальция и электронная сканирующая микроскопия.

Было выявлено, что тестируемое соединение проявляет ингибирующее действие преимущественно против грамположительных бактерий - *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, МИК для этой группы составила от 2 до 4 мкг/мл. Определение МИК на ряде грамотрицательных штаммов, показало, что исследуемое вещество на них активности не проявляет (МИК превышает концентрацию 1000 мкг/мл). Воздействие на проницаемость клеточной оболочки, с помощью добавления хлорида кальция, показало, что в его присутствии МИК не изменилась. Проведение сканирующей электронной микроскопии показало, что при воздействии на клетки *St. aureus*. фосфониевой соли пиридоксина в концентрации МБК – 32 мкг/мл клетки стафилококка начинали делиться линейно, на поверхности клеток образовывались нехарактерные наросты, протфузии, форма клеток становится ломаной. Кроме того, выявлено накопление внеклеточного органического вещества неизвестной природы, трудноотделяемого, которое способствовало слипанию клеток.

Таким образом, тестируемое соединение показало высокую избирательную антибактериальную активность в отношении грамположительных бактерий. Проведённые исследования дали основание полагать, что механизм действия бис-фосфониевой соли пиридоксина не связан с воздействием на клеточную мембрану, но связан с мембранными компонентами и влиянием на клеточный метаболизм.

### **ВЛИЯНИЕ СПИРАЛЬНЫХ ЛИНКЕРОВ НА СПОСОБНОСТЬ К АГРЕГАЦИИ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ НА ОСНОВЕ М2Е ПЕПТИДА ВИРУСА ГРИППА**

**Зыкова А.А.<sup>1,2</sup>, Куприянов В.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт биоинженерии, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*nuta2109@gmail.com*

Актуальной является задача создания рекомбинантных противогриппозных вакцин, которые основаны на отдельных высоко консервативных эпитопах белков вируса гриппа. Использование высоко

консервативного внеклеточного домена M2 белка (M2e) вируса гриппа дает возможность для создания «универсальной» гриппозной вакцины на основе рекомбинантного белка. Линкеры являются важными компонентами при конструировании химерных молекул. Эмпирически было замечено, что присутствие спиральных линкеров на N- и на C-концах молекулы способствует их агрегации и образованию наночастиц, что существенно для повышения иммуногенности вакцинного препарата.

Целью нашей работы было изучение влияния пептидных спиральных линкеров на способность образовывать наноразмерные частицы при конструировании рекомбинантных белков на основе M2e пептида вируса гриппа человека.

Все манипуляции с ДНК – клонирование последовательностей в плазмидные векторы, рестрикция, секвенирование, и т.п., а также трансформацию клеток *E. coli* проводили согласно общепринятым методикам. Для экспрессии рекомбинантных белков в клетках *E. coli* использовали векторы pQE30 и pQE60. Очистку белков проводили на Ni-NTA-силикагеле. Полученные препараты анализировали с помощью атомно-силовой микроскопии.

Были сконструированы гены, кодирующие рекомбинантные белки, которые включали четыре и восемь повторов последовательностей M2e пептида «человеческого» вируса гриппа A/PR/8/34 (H1N1) в сочетании со спираль-образующими линкерами, фланкирующими эти последовательности. Эти гибридные белки были экспрессированы в клетках *E. coli*. Наличие 6-ти гистидинов на N-конце позволило очистить рекомбинантные белки из клеточного лизата, используя металл-аффинную хроматографию. Оказалось, что наличие спиральных линкеров с обеих сторон от M2e повторов обеспечивало устойчивость белка к протеолизу. Полученные рекомбинантные белки были способны образовывать частицы в зависимости от наличия спиральных линкеров на N- и C-концах молекулы. Использование атомно-силовой микроскопии показало, что размер частиц коррелирует с нахождением этого линкера на одном или обоих концах молекулы рекомбинантного белка.

В результате можно утверждать, что введение спиральных линкеров влияет на способность рекомбинантного белка агрегировать с образованием наноразмерных частиц, что повышает его стабильность и протеолитическую устойчивость. Эти свойства могут повысить эффективность вакцин так как, известно, что иммуногенность рекомбинантного белка зависит от количества повторов антигенных эпитопов и от способности белка агрегировать с образованием наноразмерных частиц.

#### **УВЕЛИЧЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ НОРМАЛЬНЫХ И ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ ФИБРОБЛАСТОВ К БАКТЕРИАЛЬНОЙ ИНВАЗИИ ПРИ ДЕЙСТВИИ АНТИОКСИДАНТА N- АЦЕТИЛЦИСТЕИНА**

**Ивлев А.П.<sup>1</sup>, Божоккина Е.С.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

*andrewivlev1410@gmail.com*

Инвазия – это процесс взаимодействия бактериальной и эукариотической клеток, в котором участвуют как ферменты бактерий, так и рецепторы клетки-хозяина. Ранее было показано, что условно-патогенные бактерии *S. grimesii* способны инвазировать трансформированные клетки человека линий HeLa и CaCo2, а предварительная обработка этих клеток антиоксидантом N-ацетилцистеином (NAC) увеличивает инвазию *S. grimesii*. Изменение чувствительности клеток HeLa к инвазии коррелировало с увеличением экспрессии E-кадгерина, участвующего в адгезии клеток хозяина и межклеточных контактах. Целью данной работы было исследование влияния NAC на инвазию *S. grimesii* в нормальные (мезенхимные MSC-r), иммортализованные (3T3) и трансформированные (3T3 SV40) культуры клеток фибробластов. Нормальные фибробласты широко представлены в тканях организма и отвечают за их гомеостаз. Известно, что эти клетки чувствительны к инвазии патогенными бактериями. Данных об инвазии этих клеток условно-патогенными бактериями в литературе немного и детальный механизм инвазии не известен. Используя метод конфокальной микроскопии, мы показали, что обработка нормальных и трансформированных клеток фибробластов 20 мМ NAC в течение 12-20 часов вызывает уменьшение межклеточных контактов, разборку актиновых филаментов цитоскелета и образование выростов на клеточной поверхности.

По данным количественного микробиологического теста, после обработки клеток 20 мМ NAC адгезия и инвазия бактерий *S. grimesii* увеличивались в линии 3T3, MSC-r и 3T3 SV40 примерно в 2 и 2.5 и 3 раза, соответственно. Увеличение инвазии обусловлено увеличением адгезии в ответ на действие антиоксиданта NAC. Эти результаты свидетельствуют о чувствительности клеток 3T3, MSC-r и 3T3 SV40 к инвазии условно-патогенными бактериями и указывают на роль N-ацетилцистеина в модификации поверхности клетки, способствующей проникновению бактерий. Работа поддержана грантом РФФИ 14-04-00316.

## РАЗРАБОТКА УНИВЕРСАЛЬНОГО ПОДХОДА СОЗДАНИЯ ДИАГНОСТИКУМОВ РЕТРОВИРУСОВ НАСЕКОМЫХ

Калашников А.Е.<sup>1</sup>, Бурмистрова Л.А.<sup>2</sup>, Королев А.В.<sup>3</sup>, Богомолов А.И.<sup>1,3</sup>, Бородачев А.В.<sup>2</sup>,  
Ханбекова Е.М.<sup>2,4,5</sup>, Гладырь Е.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства им. академика Л.К. Эрнста, п. Дубровицы, Московская обл., Россия; <sup>2</sup>ФГБНУ НИИ пчеловодства, Рыбное, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И.Скрябина, Москва, Россия; <sup>4</sup>НПО "Золотой улей", Баку, республика Азербайджан; <sup>5</sup>Институт зоологии НАН Азербайджана, Баку, Азербайджан

*aekalashnikov@yandex.ru*

Ретровирусы пчел высоко изменчивы, вызывают гибель с.х.-животных и могут в скрытой форме распространяться на обширных территориях (Bailey and Ball, 1991, Ribière et al., 2008). Для эффективной борьбы с инфекцией необходимо разрабатывать современные методы диагностики (Herenda D. et al, 2000). Были поставлены задачи анализа кинетики мутаций разработки ПЦР тест-системы нового поколения. Праймеры подобраны по статически консервативным областям на основании данных метагеномного анализа при сравнении максимального количества известных изолятов вирусов SBV, BQCV, SPV, KBV, ABPV, CBPV, IAPV (>850). Проведен анализ с учетом областей высокой кинетики мутаций наиболее географически и структурно подразделенных друг от друга изолятов, что позволит в дальнейшем предсказывать структуру генома новых неизвестных изолятов, привнесенных на территорию России при импорте пчел. Амплификацию осуществляли по мишеням вирусной РНК, референсного гена ActB пчел, подобранных для возможности амплификации в количественном режиме Sybr Green (New England Biolabs, Англия, Maskey I.M., et al, 2002). Всего было проанализировано 30 рабочих пчел из 10 семей инфицированных пчел Рязанской области, из них выявлено от 29 до 80% положительных особей. Тест эффективнее разработанного ранее теста для выявления вирусов пчел COLOSS (Bereney M., et al, 2006) которые выявляли от 20-40% положительных особей. Анализ наличия вирусной РНК позволяет выявлять больше инфицированных животных при сравнении с анализом провирусной ДНК с большей достоверностью (70 против 30%). Среди преимуществ метода следует отметить его универсальность и высокую эффективность на практике при тестировании на образцах пчел.

## АУКСОТРОФНЫЕ ВАРИАНТЫ ОБЩИХ КОЛИФОРМНЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ РЯЗАНСКОЙ ОБЛАСТИ

Калчугина В.Д., Зацаринная Е.А.

ФГБОУ ВО Рязанский государственный университет имени С.А. Есенина, Рязань, Россия

*microbiog@mail.ru*

О появлении вариантов, нуждающихся в определенных факторах роста (ауксотрофов), в культурах прототрофных бактерий, которые способны к самостоятельному синтезу необходимых для роста соединений, известно еще с середины прошлого века. Показано, что ауксотрофы наиболее часто встречаются среди микроорганизмов, населяющих среды «богатые» питательными веществами: патогенов, эндосимбионтов и молочнокислых бактерий. Однако по последним данным подобные варианты могут быть обнаружены практически среди всех видов зубактерий. В связи с этим, особый интерес приобретают исследования, направленные на выделение ауксотрофов из сред, «бедных» питательными веществами, и объяснения причин их выживания в них.

С целью оценки встречаемости ауксотрофных вариантов среди общих колиформных бактерий (ОКБ) в сапрофитической стадии существования был проведен отбор проб воды из трех водных объектов Рязанской области, отличающихся типом и интенсивностью антропогенной нагрузки: р. Листвянка (после впадения очищенных промышленных и хозяйственно-бытовых сточных вод), р. Трубеж (загрязненной стоками ливневой канализации г. Рязани) и озера Белое (территория Национального парка «Мещерский» в районе д. Белозеро). Выделение ОКБ проводили общепринятым методом мембранной фильтрации с использованием среды Эндо. Наиболее часто ( $p=0,05$ ) общие колиформные бактерии зарегистрированы в пробах, отобранных из реки Листвянка (9647 КОЕ/100 мл, диапазон встречаемости колиформ от 3900 до 20000 КОЕ/100 мл). Встречаемость ОКБ в пробах воды из р. Трубеж в среднем составила 1429 КОЕ/100 мл (диапазон 1120-1960 КОЕ/100 мл). Наиболее редко ( $p=0,05$ ) колиформ выделяли из проб озера Белое (24,5 КОЕ /100 мл), при чем встречаемость колебалась от 16 до 34 КОЕ/100 мл).

Ауксотрофные варианты выявляли по неспособности к росту на минимальном агаризованной среде (по Clowes, Hayes, 1968) после инкубирования в течение 24 часов при 37<sup>0</sup>С. Изучение

потребностей в факторах роста проведено у 104 штаммов колиформ: из р. Листвянка исследовано 63 изолята, из р. Трубеж – 32, оз. Белое – 9. Установлено, что ауксотрофные варианты эшерихий встречаются во всех обследованных водных объектах Рязанской области. Встречаемость культур, нуждающихся в добавлении факторов роста, среди изолятов из р. Трубеж и оз. Белое статистически не различалась (9,4% и 11,1% соответственно). Наиболее часто ( $p=0,05$ ) ауксотрофы встречались среди колиформ, выделенных из р. Листвянка (32,7%), являющейся коллектором сточных вод г. Рязани.

### **БИОСИНТЕЗ ТЕСТОСТЕРОНА РЕКОМБИНАНТНЫМИ КЛЕТКАМИ БАКТЕРИЙ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ГЕНЫ ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ**

**Карпов М.В.<sup>1,2</sup>, Стрижов Н.И.<sup>1</sup>, Суходольская Г.В.<sup>1</sup>, Николаева В.М.<sup>1</sup>, Донова М.В.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия

*mikemikekarp@mail.ru*

Тестостерон (3-кето-андрост-4-ен-17 $\beta$ -ол) является стероидом ряда андрогенов, высоко востребованным в медицинской практике для профилактики и терапии эндокринологических заболеваний. В настоящее время его получают четырехстадийным химическим синтезом из андростендиона (АД). Известные микробиологические методы получения тестостерона малоэффективны, что зачастую связано с низкой активностью собственных 17 $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназ (17 $\beta$ -ГСД) применяемых штаммов.

Целью настоящего исследования являлось получение рекомбинантных бактериальных штаммов с высокой 17 $\beta$ -ГСД активностью.

Были созданы синтетические гетерологические последовательности ДНК, кодирующие 17 $\beta$ -ГСД человека, мыши и гриба (17 $\beta$ -ГСДНс, 17 $\beta$ -ГСДМм, 17 $\beta$ -ГСДС1, соответственно). Для адекватного снабжения рекомбинантных систем восстановительными эквивалентами были использованы гены ферментов окислительной стадии пентозофосфатного пути *M. tuberculosis*: глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы 2 типа (Г6ФДМт2), глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы 1 типа (Г6ФДМт1) и 6-фосфоглюконат-дегидрогеназы (6ФГДМт). Сконструированы рекомбинантные плазмиды, несущие под контролем индуцируемого промотора как одиночные 17 $\beta$ -ГСД, так и объединенные в один оперон с геном Г6ФДМт2, а также нативный оперон *M. tuberculosis*, включающий гены Г6ФДМт1 и 6-фосфоглюконат-дегидрогеназы 6ФГДМт.

Полученные конструкции были перенесены в клетки бактерий *E. coli* BL21(DE3). Высокий уровень экспрессии был отмечен в случае грибной 17 $\beta$ -ГСДС1 и мышинной 17 $\beta$ -ГСДМм, в отличие от человеческой 17 $\beta$ -ГСДНс. Все гетерологические белки локализованы в цитоплазматической растворимой фракции. В экспериментах *in vitro* показано эффективное восстановление АД до тестостерона гетерологическими белками, что подтверждает их функциональность.

Получены рекомбинантные штаммы микобактерий *M. smegmatis* mc<sup>2</sup>155, содержащие гены чужеродных 17-ГСД и искусственные полицистронные опероны, ко-экспрессирующие 17-ГСД, Г6ФДМт и 6ФГДМт. Функциональный анализ подтвердил, что рекомбинантные штаммы эффективно восстанавливают АД до тестостерона. В одном из вариантов (17 $\beta$ -ГСДС1, коэкспрессированная с Г6ФДМт2) достигаемый выход тестостерона превысил 53%. Отобраны рекомбинантные штаммы, наиболее перспективные для одностадийной биоконверсии фитостерина в тестостерон.

Работа поддержана грантом РНФ (соглашение №14-24-00169).

### **МИКРООРГАНИЗМЫ ПОРОД ГЛУБИННЫХ ЗАЛЕЖЕЙ КАЛИЙНЫХ И МАГНИЕВЫХ СОЛЕЙ ВЕРХНЕКАМСКОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ**

**Карташова Ю.А.<sup>1</sup>, Аликина И.Н.<sup>1</sup>, Пьянкова А.А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

*kartash-yulia@yandex.ru*

В настоящее время все больший интерес вызывают галофильные и галотолерантные микроорганизмы, перспективные для использования в биотехнологических целях. На территории Пермского края в районах промышленных разработок Верхнекамского месторождения солей (ВМС) возникают условия для формирования микробных сообществ и индивидуальных микроорганизмов, способных выживать в условиях осмотического стресса.

Цель работы – выделение и изучение солеустойчивых микроорганизмов из образцов пород глубинных залежей солей ВМС Пермского края.

В качестве материалов исследования были взяты образцы пород залежей калийных и магниевых солей ВМС (каменная соль, карналлит, сильвинит, мергель, известняк, глина), отобранных с разной глубины (от 33 м до 411 м) на территории Усть-Яйвинского рудника.

Из накопительных культур на жидкой модифицированной среде ATCC 213 «*Halobacterium medium*» (200 г/л NaCl) выделяли чистые культуры микроорганизмов путём высева на агаризованные среды: ATCC 213 «*Halobacterium medium*» (200 г/л NaCl), богатая среда Раймонда (БСР) с добавлением 5 г/л триптона и 2.5 г/л дрожжевого экстракта (30 г/л NaCl) и триптиказо-соевый бульон (50-150 г/л NaCl). Из образцов карналлита (254 м), глины (327 м), каменной соли (239 м и 411 м) было выделено четыре изолята, обозначенных как YKS43-1a (карналлит), YKS63t-1 (глина), YKS38R и YKS72R1 (каменная соль).

После проведения филогенетического анализа исследуемых изолятов, основанного на определении нуклеотидных последовательностей гена 16S рПНК, было показано, что штаммы YKS43-1a, YKS63t-1, YKS38R и YKS72R1 имели наибольшее сходство с типовыми штаммами видов *Bacillus safensis* FO-36b<sup>T</sup> (100%), *Micrococcus aloeverae* AE-6<sup>T</sup> (99.85%), *Kocuria rhizophila* DSM 11926<sup>T</sup> (99.86%) и *Dietzia cinnamea* IMMIB RIV-399<sup>T</sup> (99.5%), соответственно.

Все изолированные культуры способны к росту на агаризованной БСР как без добавления NaCl, так и при повышенной концентрации соли (до 150 г/л), т.е. являются галотолерантными организмами. Интересен тот факт, что штаммы *Bacillus* sp. YKS43-1a и *Kocuria* sp. YKS38R способны использовать в качестве ростового субстрата следующие ароматические углеводороды: нафталин, бифенил, орто-фталевою, бензойную и салициловую кислоты. У штамма *Micrococcus* sp. YKS63t-1 отмечен хороший рост на всех вышеуказанных субстратах, кроме бифенила. Штамм *Dietzia* sp. YKS72R1 показал менее активный рост на ароматических углеводородах и продуктах их разложения.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-34-01009 мол\_а.

#### О ПОДДЕРЖАНИИ В АКТИВНОМ СОСТОЯНИИ *EREMOTHECIUM ASHBYI* - ПРОДУЦЕНТА ЭФИРНОГО МАСЛА

Князькова А.А., Шпичка А.И., Безрукова Е.И., Семенова Е.Ф.  
ФГБОУ ВПО Пензенский государственный университет, Пенза, Россия

[sentemy@yandex.ru](mailto:sentemy@yandex.ru)

Для поддержания жизнеспособности и активности микроорганизмов их необходимо рассеивать на разнообразные агаризованные питательные среды и совершать периодические пересевы на свежие среды.

Целью исследования является изучение возможностей поддержания на питательных средах различного состава высокопродуктивного варианта *Eremothecium ashbyi*.

Объектом изучения служил высокоактивный вариант 36 О-в, полученный многоступенчатым отбором из штамма *Eremothecium ashbyi* Guill. ВКПМ F-36. Культуру поддерживали на скошенных агаризованных средах: соево-сахарозной, Сабуро и картофельно-глюкозной. Посевной материал выращивали глубинным способом в жидкой питательной глюкозо-пептонной с дрожжевым экстрактом среде при непрерывном встряхивании в течение 51 часа при температуре 28°C.

В опыте было отмечено, что при выращивании посевного материала рост культуры с картофельно-декстрозной агаризованной среды был значительно активнее, чем со среды Сабуро и соево-сахарозного агара. Инокулят представлял собой жидкость с мицелиальной массой, содержащую остаточные питательные вещества и продукты метаболизма, в том числе эфирное масло, рибофлавин и др. Причем культуральная жидкость, полученная от микоматериала, взятого с картофельно-декстрозного агара, была насыщенного ярко-оранжевого цвета, мицелиальная масса была обильной, мелкодисперсной, хлопьевидной и имела выраженный цветочный запах. Инокулят, полученный от культуры на соево-сахарозном агаре, был ярко-желтого цвета, наблюдалось большое количество микомассы и сильный цветочный запах. Культуральная среда, в которую производился засев с агара Сабуро, в конце культивирования была лимонного цвета, однако мицелиальная масса была густой и запах был ярко выражен. Следует отметить, что нарастание биомассы начиналось спустя сутки по сравнению с другими средами.

В ходе проведенного исследования было выявлено, что культуры варианта 36 О-в, поддерживаемые на картофельно-декстрозном агаре и соево-сахарозном агаре, сохраняют большую активность при продолжительном хранении, чем культура на агаре Сабуро; при выращивании посевного материала более активно накапливают микомассу, имеют более яркое окрашивание и сильнее выраженный приятный цветочный запах. Наибольшими темпами развивался мицелий продуцента, полученный при пересеве в посевную среду с картофельно-декстрозного агара, наименьшими – с агара Сабуро.

Таким образом, изучение сред хранения для культуры *Eremothecium* является неотъемлемой частью их рационального использования в биотехнологических процессах по получению аромапродуктов.

## ИССЛЕДОВАНИЯ ПО РАЗРАБОТКЕ БИОПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ РАСТИТЕЛЬНО-МИКРОБНОЙ АССОЦИАЦИИ ДЛЯ РЕМЕДИАЦИИ ЗАГРЯЗНЕННЫХ НЕФТЕПРОДУКТАМИ ПОЧВ

Коновалова Е.А., Трефилова М.В., Лазыкин А.Г., Гаврилов К.Е., Дармов И.В.  
ФГБОУ ВО Вятский государственный университет, Киров, Россия

*biologiavgu@yandex.ru*

По причине аварий на нефтепроводах, нефть и нефтепродукты могут проникать в почву, приводя к трансформации почвенных экосистем. Следствием этого является то, что почвы становятся фитотоксичными. Для восстановления загрязненных почв используют экологически безопасный и экономичный способ - фиторемедиацию.

Исследование растений в условиях лабораторного эксперимента позволит получить информацию об их устойчивости по отношению к поллютанту, а так же выяснить основные механизмы его влияния на состав и свойства почв.

В состав ассоциации бактерий входят штамм микроорганизм-деструктор углеводов нефти и нефтепродуктов *Pseudomonas delhiensis* В-11400, обладающий высокой углеводородоксилирующей активностью, и штамм рода *Rhizobium*. Бактерии рода *Rhizobium* были получены в НИИСХ Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого из клубеньков Лядвенца рогатого и переданы в лабораторию микробиологии ВятГУ для изучения интенсификации фиторемедиации нефти. В качестве опытного растения был взят Лядвенец рогатый (*Lotus corniculatus*) сорта «Солнышко».

Подготовка семян растения включает их обработку жидкими культурами микроорганизмов так, чтобы клетки покрыли максимальную площадь поверхности семян. Обработанные семена высевали в почву, при этом количество вносимых семян определяли из расчета 10 кг/1 га. Опытные образцы подвергали нефтяному загрязнению. Эксперимент проводили в условиях климатической камеры: световой день 18 ч, влажность 80%, рН 6,8-7,2, температуру 25°C. Продолжительность эксперимента составила 10 суток. Остаточное содержание нефтепродукта в почве определяли с помощью анализатора нефти АН-2.

Данные, полученные на 10 сутки эксперимента, позволили сравнить результаты по обработанным бактериальной ассоциацией семенам и не обработанным семенам: высота растений 4,0 см и 2,5 см, масса 747 г и 375 г, длина корней 3,0 см и 1,0 см соответственно. Определение остаточного количества нефти показало, что использование бактериальной ассоциации на основе ризобий и псевдомонад уменьшает концентрацию нефти в почве. Степень деградации поллютанта в почве, при его содержании 1% на 10 сутки составила 73%, что на 24% выше, чем при использовании для фиторемедиации необработанных семян растений.

Таким образом, эксперимент показал, что включение в состав бактериальной ассоциации микроорганизмов рода *Rhizobium* позволяет повысить уровень интенсификации фиторемедиации почвы от нефти.

## ПОИСК ГЕНОВ ДЕГРАДАЦИИ СТОЙКИХ ОРГАНИЧЕСКИХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ РАЙОНОВ ПРОМЫШЛЕННОЙ СОЛЕДОБЫЧИ С ЦЕЛЬЮ ОБНАРУЖЕНИЯ АКТИВНЫХ БАКТЕРИЙ-ДЕСТРУКТОРОВ

Корсакова Е.С.<sup>1,2</sup>, Шипова А.В.<sup>2</sup>, Воронина А.О.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия; <sup>2</sup> ФГБОУ ВПО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

*korsakovaekaterina08@gmail.com*

Целью работы являлся поиск бактериальных генов деградации стойких загрязнителей окружающей среды в образцах с территории промышленного региона Верхнекамского месторождения солей с использованием метода полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) и последующим выделением активных бактерий-деструкторов в чистую культуру.

На территории предприятия БКПРУ-3 ПАО «Уралкалий» были отобраны образцы поверхностного слоя шламохранилища и прилегающих к нему почв. Из исследуемых образцов была экстрагирована ДНК с помощью набора Fast DNA Spin Kit («MP Biomedicals», США). Органические загрязнители определены в хлороформных экстрактах проб (образцов) с использованием хромато-масс-спектрометра Agilent 6890/5973N («Agilent», США).

В качестве объекта исследования были выбраны бактериальные гены, кодирующие  $\alpha$ -субъединицу гидроксимирующей диоксигеназы (РАН-RHD $\alpha$ ), участвующих в окислении различных ароматических углеводов. ПЦР-РВ проводили с использованием бактериальных праймеров РАН-RHD $\alpha$ GNF/GNR в присутствии красителя Sybr Green I («Синтол», Россия). Чистые культуры бактерий-деструкторов получали методом накопительного культивирования на минеральной среде Раймонда (50 г/л NaCl) с нафталином и



бифенилом (1 г/л) в качестве ростовых субстратов. Филогенетический анализ (ген 16S рРНК) проводили с использованием программ Sequence Scanner v1.0 и Clustal X2. Поиск гомологичных последовательностей проводили в базе данных EzTaxon (<http://www.ezbiocloud.net/eztaxon>).

После проведенного скрининга было установлено, что в одном из образцов поверхностного слоя шламохранилища присутствует наибольшее количество копий *PAH-RHD<sub>α</sub>*-генов –  $5,7 \times 10^7$ , при этом загрязнителями на данном участке в основном были алифатические углеводороды и ароматические соединения, в том числе нафталин (2002 мг/кг). Данный образец был взят для дальнейшей работы, по результатам которой были выделены два штамма-деструктора бифенила и 11 штаммов-деструкторов нафталина. Среди них изолят BNL19 характеризовался довольно широкой субстратной специфичностью и наиболее активным ростом на таких субстратах как нафталин, фенантрен, салициловая, протокатеховая, гентизиновая, бензойная и *para*-гидроксибензойная кислоты. Данный штамм проявил наибольший уровень филогенетического сходства (100%) с типовым штаммом вида *Thalassospira permensis* NBRC 106175<sup>T</sup>.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-34-01009 мол\_а.

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ХОЛОДОАДАПТИРОВАННЫХ ВИРУСОВ ГРИППА В

**Крутикова Е.В., Федорова Е.А., Дубровина И.А.**

ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

*krutikova.iem@mail.ru*

Живая гриппозная вакцина (ЖГВ) – эффективный способ профилактики гриппозной инфекции и ее осложнений. На сегодняшний день в России и за рубежом для создания вакцинного штамма ЖГВ используется метод реассортации эпидемических штаммов гриппа с холодоадаптированными (ХА) донорами аттенуации. В мире существует ряд ХА доноров аттенуации ЖГВ, которые были подготовлены на основе различных диких вирусов гриппа В, в том числе В/СССР/60/69, В/Виктория/2/63/87, В/Ли/40, В/Энн Арбор/1/66. ХА доноры аттенуации обладают холодоустойчивостью, температурочувствительностью и являются аттенуированными для животных и людей. Эти три свойства обусловлены набором уникальных мутаций в геноме данных вирусов.

В России в 1960-1970-х годах был подготовлен донор аттенуации ЖГВ В/Ленинград/14/17/55. Штамм был получен путем пассирования при пониженной температуре, в результате чего приобрел температуроустойчивый и ХА фенотип, а также оказался аттенуированным для животных и людей. Мы провели секвенирование генома штамма В/Ленинград/14/17/55 и сравнили полученную последовательность с известными последовательностями генов вирусов гриппа В для выявления уникальных аминокислотных замен в генах данного штамма. Были обнаружены уникальные аминокислотные замены во всех шести генах, кодирующих внутренние белки вируса.

Был проведен анализ расположения уникальных аминокислотных замен у ХА вирусов гриппа В, данные о которых удалось получить в результате секвенирования генома (В/СССР/60/69, В/Ленинград/14/17/55), а также найти в доступных литературных источниках. Как и в случае с ХА вирусами гриппа А, аттенуированный фенотип ХА вирусов гриппа В не имеет четкой связи с определенными аминокислотными позициями, и у разных вирусов за холодовую адаптацию отвечают замены в разных позициях разных генов. У всех рассмотренных вирусов наблюдаются уникальные аминокислотные замены в белке РА, значительное число замен локализовано в основных белках полимеразного комплекса и нуклеопротеине.

В отдельных исследованиях было показано, что штамм В/Ленинград/14/17/55 обладает более выраженными показателями аттенуированного фенотипа, чем использующийся на настоящий момент штамм В/СССР/60/69, что делает штамм В/Ленинград/14/17/55 перспективным резервным донором аттенуации для подготовки ЖГВ для детей. Мы обнаружили у штамма В/Ленинград/14/17/55 повышенное количество уникальных аминокислотных замен по сравнению с другими ХА вирусами, что может быть причиной более высокой выраженности его аттенуированного фенотипа.

## ЭНАНТИОСЕЛЕКТИВНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ФЕНИЛМЕТИЛОВОГО СУЛЬФИДА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГОРДОНИЙ

**Кылосова Т.И.**

ФГБОУ ВПО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

*tat-kylosova@yandex.ru*

Оптически активные (*S*)- и (*R*)-энантиомерные сульфоксиды используются в качестве строительных блоков и стереонаправляющих групп в синтезе биологически активных соединений. Применение микроорганизмов в качестве биокатализаторов при окислении прохиральных сульфидов позволяет получать оптически активные сульфоксиды с высокой степенью регио- и стереоселективности. Цель настоящей

работы – поиск штаммов, способных к окислению органических сульфидов с высокой энантиоселективностью, разработка на их основе эффективных биокатализаторов процесса стереоселективного окисления арилалкилсульфидов.

Нами впервые показана способность актинобактерий рода *Gordonia* к окислению органических сульфидов в энантиомерно обогащенные (*R*)-сульфоксиды в соокислительных условиях в присутствии *n*-гексадекана. Отобран штамм *G. terrae* ИЭГМ 136, катализирующий с высоким выходом ( $\geq 86\%$ ) реакцию окисления фенилметилового сульфида (0,5 г/л) в (*R*)-фенилметилсульфоксид (93 % *ee*) в течении 4 сут. Использование иммобилизованных в криогель на основе поливинилового спирта гордоний позволяет сократить продолжительность процесса биотрансформации с 4-х до 1 сут. При этом иммобилизованные клетки катализируют окисление фенилметилового сульфида в повышенных концентрациях (до 1,5 г/л). Высокая сульфидокисляющая активность (уровень конверсии 86–93 %) иммобилизованных клеток *G. terrae* ИЭГМ 136 регистрируется в отношении ряда арилалкилсульфидов. При этом существенное влияние на энантиоселективность процесса оказывает положение заместителя (*para*-, *ortho*-) в ароматическом кольце сульфида. Наиболее высокий (88–95 %) уровень энантиомерного избытка регистрируется в случае образования *n*-метил-, *n*-хлор-, *n*-фтор-, *n*-бромфенилметилового сульфоксидов и фенилэтилового сульфоксидов. Полученный биокатализатор характеризуется функциональной стабильностью в течение 5 циклов биотрансформации сульфидов и сохраняет целевую ферментативную активность в течении 12 месяцев хранения.

Работа поддержана грантом РФФИ и Министерства образования и науки Пермского края (14–04–96006-р\_урал\_a).

### СТИМУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ЭКСТРАГИРУЕМЫХ ИЗ ПОЛИЭТИЛЕНОВ СОЕДИНЕНИЙ НА РАЗВИТИЕ БАКТЕРИЙ РОДОВ *STAPHYLOCOCCUS* И *LACTOBACILLUS*

Лапицкий А.В.<sup>1</sup>, Лемкина Л.М.<sup>1</sup>, Коробов В.П.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия; <sup>3</sup>ГОУ ВПО Пермский национальный исследовательский политехнический университет, Пермь, Россия

lapitskiy.andrey@gmail.com

При изучении закономерностей образования биопленок коагулазонегативными стафилококками на поверхностях различных полимерных гранул нами был обнаружен эффект увеличения скорости роста культуры штамма *Staphylococcus epidermidis* 33 при культивировании в статических условиях на питательной среде LB с добавкой одного из образцов гранул. В этой связи была поставлена цель провести более глубокое изучение данного эффекта и возможностей его использования при культивировании некоторых штаммов бактерий, перспективных для биотехнологии. В качестве объектов исследования использовали штамм-продуцент антибактериального пептида варнерина *S. warneri* IEGM KL-1, клинические штаммы коагулазонегативных стафилококков и производственную культуру лактобактерий (НПО «Биомед»).

На наличие стимулирующего эффекта в отношении *S. warneri* IEGM KL-1 было протестировано 16 различных образцов пластиковых гранул. Для этого навески гранул в количестве 20% (масс.) добавляли в специальную обогащенную питательную среду, на которой выращивали бактерии в течение 8 ч, после чего измеряли оптическую плотность культур и определяли антибактериальную активность их супернатантов. Добавка шести из исследованных образцов гранул, представленных разными марками полиэтилена, приводила к увеличению оптической плотности культур на 10-20% и антибактериальной активности их супернатантов в 2-4 раза. Наиболее существенным стимулирующим действием обладали гранулы, обозначенные как полиэтилен (ПЭ) марки 103. Было изучено влияние данных гранул на рост и продукцию антибактериальных соединений десятью клиническими штаммами-продуцентами. Внесение гранул в среды культивирования бактерий приводило к увеличению их оптической плотности в конце логарифмической фазы роста для разных штаммов на 5-45% и возрастанию антибактериальной активности супернатантов в 2-16 раз по сравнению с контролем. Показано также, что гранулы ПЭ 103 оказывали стимулирующее действие на рост культуры лактобактерий, оптическая плотность которой при росте на среде с добавкой гранул после 25 ч культивирования возрастала на 30-40% по сравнению с контролем.

Установлено, что эффект от применения гранул постепенно снижается и практически исчезает при их многократном использовании, а выращивание культур штамма-продуцента на водных вытяжках из гранул приводит к тем же результатам, что и непосредственное добавление гранул в питательную среду. Таким образом, стимулирующее действие гранул ПЭ 103 на развитие изученных штаммов бактерий может быть связано с наличием в их составе растворимых компонентов, обладающих биологической активностью.

## РОЛЬ ТИОЛОВЫХ РЕДОКС-СИСТЕМ В ОТВЕТЕ БАКТЕРИЙ *E. COLI* НА ДЕЙСТВИЕ СТРЕПТОМИЦИНА

Лепехина Е.В.<sup>1,2</sup>, Смирнова Г.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Пермский национальный исследовательский политехнический университет, Пермь, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

*alenshick@mail.ru*

Аминогликозидные антибиотики, к которым относится стрептомицин, нарушают синтез белка путем связывания с 30S субъединицей рибосом. Хотя это связывание не предотвращает инициацию синтеза пептида, происходит нарушение элонгации зарождающейся цепи в результате ошибок считывания. Предполагают, что при встраивании неправильных белков в клеточную мембрану клетка испытывает «envelope» стресс, что ведет к продукции активных форм кислорода (АФК). Эти работы вызвали широкий резонанс, поскольку открывали новые пути повышения эффективности антибактериальных препаратов. Однако недавно появились работы, опровергающие эту гипотезу и указывающие на то, что АФК не участвуют в гибели клеток, вызванной антибиотиками. Поскольку тиоловые редокс-системы играют существенную роль в поддержании нормальной жизнедеятельности бактерий в условиях окислительного стресса, то дефекты тиоловых редокс-систем могут существенным образом влиять на чувствительность бактерий к антибиотикам. В связи с этим в данной работе изучено действие стрептомицина на бактерии *Escherichia coli*, мутантные по тиоловым редокс-системам. Устойчивость бактерий к стрессовым воздействиям оценивали по удельной скорости роста на минимальной среде М9 и колониеобразующей способности методом высева на Чашки Петри с LB-агаром по стандартной методике. При выполнении исследований использовалась библиотека делеционных мутантов *Escherichia coli* (Keio collection) по генам *gshA*, *gor*, *trxA*, *trxB*, *grxA*, *grxB* и их родительский штамм. Кроме того использовались двойные мутанты *gshAtrxA* и *gortrxB* сконструированные в Лаборатории физиологии и генетики микроорганизмов ИЭГМ УрО РАН.

Через 1 час экспозиции к стрептомицину все мутанты, за исключением *trxA*, демонстрировали повышенную устойчивость к этому антибиотику. Через 2 часа экспозиции мутанты по генам *gshAtrxA*, *gortrxB* и *trxA* имели одинаковую чувствительность с клетками родительского штамма. Остальные мутанты, особенно по глутатионкислородоредуктазе и обоим глутаредоксинам, оставались более устойчивыми к стрептомицину, чем родительский штамм.

Рост культуры родительского штамма полностью прекращался через 70 минут после добавления стрептомицина, в то время как *gshAtrxA* и *grxB* мутанты останавливали рост на 10 минут и 30 минут позже, соответственно, а остальные штаммы на 20 минут позже, чем родительские клетки. Обнаружена статистически значимая корреляция между выживаемостью и концентрацией пероксида водорода в среде ( $r = 0,7$ ,  $P < 0,05$ ).

При оптимальных температурах одни и те же мутанты проявляли различную устойчивость к стрептомицину, что свидетельствует скорее об участии продуктов мутантных генов в специфическом ответе клетки на антибиотик, чем об их роли в антиоксидантной защите от индуцированных антибиотиками АФК.

Исследования поддержаны грантом РФФИ №16-04-00762 и грантом Комплексной программы УрО РАН №15-4-4-16

## ЗАВИСИМОСТЬ ВЫХОДА БИОМАССЫ *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* В2 ОТ КОНЦЕНТРАЦИИ ГМФ-БУЛЬОНА В СРЕДЕ

Лень Н.В., Алексеев К.П., Волченко Н.Н., Самков А.А., Худокормов А.А., Карасёва Э.В.  
ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

*len.nikolaj@mail.ru*

Перспективным путем решения проблемы нефтяных загрязнений (рекультивация нефтезагрязненных территорий, очистка акваторий от нефтяных разливов) является применение штаммов микроорганизмов, ассимилирующих углеводороды нефти, адаптированных к конкретным условиям. Способность нефтеокисляющих микроорганизмов окислять углеводороды используются для биологической очистки экосистем, загрязненных нефтью и нефтепродуктами, в частности, при ликвидации нефтяных загрязнений.

Ключевой задачей культивирования нефтеокисляющих микроорганизмов является увеличение выхода биомассы. С этой целью нами был исследован эффект, включения в состав питательной среды, для наращивания культуры, гидролизата мяса ферментативного (ГМФ). ГМФ был выбран в качестве стимулирующей добавки как дополнительный источник широко круга факторов роста (преимущественно полипептидов и аминокислот), и предназначен для культивирования различных микроорганизмов. В данном случае ГМФ, выступает в качестве дополнительного и легко усвояемого источника азота и углерода.

В среду вносился гидролизат мяса ферментативный в концентрациях: 10; 1; 0,1 г/л. Приготовленные среды инокулировали суспензией клеток *Rhodococcus erythropolis* В2 смывтых с мясопептонного агара (МПА). В качестве контролей использовали инокулированную среду без ГМФ.

Максимальный выход биомассы наблюдался при внесении в среду ГМФ в концентрации 10 г/л, где полученные результаты в 8 раз превышают значения в контроле, а выход биомассы составил 2,4 г/л. С экономической точки зрения более выгодно вносить концентрацию ГМФ в количестве 1 г/л, поскольку при снижении выхода биомассы в 2 раза, затраты на ГМФ снижаются в 10 раз. Наименьшие изменения в увеличении биомассы отмечены при добавлении в среду роста ГМФ-бульона в концентрации равной 0,1 г/л, где значения выхода биомассы практически не отличаются от значений в контроле и составила 0,45 г/л.

В связи с этим более эффективным будет использование среды роста с содержанием ГМФ-бульона, для более быстрого накопления биомассы микроорганизмов, при этом нефтеокисляющие бактерии, не теряют способность к деструкции нефти и нефтепродуктов.

### ИЗУЧЕНИЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ПАТОГЕННЫХ АГРОБАКТЕРИЙ НА ВИНОГРАДНИКАХ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ

Макаркина М.В.<sup>1</sup>, Владимиров И.А.<sup>2</sup>, Ильницкая Е.Т.<sup>1</sup>, Матвеева Т.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства, Краснодар, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*konec\_citatu@mail.ru*

Агробактерии *Agrobacterium vitis* и *A. tumefaciens* – опасные фитопатогены, способные вызывать у винограда заболевание (бактериальный рак), которое в конечном итоге приводит к гибели растения. Это заболевание широко распространено на территории Краснодарского края и наносит большой ущерб виноградарским хозяйствам.

Для разработки и выбора мер борьбы с бактериальным раком необходима информация о встречаемости конкретных видов и штаммов патогена, а также о механизме его распространения по территории области (заражение молодых растений местными штаммами или высадка уже зараженного зарубежного посадочного материала).

Целью исследования являлось изучение видового состава и разнообразия штаммов агробактерий на виноградниках Краснодарского края. В качестве материала использовали 21 образец опухолей с растений разных сортов из различных виноградарских зон. ДНК из опухолей выделяли СТАВ-методом. Для видовой идентификации агробактерий применяли ПЦР-РВ с тест-системами к консервативным генам *pehA* (для *A. vitis*) и *VirD2* (для *A. tumefaciens*). Первая тест-система разработана специально для данной работы. Дальнейшее изучение штаммов производили путем амплификации фрагмента гена *virF* с последующим секвенированием по Сенжеру (секвенирование выполнено в РЦ «РМИКТ СПбГУ»).

По результатам исследования было выявлено следующее: все больные растения были заражены *A. vitis*, *A. tumefaciens* не был обнаружен ни в одном из образцов; при последующем секвенировании фрагментов гена *virF* у шести образцов из различных мест произрастания были получены идентичные сиквенсы, полностью совпадающие как друг с другом, так и с аналогичным фрагментом *virF* штамма *A. vitis* Ag57 из базы данных NCBI.

Такая картина противоречит гипотезе о постоянно происходящем завозе зараженного посадочного материала из-за рубежа и скорее свидетельствует о заражении растений на месте, что следует принимать во внимание при разработке стратегии борьбы с патогеном. Разработанная в рамках работы тест-система для гена *pehA* может далее применяться для скрининга растений в виноградарских хозяйствах.

### ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ АТТЕНУИРОВАННЫХ И ВИРУЛЕНТНЫХ ШТАММОВ ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ

Малоголовкин А.С., Титов И.А., Бурмакина Г.С.

ГНУ ВНИИ ветеринарной вирусологии и микробиологии Россельхозакадемии, пос. Вольгинский, Владимирская обл., Россия

*titoffia@yandex.ru*

Африканская чума свиней (АЧС) в настоящее время является одним из наиболее актуальных заболеваний сельскохозяйственных животных, наносящих большой экономический урон свиноводству. Данное заболевание является эндемичным на территории Российской Федерации с 2007 года, после заноса вируса с территории Грузии. Высокая степень изменчивости вируса АЧС служит причиной существования

множества популяций возбудителя, обладающих выраженной гетерогенностью и различающихся биологическими свойствами.

Предварительные данные рестрикционного картирования генома вируса АЧС свидетельствуют о наличии в левой концевой области генома вируса генов, кодирующих вирусспецифические белки, критически важные для фенотипического проявления иммунобиологических свойств возбудителя. Именно здесь расположены мультигенные семейства, функция которых до настоящего времени не установлена. Однако очевидно, что эти гены кодируют белки ферменты, активно участвующие в регуляции таких проявлений фенотипа вируса АЧС, как типовая принадлежность, вирулентность, иммуногенность и играют важную роль в патогенезе при АЧС.

Целью данной работы являлась дифференциация вирулентных и аттенуированных (вакцинных) штаммов вируса африканской чумы свиней на основе амплификации переменных фрагментов генома.

Для достижения поставленной цели в работе были использованы штаммы вируса АЧС различных сероиммунотипов (1,2,3,4,5,8). Выделение ДНК вируса АЧС производилось коммерческим набором QIAampDNAMiniKit (Qiagen, Германия) в соответствии с инструкцией производителя. В качестве мишени были выбраны три переменные области генома вируса АЧС: левая переменная область (5'), центральная и правая (3'). Для амплификации фрагментов генома были подобраны праймеры, фланкирующие целевые регионы генома вируса АЧС, на основе полногеномной последовательности штамма Georgia 2007 (FR682468.1). Амплификацию проводили методом Long-Range PCR с использованием набора LongAmpTaqPCRkit (New England Biolabs, USA), согласно инструкции производителя.

В результате работы было установлено, что все исследуемые аттенуированные штаммы вируса АЧС имели делецию на 5' конце генома по сравнению с вирулентными штаммами. Размер делеций варьировал и составлял от 1,5 кб. до 5 кб. Большую часть делетированных генов составляли члены мультигенных семейств. В центральной области генома, напротив, отмечали увеличение размеров генома аттенуированных штаммов, за счёт умножения количества tandemных повторов. В правой области генома вируса АЧС (3') различий в длине амплифицированных фрагментов отмечено не было.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 15-34-20995 мол\_a\_вед

## ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БАКТЕРИЙ *P. BRASSICACEARUM* S-1

Мандрик-Литвинкович М.Н., Муратова А.А., Носонова Т.Л., Валентович Л.Н., Титок М.А.,  
Коломиец Э.И.

ГНУ Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

*mandryk\_maryna@tut.by*

Флюоресцирующие бактерии рода *Pseudomonas*, являясь типичными представителями ризосферной микрофлоры, продуцируют широкий спектр биологически активных соединений с фитозащитными и ростстимулирующими свойствами и представляют особый интерес в качестве основы биологических средств защиты растений.

Целью настоящей работы являлась характеристика природных бактерий *Pseudomonas* sp. S-1, выделенных из лигноцеллюлозных отходов.

Установлено, что исследованный штамм обладает широким спектром антимикробной активности, подавляя рост фитопатогенных грибов (*Alternaria* sp., *Chaetomium* sp., *Colletotrichum* sp., *Botrytis* sp., *Fusarium* sp., *Helminthosporium* sp., *Plectosphaerella* sp., *Rhizoctonia* sp.) и бактерий (*Erwinia* sp., *Pseudomonas* sp.,

*Xanthomonas* sp.). Наряду с этим он характеризуется ростстимулирующими свойствами (ускоряет рост и развитие семян салата, капусты, томата, моркови).

Осуществлен полноразмерный сиквенс генома бактерий *Pseudomonas* sp. S-1. На основании анализа отдельных генетических детерминант, определяющих синтез первичных и вторичных метаболитов, выявлено их сходство с таковыми бактерий *P. fluorescens* F113 и *P. brassicacearum* NFM421 (гомология составляла 96 % - 99 %). Установлено, что исследованные бактерии способны продуцировать оранжево-коричневый флюоресцирующий пигмент, наличие которого связано с синтезом антибиотика 2,4-диацетилфлороглюцинол (2,4-ДАФГ). На основании физиолого-биохимических и молекулярно-генетических особенностей исследованные бактерии отнесены к виду *P. brassicacearum* S-1.

В геноме бактерий *P. brassicacearum* S-1 выявлены и охарактеризованы отдельные локусы, определяющие синтез вторичных метаболитов. В частности, синильной кислоты (*hcnA*, *hcnB*, *hcnC*), 2,4-диацетилфлороглюцинола (*phlA*, *phlC*, *phlB*, *phlD*, *phlE*, *phlI*, *phlF*, *phlG*, *phlH*) и пиовердина (*pvdA*, *pvdD*, *pvdE*, *pvdJ1*, *pvdJ2*, *pvdL*, *pvdO*, *pvdP*). Установлено, что инактивация гена *phlA* приводит к утрате способности бактерий *P. brassicacearum* S-1 синтезировать 2,4-ДАФГ и подавлять рост фитопатогенных грибов *Fusarium* (*F. culmorum*, *F. oxysporum*) и *Botrytis* (*B. cinerea*), а также снижает антимикробную

активность по отношению к патогенным грибам и бактериям (*A. alternata*, *P. syringae* и *P. carotovorum*). Инактивация регуляторного гена *phlF*, детерминирующего синтез транскрипционного репрессора *phl*-оперона, приводит к увеличению скорости синтеза 2,4-ДАФГ и способности исследованных бактерий подавлять рост фитопатогенов в низкой концентрации.

## ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА СЕКВЕНИРОВАНИЯ В ВИДОВОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ ФИТОПЛАЗМ

Матяшова Г.Н.<sup>1,2</sup>, Заец В.Г.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ Всероссийский центр карантина растений, п. Быково, Московская обл., Россия;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

researcherGM@mail.ru

Возбудители болезней сельскохозяйственных культур - фитоплазмы (*Candidatus Phytoplasma*), распространены повсеместно. Фитоплазмами поражаются многие овощные, плодовые, ягодные и декоративные культуры, а также лесонасаждения и сорные растения. В настоящее время фитоплазмы являются наименее изученной группой микроорганизмов. Многие методы диагностики затруднены специфическими факторами морфологии и биологии данных фитопатогенов. Возбудители фитоплазмозов имеют в своем жизненном цикле латентные периоды, содержатся в клетках своих хозяев в малых количествах, что препятствует качественной диагностике.

Надежным методом для диагностики и изучения фитоплазм является полимеразная цепная реакция (ПЦР). Одним из последних направлений в области обнаружения данных микроорганизмов стал широко применяться метод секвенирования. Используя процесс расшифровки нуклеотидных последовательностей участков ДНК и их анализ, появилась возможность выявлять и идентифицировать микроорганизмы, которые ранее не были определены с точностью до вида.

Изучали растительный материал, собранный в регионах России для выявления фитоплазмозов. Выделяли ДНК с применением коммерческого набора "DNeasy Plant mini Kit" (Qiagen, Германия). В работе исследовали участок 16S-23S гена рДНК фитоплазм. Для ПЦР использовали универсальные праймеры, визуализировали результаты амплификации методом горизонтального электрофореза в агарозном геле. Полученные фрагменты очищали на колонках (Thermo Fisher scientific group, Литва), от компонентов реакционной смеси, измеряли концентрацию на спектрофотометре NanoDrop2000 (США). Секвенирование проводили методом Сэнгера на генетическом анализаторе АВ-3500 (Applied Biosystems, США).

В результате проведенных исследований были впервые определены в России до вида следующие фитоплазмы, а также полученные участки размером около 1300 пар оснований депонировали в международную базу генетических данных: *Candidatus Phytoplasma rugi* (KU565868), *Candidatus Phytoplasma taraxacum* (KU720139), *Candidatus Phytoplasma cirsii* (KU745667), *Candidatus Phytoplasma prunorum* (KU578008), *Candidatus Phytoplasma solani* Bois noir и *Candidatus Phytoplasma rubi*.

Проведенные исследования расширили сведения о фитопатогенах рода *Candidatus Phytoplasma*. Проведи видовую идентификацию некоторых фитоплазм, встречающихся на территории России.

## МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДЕГРАДАЦИЯ БЕЛОГО ФОСФОРА, И ВКЛЮЧЕНИЕ ЕГО В ПРИРОДНЫЙ КРУГОВОРОТ ВЕЩЕСТВ

Миндубаев А.З.<sup>1</sup>, Волошина А.Д.<sup>1</sup>, Горбачук Е.В.<sup>2</sup>, Валидов Ш.З.<sup>2</sup>, Алимова Ф.К.<sup>2</sup>,  
Сапармырадов К.А.<sup>2</sup>, Яхваров Д.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН, Казань, Россия;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

mindubaev-az@yandex.ru; mindubaev@iopc.ru

Белый фосфор P<sub>4</sub> является одним из самых опасных загрязнителей окружающей среды. Но продукт его окисления фосфат необходим всем живым организмам. Целью настоящего исследования являлась переработка белого фосфора при помощи микроорганизмов.

Нашим коллективом впервые произведены посевы микроорганизмов различных таксономических групп (стрептомицетов, плесневых грибов из родов *Aspergillus* и *Trichoderma*) на культуральные среды, содержащие белый фосфор в качестве единственного источника фосфора, в концентрации до 1%. На данных средах микроорганизмы росли и не испытывали фосфорное голодание. То есть окисляли белый фосфор до фосфата, необходимого для жизнедеятельности. Это первый в мире пример включения белого фосфора в биосферный круговорот элемента фосфора. Самая высокая концентрация соответствует превышению ПДК белого фосфора в сточных водах в 5000 раз, а в водах хозяйственно-бытового назначения – в сто миллионов раз!

Для генетической идентификации микромицета, устойчиво метаболизирующего белый фосфор и по морфологическим признакам отнесенного к виду *A. niger*, была определена нуклеотидная

последовательность его регионов ITS1 и ITS2 (Internal Transcribed Spacer, между 18S и 25S рибосомальными генами, включающий 5.8S ген): транскрибируемые спейсеры между генами 18S – 5.8S, и 5.8S – 28S генами рРНК, соответственно. Сравнение полученной последовательности с последовательностями базы данных GenBank с помощью системы BLAST, выявила 99% гомологию с ITS1 и ITS2 регионами описанных штаммов *Aspergillus niger* NJA-1(Асс. KJ365316.1) и KAML02 (KC119204.1), что позволяет идентифицировать данный микроорганизм, как новый штамм *Aspergillus niger*. Ему мы присвоили номер *A. niger* AM1. Нуклеотидная последовательность штамма направлена в базу данных GenBank, где ей присвоен номер KT805426.

В опытном спектре  $^{31}\text{P}$  ЯМР, снятом с водной фазы, проявились сигналы соответствующие фосфиту и гипофосфиту. Таким образом, он соответствует соединениям, которые, предположительно, являются метаболитами белого фосфора, т.е., является подтверждением предполагаемого нами метаболического пути. Эти вещества могли образоваться только в результате окисления белого фосфора.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 14-08-31091 мол\_а).

## ВЫДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИЙ И БАКТЕРИОФАГОВ РОДА *BACILLUS* ИЗ РАЗНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ НИШ

Миндубаева Л.Н., Шах Махмуд Р.

Институт фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

*lyajsan.mindubaeva@ya.ru*

Широкое распространение генов устойчивости к антибиотикам среди патогенных микроорганизмов в настоящее время угрожает антибактериальной терапии. Исследования фагов в последние годы показали, что их численность на планете почти в  $10^{10}$  раз превышает численность бактерий планеты. Соответственно, бактериофаги способны инфицировать практически все бактерии земного шара. Таким образом, выделение бактериофагов является важным этапом для поиска новых лекарственных препаратов.

В связи с этим, целью исследования стало получение природных бактерий рода *Bacillus* и вирусов выделенных бактерий для поиска новых антибактериальных агентов.

Источником для выделения бактерий и их вирусов служила почва Альметьевского района Республики Татарстан трех разных типов: черноземная, лесная, полевая. Природные бактерии выделили при помощи метода серийных разведений почвенных образцов, с дальнейшим культивированием на агаризованной среде LB (Luria-Bertani). Выделение бактериофагов производилось в ходе инкубирования почвы с индикаторной культурой. Для определения наличия вирусов в образцах был использован метод Фишера, титр определяли методом агаровых слоев Грация.

В результате были выделены и определены видовые принадлежности 9 штаммов бактерий рода *Bacillus* на масс-спектрометре MALDI Biotyper (Bruker Daltonik, Германия). Установлено, что выделенные штаммы принадлежат 6 видам рода *Bacillus* (*B. altitudinis*, *B. cereus*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. pumilus*, *B. subtilis*). Штаммы подверглись проверке на наличие профага в геноме. Для этого использовалась модифицированная методика индукции умеренного фага при помощи прогревания и ультрафиолетовым облучением. Установлено отсутствие профагов в геноме бактерий.

Каждый тип почвы индивидуален по содержанию различных видов бацилл, титр бактерий также варьировал.

В работе были получены природные вирусы в суспензиях к 4 штаммам бактерий. Очистка фаголизата от бактериальной культуры и почвы проводилось путем осаждения, обработки хлороформом, микрофильтрацией при диаметре поры - 0.45 мкм, с использованием анионообменника на основе ДЕАЕ целлюлозы. В ходе дальнейшего размножения, был достигнут высокий титр фага -  $10^9$  БОЕ/мл. Установлено различное количественное содержание фагов в исследуемых почвенных образцах и отличия по свойствам образования бляшек.

Таким образом, нами были выделены 6 видов бактерий рода *Bacillus* из лесной, полевой и черноземной почв, и 4 штамма бактериофагов из полевой (*B. megaterium*, *B. pumilus*) и черноземной (*B. altitudinis*, *B. subtilis*) почв.

## АНАЭРОБНАЯ КОНВЕРСИЯ КУРИНОГО ПОМЕТА СООБЩЕСТВОМ АНАЭРОБНЫХ БАКТЕРИЙ И АРХЕЙ

Мирзиев С.И.<sup>1,2</sup>, Зиганшина Э.Э.<sup>1</sup>, Шушляев Р.В.<sup>2</sup>, Зиганшин А.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН, Казань, Россия

*mirziev.samat@yandex.ru*

Альтернативные источники энергии, а также новые энергосберегающие технологии, их поиск и разработка являются сегодня актуальной задачей. Получение биогаза при помощи анаэробных реакторов

можно отнести как к энергосберегающим технологиям, так и к альтернативным источникам энергии. Кроме того, отходы анаэробной конверсии можно использовать в качестве сельскохозяйственных удобрений. Куриный помёт является одним из наиболее привлекательных сырьевых источников для данной отрасли. Он обладает высоким потенциальным выходом биогаза в конечном продукте. Однако получению большого объема газа на выходе препятствует высокое содержание мочевой кислоты и остаточных белков в исходном субстрате. Большое содержание этих веществ ведёт к накоплению аммонийного азота ( $\text{NH}_4^+$ ) – нежелательному компоненту в биогазовых реакторах, так как он ингибирует рост и развитие микробного сообщества внутри биогазового реактора. Эффективным решением проблемы может быть добавление в процесс конверсии вещества, способного к ионному обмену. Одним из наиболее известных и распространённых структур, способных к ионному обмену, являются цеолиты. Цеолиты способны задерживать аммонийный азот на неопределённое долгое время. Ещё одним решением озвученной выше проблемы является снижение времени удержания сырья в реакторе, что приводит к более эффективному вымыванию аммонийного азота из реактора.

Цель работы: изучить влияние двух методов нейтрализации влияния аммонийного азота на анаэробные микробные сообщества, а также определить структуру микробных сообществ биореакторов.

Культивирование анаэробных микробных сообществ происходило в реакторах объёмом 10 литров, с дозированным притоком свежего сырья в виде куриного помёта и отходом использованного. В реакторы был ограничен доступ кислорода, также внутри реакторов поддерживалась постоянная температура 38-40°C и постоянный pH на уровне 7-8. В работе также был использован метод амплификации и пиросеквенирования генов 16S рРНК, позволивший расшифровать состав микробного сообщества биореакторов. Методы оценки работоспособности биогазовых реакторов: показатель выхода газа, качественный анализ газа, содержание органического сухого остатка, содержание аммонийного азота, содержание летучих жирных кислот.

Результаты исследования показывают, что наличие цеолитов в биогазовых реакторах повышает выход биогаза. Снижение времени удержания субстрата в реакторе понижает концентрацию аммиака, но не увеличивает выход биогаза. Пиросеквенирование показало, что в микробном сообществе преобладают бактерии порядка *Clostridiales* и археи семейства *Methanosarcinaceae*.

## МИКРОБНЫЕ БИОПЛЕНКИ КАК ОБЪЕКТЫ ДЛЯ ДЕЙСТВИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРОТЕИНАЗ

Митрофанова О.С., Шарипова М.Р.

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

*mitrofaolga@gmail.com*

Бактерии рода *Serratia* являются частым возбудителем оппортунистических заболеваний, вызывая инфекции дыхательных и мочевыводящих путей, сепсис, пневмонию и другие. Одним из механизмов, повышающих вирулентность и патогенность возбудителя, является формирование биопленок. Развитие бактериальных биопленок и их возрастающая антибиотикорезистентность указывают на необходимость поиска и разработки новых антибактериальных препаратов.

Объектом исследования является штамм бактерий *Serratia marcescens* SR-41-8000, клинический изолят, выделенный от больных с инфекциями мочевыводящих путей. Бактерии выращивали в 12-луночных планшетах при температуре 30°C и оценивали интенсивность биопленкообразования по степени связывания ими кристаллического фиолетового. Для исследования ультраструктуры биопленок методом сканирующей электронной микроскопии бактерии выращивали на поливинилхлоридных катетерах.

Изучали способность *S. marcescens* SR-41-8000 образовывать биопленки в зависимости от состава среды и времени культивирования. Были использованы богатые питательные среды Luria-Bertani (LB), Mueller-Hinton (MH) и минимальная среда M9 с 0.5 % глюкозой. На четвертый день культивирования на минимальной среде биопленкообразование не наблюдали, тогда как на богатых питательных средах LB и MH структура биопленок отличалась интенсивной продукцией бактериальными клетками слизистого межклеточного матрикса. Динамика образования биопленок на среде MH показала, что на первый и второй день культивирования клетки адгезировались на поверхности катетера и начинали продукцию внеклеточного полимерного вещества. Далее различия в строении биопленок увеличивались, и на шестой день мы отмечали наличие зрелой биопленки с погруженными во внеклеточный защитный матрикс клетками. Для грамотрицательных бактерий описано образование нитей бета-амилоидного белка, участвующих в формировании биопленок. Наличие способности к синтезу бета-амилоидов у исследуемого штамма установили тестированием с использованием LB-агара с конго красным. По связыванию с красителем было определено, что на четвертый день культивирования резко возрастает и далее увеличивается продукция внеклеточных бета-амилоидных структур, которые могут быть объектами для действия протеиназ. Применение бациллярных ферментов в качестве матрикс-деградирующих агентов является перспективным направлением в области разработки способов борьбы с биоплёнками. Методами



электронно-микроскопического анализа будет проведено сравнительное исследование по изучению ультраструктуры биопленок *S. marcescens* под действием протеиназ *Bacillus pumilus*.

**ИССЛЕДОВАНИЕ ШТАММА *GLUCONACETOBACTER XYLINUS* (*KOMAGATOEIBACTER RHAETICUS*) CALU-1629 СИНТЕЗИРУЮЩЕГО НАНОЦЕЛЛЮЛОЗУ В СВЕТЕ СОВРЕМЕННОЙ РЕВИЗИИ СИСТЕМАТИКИ УКСУСНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ ПОСЛЕ 20-ЛЕТНЕГО ХРАНЕНИЯ**

**Мошкина В.Н.<sup>1</sup>, Райко М.П.<sup>2</sup>, Мигунова А.В.<sup>1</sup>, Ткаченко А.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup> Центр биоинформатики им. Ф. Г. Добржанского ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*snovydenie@yandex.ru*

Уксуснокислые бактерии *Gluconacetobacter xylinus* - модельная система для исследования биосинтеза бактериальной целлюлозы (БЦ), используемой в медицине, технической индустрии, нанотехнологии, пищевой промышленности и диетологии.

В 1995 году нами был выделен синтезирующий целлюлозу штамм, первоначально идентифицированный на основании фенотипических признаков как *Gluconacetobacter xylinus*. Растущая культура бактерий образует целлюлозную гель-пленку на поверхности жидкой питательной среды с заключенными в ней бактериальными клетками. Клетки грамотрицательные, палочковидные, 0,5-0,8 x 1-4 мкм, одиночные, в парах, либо в виде небольших кластеров, эндоспор не образуют. Подвижность клеток зависит от способа существования (жидкая фаза, колонии). Колонии имеют форму шара на ножке или на плоской подошве, диаметром 1,5-3,0 мм, прозрачно-белого цвета, блестящие, целиком снимающиеся с агара. При старении становятся бородавчатыми с матовой поверхностью и приобретают розовую окраску.

Показано, что в качестве источника углерода бактерии используют сахара, сахароспирты, лактат кальция, этанол, метанол и другие соединения. Бактерии окисляют этанол до ацетата с последующим переокислением его до углекислоты и воды, что является определяющим признаком рода *Gluconacetobacter*. Бактерии образуют глюконовую, 2-кето и 5-кетоглюконовые кислоты из глюкозы, растут в присутствии повышенных концентраций глюкозы (30%), проявляют толерантность к повышенной концентрации этанола (10%), не нуждаются в уксусной кислоте для роста, но растут в ее присутствии. Образуют кислоты на различных сахарах и сахароспиртах, но не на сахарозе. Очень хорошо развиваются на манните с образованием кислых продуктов.

Показана фенотипическая стабильность выделенного штамма при его многолетнем хранении. Штамм не обнаруживает способности к расщеплению на варианты, не образующие БЦ, что свидетельствует о его генотипической стабильности. На основании генотипирования (секвенирования гена 16S рРНК) исследуемый штамм обнаруживает 99,9% сходства с видом *Gluconacetobacter rhaeticus* (*Komagatoeibacter rhaeticus* в соответствии с современной классификацией уксусно-кислых бактерий, основанной на «полифазном» подходе).

**ХАРАКТЕРИСТИКА ТРАНСПОЗОННЫХ МУТАНТОВ БАКТЕРИЙ *PSEUDOMONAS BRASSICACEARUM* БИМ В-446**

**Муратова А.А., Мандрик-Литвинкович М.Н., Носонова Т.Л., Валентович Л.Н., Коломиец Э.И.**  
ГНУ Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

*Anutik-2041@ya.ru*

Бактерии рода *Pseudomonas* – одна из наиболее изученных групп бактерий-антагонистов почвенных фитопатогенов. Представители данного рода способны продуцировать широкий спектр вторичных метаболитов, в том числе антибиотиков и пигментов (феназин, флороглюцинол, пиолнотеорин, пирролнитрин, пиовердин, оомицин и др.). Данные соединения способны подавлять развитие возбудителей опасных заболеваний сельскохозяйственных растений (в частности, гнилей корневой шейки зерновых и плодовых культур, сосудистые и паренхиматозные поражения картофеля, капусты и др.).

Целью настоящей работы являлась характеристика транспозонных мутантов бактерий *Pseudomonas brassicacearum* БИМ В-446, обладающих широким спектром антимикробной активности и стимулирующих рост и развитие ряда сельскохозяйственных культур.

В результате введения в клетки *P. brassicacearum* БИМ В-446 суицидного вектора pUT::mini-Tn5хуIЕ было отобрано более 100 транспозонных мутантов, для которых была изучена подвижность, наличие флюоресцирующего пигмента и антимикробная активность по отношению к разным патогенам сельскохозяйственных культур. Установлено, что мутантные бактерии *P. brassicacearum*::mini-Tn5хуIЕ 31 и

*P. brassicacearum::mini-Tn5xylE* 67 по сравнению с исходным штаммом проявляли повышенную антагонистическую активность к патогенам *Pectobacterium carotovorum*, *Pseudomonas syringae*, *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum lupini*, *Fusarium oxysporum*. Мутанты *P. brassicacearum::mini-Tn5xylE* 51 и *P. brassicacearum::mini-Tn5xylE* 70 утрачивали антибактериальную, но подавляли развитие патогенных грибов *Botrytis cinerea* и *Colletotrichum lupini*. Молекулярно-генетический анализ отобранных мутантов, позволил установить, что изменения исследованных признаков обусловлены встраиванием транспозона mini-Tn5 в разные локусы хромосомы исследованных бактерий. Например, у мутанта *P. brassicacearum::mini-Tn5xylE* 31 встраивание транспозона произошло в ген *lysR*, кодирующий регуляторный LysR-транскрипционный фактор. У мутанта *P. brassicacearum::mini-Tn5xylE* 67 произошло нарушение гена, детерминирующего синтез полисахарид деацетилазы. У мутантных вариантов *P. brassicacearum::mini-Tn5xylE* 51 и *P. brassicacearum::mini-Tn5xylE* 70 встраивание мобильного генетического элемента привело соответственно к инактивации генов, предположительно определяющих синтез Zeta-токсина и SAM-зависимой метилтрансферазы.

### НОКАУТИРОВАНИЕ ГЕНА ЭФФЛЮКС-СИСТЕМЫ *SMFY SERRATIA MARCESCENS*

Мухаметзянова Л.Д.<sup>1</sup>, Камалетдинова Л.Х.<sup>1</sup>, Шарипова М.Р.<sup>1</sup>, Богомольная Л.М.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия; <sup>2</sup> Научный центр здоровья техасского университета A&M, Техас, США

*bbe.laboratory@gmail.com*

Как известно, основным методом борьбы с патогенными бактериями являются антибиотики, в связи с чем устойчивость микроорганизмов к антибиотикам на сегодняшний день является одной из серьезнейших проблем. Грамотрицательная бактерия *Serratia marcescens*, представитель семейства *Enterobacteriaceae*, известна своей способностью вызывать в организме человека сепсис, пневмонию и инфекции мочевыводящих путей. При этом установлено, что *S. marcescens* устойчивы к довольно большому количеству антибиотиков (к  $\beta$ -лактамам антибиотикам, макролидам и цефалоспорином), что, безусловно, вызывает сложности при лечении.

Антибиотикоустойчивость *S. marcescens* обусловлена присутствием в их клеточной поверхности особых белков - эффлюкс-систем – транспортных насосов, выводящих антибиотики из клетки бактерий. В геноме *S. marcescens* идентифицированы гены эффлюкс-систем различных типов, одна из которых - MFS (The Major Facilitator Superfamily). Эффлюкс-системы MFS типа представляют собой вторичные транспортеры, использующие в качестве источника энергии протонную движущую силу, белки этих эффлюкс-систем содержат большое число гидрофобных остатков, в это семейство входит белок SmfY. Целью нашей работы является изучение влияния эффлюкс-системы SmfY на антибиотикорезистентность *S. marcescens*. Для исследования нами был выбран беспигментный штамм-изолят *S. marcescens* SR41-8000.

Для изучения функций гена *smfY* нами было проведено его нокаутирование и замена на ген устойчивости к хлорамфениколу. Инактивацию гена проводили с помощью метода ПЦР и системы рекомбинации фага  $\lambda$ -ред. Полученные трансформанты высевали на среде с добавлением хлорамфеникола, нокаутирование гена подтвердили методом ПЦР. Затем был проведен анализ устойчивости полученных мутантов к перекиси водорода, в качестве контроля был использован дикий тип штамма *S. marcescens* SR41-8000. Результаты анализа показали, что трансформанты с нокаутированным геном *smfY* не обладают устойчивостью к перекиси водорода, в отличие от дикого типа, что может свидетельствовать о том, что эффлюкс-система SmfY, помимо антибиотикорезистентности, отвечает за защиту *S. marcescens* от активных форм кислорода. В настоящий момент фенотипы мутантных штаммов активно исследуются для детального изучения функций эффлюкс-системы SmfY.

Работа выполнена в рамках государственной программы повышения конкурентоспособности Казанского (Приволжского) федерального университета среди ведущих мировых научно-образовательных центров и гранта РФФИ 15-04-02110.

### ПОЛИМИКРОБНЫЕ БИОПЛЕНКИ КАК ФАКТОР ВЫЖИВАЕМОСТИ ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ

Мухаметзянова С.Р., Трizza Е.Ю., Курбангалиева А.Р., Каюмов А.Р.

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

*smukhametzyanova@gmail.com*

Многие бактерии способны образовывать прочные биопленки, в которых клетки погружены в выделяемый ими полисахаридный матрикс. В составе биопленки они становятся неуязвимы для защитной системы организма, а также устойчивы к обработке бактерицидными препаратами и являются причиной хронических воспалительных процессов. В течение долго времени интенсивно исследовались

мономикробные биопленки, без учета синергизма бактерий в полимикробной биопленке. За счет таких взаимоотношений возрастает устойчивость бактерий к более широкому спектру антибактериальных веществ. Следовательно, одним из направлений в фармакологии является разработка комплекса препаратов, который бы эффективно подавлял рост и образование полимикробных биопленок.

Целью работы было получение лабораторной модели полимикробных биопленок и оценка жизнеспособности бактерий в них в присутствии антибактериальных веществ.

Проведена предварительная оценка того, какие бактерии находятся на поверхности катетеров, установленных в организме на длительное время и, следовательно, являются основными причинами внутрибольничных инфекций. Основными микроорганизмами на поверхности катетеров являются грамположительные бактерии, 39% которых составляют стафилококки.

Получена модель полимикробной биопленки, в состав которой входили клетки *S.aureus* и *P.aeruginosa*, которые являются основными возбудителями внутрибольничных инфекций. В нашей лаборатории был проведен скрининг производных 2(5Н)-фуранона, подавляющих рост и развитие биопленок в отношении исследуемых штаммов. В результате был отобран фуранон F105, действующий на наибольшее количество бактерий. Для отобранных штаммов были установлены минимальные подавляющие концентрации (МПК): *S. aureus* – 5 мкг/мл, *P. aeruginosa* – 20 мкг/мл. При культивировании *S. aureus* в присутствии F105 уже в концентрации 5 мкг/мл не образовывалось биопленки, при дифференциальном флуоресцентном окрашивании наблюдалось небольшое количество мертвых клеток. *P. aeruginosa* еще образовывала биопленку при концентрации 10 мкг/мл. Однако в составе полимикробной биопленки, включающей *S. aureus* и *P. aeruginosa*, при концентрации 10 мкг/мл образовывалась биопленка, в составе которой все бактерии оставались жизнеспособными. Таким образом, в составе полимикробных биопленок повышается жизнеспособность бактерий. Дальнейшие исследования будут направлены на поиск причин данных взаимоотношений.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (Проект №15-14-00046)

#### УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОК ФИТОПАТОГЕННОЙ БАКТЕРИИ *PECTOBACTERIUM ATROSEPTICUM* SCRI1043 ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С РАСТЕНИЕМ-ХОЗЯИНОМ

Нуриахметова Ч.Б.<sup>1</sup>, Даминова А.Г.<sup>2</sup>, Петрова О.Е.<sup>2</sup>, Агеева М.В.<sup>2</sup>, Гоголев Ю.В.<sup>1,2</sup>, Горшков В.Ю.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань, Россия

*grifindoor@mail.ru*

При формировании взаимоотношений между фитопатогенными бактериями и растениями, как в организме хозяина, так и паразита происходят значительные морфологические и физиологические изменения. Фитопатогенные бактерии могут образовывать гетерогенные структурированные популяции *in planta*. В настоящей работе в качестве модели нами была использована патологическая система, включающая безвирусные растения картофеля (*Solanum tuberosum* сорт «Desire») и фитопатогенную бактерию *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043 (*Pba*). Этот фитопатоген проявлял вирулентность в отношении растений картофеля. Формирование специфичной патосистемы характеризовалось значительной вариабельностью симптомов заболевания. С использованием методов конфокальной и электронной микроскопии нами были проанализированы инфицированные растения с симптомами увядания (вилта) и «черной ножки». При симптомах вилта картофеля клетки *Pba* либо обособленные, либо в виде небольших скоплений обнаруживали как в межклетниках коровой паренхимы, так и в сосудах ксилемы. Кроме того, в сосудах нами были обнаружены бактериальные эмболы- «многоклеточные» структуры, состоящие из плотно упакованных, пространственно ориентированных бактериальных клеток, которые полностью закупоривают люмен сосуда и обеспечивают нисходящую миграцию микроорганизмов. При развитии «черной ножки» у картофеля основная масса бактериальных клеток локализовалась в межклетниках коровой паренхимы. Клетки *Pba* этой субпопуляции характеризовались увеличенным периплазматическим пространством; наличием небольших инвагинаций и мембранных везикул на внешней поверхности оболочки, а также зон контактов между близлежащими клетками. В сосудах ксилемы при этом накапливались различные по структуре субстанции, которые закупоривали люмен. С помощью методов ПЦР в реальном времени и подсчета колониеобразующих единиц нами было выяснено, что клетки *Pba* в растениях картофеля преимущественно локализовались в основании стебля. В средней части стебля количество микроорганизмов было на 1-2 порядка величин меньше. Верхняя часть стебля практически всегда оставалась стерильной. Уже на начальных стадиях инфекции до проявления признаков заболевания титр бактериальных клеток *in planta* достигал значения 1 млн. клеток/грамм сырого веса. Дальнейшее увеличение титра клеток *Pba* приводило к гибели растения-хозяина. Было показано, что клетки пектобактерии могут системно распространяться по тканям инфицированного растения, проникать в

дочерние клубни, где они впадают в покоящееся некультивируемое состояние. Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 15-14-10022, РФФИ № 14-04-01750-а.

### **ВЛИЯНИЕ ЦИПРОФЛОКСАЦИНА И ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА *KATG* У БАКТЕРИЙ *ESCHERICHIA COLI*, РАСТУЩИХ НА РАЗЛИЧНЫХ ИСТОЧНИКАХ УГЛЕРОДА И ЭНЕРГИИ**

**Петерс М.А., Октябрьский О.Н., Смирнова Г.В.**

ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

*muxeu.mhz@gmail.com*

Ципрофлоксацин (ЦФ), относящийся к фторхинолонам, является высокоэффективным и широко используемым антибиотиком. Токсичность его действия на бактерии связана с ингибированием синтеза ДНК. Поскольку было показано, что в аэробных условиях в механизм бактерицидного действия хинолонов могут быть вовлечены активные формы кислорода, представляло интерес проследить за изменениями экспрессии антиоксидантного гена *katG*, кодирующего каталазу НР1, при действии ЦФ, а также  $H_2O_2$  на бактерии *Escherichia coli*, растущие на различных источниках углерода и энергии. В отсутствие антибиотика и перекиси водорода экспрессия *katG* (маркер окислительного стресса), в значительной степени, зависела от используемого источника углерода и энергии, в качестве которых использовались глюкоза, сукцинат,  $\alpha$ -кетоглутарата малата и ацетат. При росте на сукцинате,  $\alpha$ -кетоглутарате, малате и ацетате экспрессия *katG* была выше, чем при росте на глюкозе, соответственно, в 1.4, 1.5, 1.7 и 2.5 раза. Экспозиция бактерий к 0.1 мМ  $H_2O_2$  приводила к увеличению экспрессии *katG* в 1.4 раза при росте на глюкозе и сукцинате, в 1.3 раза – на малате и  $\alpha$ -кетоглутарате и в 1.5 раза при росте ацетате. Через час уровень экспрессии возвращался к контрольным значениям. Обработка растущих бактерий 0.3 мкг/мл ЦФ в течение двух часов приводила к снижению экспрессии *katG* в 1.3 раза в среде с ацетатом и в 2 раза при росте на других субстратах. Более высокая доза ЦФ (3 мкг/мл) действовала слабее, снижая экспрессию в 1,2 раза при росте на всех субстратах, кроме ацетата, в котором экспрессия *katG* относительно контроля оставалась неизменной.

Исследования поддержаны грантом РФФИ № 16-04-00762.

### **АНАЛИЗ НУКЛЕОТИДНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ФАГА PF-10 БАКТЕРИЙ *PSEUDOMONAS***

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

ГНУ Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

*tanya.pilipchuk@tut.by*

Вирусы являются самыми эффективными регуляторами численности природных микроорганизмов. Бактериофаги, способные лизировать патогенные бактерии, представляют прекрасную альтернативу антибиотикам. Одним из преимуществ данных антимикробных агентов является высокая специфичность действия. Поиск и характеристика бактериофагов, способных лизировать определенные виды бактерий, создает основу для их практического использования.

Бактериофаг Pf-10 был выделен из листьев пораженного растения фасоли. Установлено, что данный вирус способен лизировать некоторые виды бактерий рода *Pseudomonas*, достаточно часто выявляемые в водных экосистемах (*P. moraviensis*, *P. plecoglossicida* и *P. frederiksbergensis*).

Нуклеотидную последовательность генома фага Pf-10 определяли с использованием метода Illumina на приборе MiSeq. Качество полученных данных проверяли с помощью программы FastQC. Секвенированные последовательности редактировали с использованием программы Trimmomatic-0.33, собирали в контиги с помощью программы SPAdes-3.6.0. Картирование последовательностей ДНК производили с помощью Bowtie2, поиск генов осуществляли с помощью программы BLAST. Нуклеотидная последовательность секвенированного генома фага Pf-10 депонирована в ГенБанке NCBI под номером KR025626.1.

Анализ нуклеотидной последовательности генома фага Pf-10 размером 39 167 п.н. позволил установить, что данный линейный двухцепочечный вирус относится к группе T-7 подобных бактериофагов рода *Autographivirinae*, семейства *Podoviridae*, отряда *Caudovirales*.

В пределах секвенированной последовательности фага Pf-10, содержащей 56,5% ГЦ-пар, установлено 46 генов, детерминирующих синтез белков, определяющих разные этапы литического цикла (в частности, синтез лизоцима, РНК-полимеразы, хеликазы, эндо- и экзонуклеазы, белков капсида, хвостового отростка и др.). Гены и детерминируемые ими белки бактериофага Pf-10 проявляли наибольшее сходство с таковыми фага phiIBB-PF7A (GU583987) бактерий *Pseudomonas fluorescens* и фага Phi-S1 (JX173487), способного лизировать широкий круг бактерий рода *Pseudomonas*. Причем ранние гены бактериофага Pf-10 в большей степени гомологичны фагу Phi-S1, а поздние – фагу phiIBB-PF7A.

## ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ОБИТАНИЯ НА ФОРМИРОВАНИЕ НЕКУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТОК САЛЬМОНЕЛЛ ПОД ДЕЙСТВИЕМ СТРЕССА

Пиядина А.Ю.<sup>1,2</sup>, Пахомов Ю.Д.<sup>1</sup>, Блинкова Л.П.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ НИИ Вакцин и Сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова  
Минздрава России, Москва, Россия

angel\_\_\_l@mail.ru

В условиях стресса микроорганизмы прекращают процессы, связанные с ростом и размножением, а так же в различной степени остальные обменные процессы и образуют некультивируемые или покоящиеся формы. Выявление и изучение микроорганизмов, находящихся в некультивируемом (покоящемся) состоянии в различных биотопах (почва, вода, организм человека, животных, простейших, пищевые продукты и т.д.) является важной микробиологической проблемой.

Цель работы: изучение влияния условий обитания на формирование некультивируемых клеток *S. enterica* серотипе *Typhimurium* под действием стресса.

Материалы и методы: в работе использован музейный штамм *S. enterica Typhimurium* 79, в который введена плазида RP4, содержащая гены устойчивости к ампициллину, канамицину и тетрациклину. Для получения посевной культуры клетки изучаемого штамма трижды пассировали на питательном бульоне, содержащем 100 мкг/мл ампициллина и 50 мкг/мл канамицина. Далее для изучения влияния предшествующих условий обитания на процесс перехода в НК клетки вносили в различные субстраты: почва (популяция S), водопроводная вода (W), салат из свежих овощей (V), фарш из мяса птицы (P) и питательный бульон без антибиотиков (контроль - C). Пробы инкубировали в течение 7 дней. Затем клетки из субстратов высевали на плотный питательный агар с ампициллином и канамицином. Выросшие колонии переносили во флаконы, содержащие искусственную морскую воду (условия стресса). Флаконы инкубировали при комнатной температуре. Периодически отбирали пробы для определения величины КОЕ/мл, общего количества клеток в суспензии и доли живых клеток (после окрашивания с помощью набора Live/Dead®).

Результаты: жизнеспособность популяции была на уровне 99,9%. В первые 6 суток величина КОЕ/мл снизилась в контроле в 3,35 раза ( $3,93 \cdot 10^7/\text{мл}$  -  $1,17 \cdot 10^7/\text{мл}$ ), в остальных вариантах – в один порядок. Для варианта S динамика образования НК характеризовалась медленным стартом, но к трем месяцам инкубации в этой популяции выявляли единичные колонии. Высеваемость остальных вариантов оставалась на уровне  $2,2 \cdot 10^4/\text{мл}$  –  $2,57 \cdot 10^5/\text{мл}$ .

Выводы: изучена динамика образования НК *S. enterica Typhimurium* 79 в зависимости от времени пребывания в условиях стресса - морской воде. Показано, что в стационарных условиях популяция клеток *S. enterica Typhimurium* 79, предынкубированная в почве, к трем месяцам переходит в некультивируемое состояние практически полностью, в то время как в других субстратах сохраняется достаточно высокая высеваемость. Можно предположить, что клетки в образце S оказались более чувствительными к условиям стресса.

## ХАРАКТЕРИСТИКА АНТИБИОТИКОУСТОЙЧИВОСТИ ЭНТЕРОКОККОВ

Плотникова Д.Т., Сидоренко А.В., Новик Г.И.

ГНУ Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

danutaplotnikava@gmail.com

Бактерии рода *Enterococcus* широко используются в пищевой биотехнологии, являются частью симбиотической микробиоты млекопитающих, и могут выступать в качестве переносчиков генов антибиотикоустойчивости. Характеристика антибиотикоустойчивости бактерий рода *Enterococcus* является актуальной задачей, поскольку позволяет углубить знания о распространении данного признака среди энтерококков, а также отобрать культуры, не содержащие трансмиссибельных детерминант антибиотикоустойчивости, пригодные для использования в пищевой промышленности.

Изучен спектр устойчивости 9 коллекционных штаммов энтерококков, относящихся к видам *Enterococcus faecium* и *Enterococcus faecalis*, к антибиотическим препаратам с различным механизмом действия. Анализ антибиотикорезистентности проводили с помощью диско-диффузионного метода и метода двойных микроразведений согласно требованиям Европейского агентства по продовольственной безопасности (EFSA). Все тестируемые штаммы характеризовались резистентностью к ампициллину, клиндамицину, были чувствительны к ванкомицину. Устойчивость к канамицину проявляли 8 штаммов энтерококков, тетрациклину и хлорамфениколу – 5 штаммов, эритромицину – 1 штамм.

Согласно многочисленным данным, даже чувствительные к антибиотикам микроорганизмы могут являться носителями генов антибиотикоустойчивости. Для выявления у анализируемых штаммов энтерококков генетических детерминант антибиотикорезистентности использовали метод ПЦР с праймерами, комплементарными генам устойчивости к хлорамфениколу (*cat*), эритромицину (*ermA*, *ermC*,

*ermF*, *ermB*, *ermT*, *ermX*), тетрациклину (*tetM*, *tetO*, *tetW*, *tetK*), ванкомицину (*vanA*, *vanB*, *vanC1*, *vanC2/C3*). По результатам исследования, у 5 штаммов *E. faecium* и 1 штамма *E. faecalis* обнаружен ген *tetM* (продукт размером 444 п.н.), кодирующий белок, защищающий 30S субъединицу рибосомы от воздействия тетрациклина. Определены нуклеотидные последовательности амплифицированных фрагментов гена *tetM*, проведено их сравнение с последовательностями, имеющимися в международной базе данных генов антибиотикорезистентности (ARDB – Antibiotic Resistance Genes Database). По результатам филогенетического анализа выявлено сходство последовательностей генов *tetM* исследуемых штаммов *E. faecium* с референтными последовательностями генов *tetM*, локализованных в составе транспозонов *Tn5253*, *Tn5251*, *Tn2009 Streptococcus pneumoniae*, а также в геноме *Staphylococcus agalactiae* и *Staphylococcus suis*.

### ИНГИБИРОВАНИЕ СПОРООБРАЗОВАНИЯ КЛЕТОК *BACILLUS SUBTILIS* НЕКОТОРЫМИ ВИДАМИ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ УЛЬТРАМИКРОБАКТЕРИЙ

Поливцева В.Н.<sup>1</sup>, Шорохова А.П.<sup>1</sup>, Холоденко В.П.<sup>2</sup>, Росс Д.В.<sup>1</sup>, Сузина Н.Е.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия

*kaistia@gmail.com*

Среди широко распространенных в природе бактерий рода *Bacillus* встречаются возбудители заболеваний растений, насекомых, животных и человека. Бациллы известны своей способностью к формированию конституционных форм покоя – спор, которые могут длительное время сохраняться без потери жизнеспособности в неблагоприятных условиях, что представляет потенциальную угрозу вспышки инфекционных заболеваний. Актуальным направлением современной эпидемиологии является поиск и изучение способов подавления спорообразования у патогенных бактерий.

Моделирование условий подавления спорообразования осуществляли в условиях культивирования *B. subtilis* ATCC 6633 в виде бинарных культур с представителями следующих грамотрицательных ультрамикробактерий (УМБ): *Kaistia* sp. NF1; *Chryseobacterium* sp. NF4 и *Stenotrophomonas* sp. FM3. Клетки штаммов NF1 и NF4 характеризуются способностью к эбибиозу на поверхности вегетативных клеток *B. subtilis* ATCC 6633. Клетки штамма FM3 обладают высокой антимикробной активностью в отношении широкого спектра бактерий, возрастающей после выхода клеток из покоящегося состояния.

Мониторинг спорообразования осуществляли через каждые 2 ч культивирования путем прямого микроскопирования и количественной оценки процентного соотношения спор и вегетативных клеток в полях зрения.

Установлено, что модельные штаммы УМБ обладают способностью существенно подавлять процесс спорообразования *B. subtilis* ATCC 6633. Ингибирование спорообразования выражается в задержке спорообразования на трое и более суток, снижении урожая эндоспор в 2-3 раза по сравнению с контрольным вариантом и удлинении периода созревания спор.

Показано, что наиболее выраженное подавление спорообразования наблюдалось в бинарной культуре клеток *B. subtilis* ATCC 6633 и *Kaistia* sp. NF1.

Особенностью культивирования бинарной культуры клетки *Stenotrophomonas* sp. FM3 и *B. subtilis* ATCC 6633 был лизис 13% вегетативных клеток бацилл через 24 ч инкубирования. Снижение количества спор в этих условиях по сравнению с контролем является, вероятно, следствием лизиса части вегетативных клеток.

Предполагается, что грамотрицательные ультрамикробактерии изученных родов принимают участие в регуляции численности *B. subtilis* в природных местообитаниях и могут быть использованы в разработках методов биотехнологии защиты окружающей среды.

Работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-04-01347 и научно-исследовательской работы № 692 в рамках базовой части государственного задания в сфере научной деятельности по заданию № 2014/281.

### РАСПРОСТРАНЕНИЕ СКРУЧИВАНИЯ ЛИСТЬЕВ ВИНОГРАДА НА ТЕРРИТОРИИ КРЫМА

Поротикова Е.В.<sup>1</sup>, Рисованная В.И.<sup>2</sup>, Волков Я.А.<sup>2</sup>, Дмитренко Ю.Д.<sup>1</sup>, Володин В.А.<sup>2</sup>,

Гориславец С.М.<sup>2</sup>, Странишевская Е.П.<sup>2</sup>, Камионская А.М.<sup>1</sup>, Виноградова С.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН ВНИИ виноградарства и виноделия «МАГАРАЧ»

РАН, Ялта, Россия

*svetlana.vinogradova@biengi.ac.ru*

Вирусные заболевания широко распространены во всех зонах виноградарства. Одним из наиболее экономически значимых является скручивание листьев винограда, которое может приводить к снижению урожая от 15-20% до полной потери продуктивности.

У пораженных растений наблюдается скручивание листьев, ингибирование роста и развития побегов. Наиболее сильно признаки инфекции проявляются у темно ягодных сортов в виде покраснения листовых пластинок вдоль жилок. У светло ягодных сортов заболевание проявляется в виде хлороза. Кроме того, инфекция может проходить бессимптомно, что способствует ее широкому распространению с посадочным материалом и переносчиками.

Скручивание листьев винограда вызывается несколькими вирусами семейства *Closteroviridae*, часто поражающих растения в комплексе. Основные возбудители – вирусы скручивания листьев винограда-1 и -3 (*grapevine leafroll-associated viruses-1* и -3, *GLRaV-1* и *GLRaV-3*) рода *Ampelovirus*. Целью работы было проанализировать распространение *GLRaV-1* и *GLRaV-3* на территории Республики Крым.

Обследование виноградников на наличие растений с внешними признаками поражения вирусными заболеваниями проводили в 15 хозяйствах шести основных зон виноградарства Республики Крым в 2014-2015 гг.: Алуштинского, Ялтинского, Симферопольского, Судакского, Севастопольского и Бахчисарайского районов. По итогам обследования отобрали 792 листовых образца винограда с внешними признаками вирусной инфекции. Из листьев выделяли суммарную РНК, проводили обратную транскрипцию и ПЦР со специфическими праймерами. Полученные результаты подтверждали секвенированием и сравнением нуклеотидных последовательностей с имеющимися в GenBank.

В результате проведенных исследований *GLRaV-1* был обнаружен в 45 образцах (5,7%), *GLRaV-3* – в 46 образцах (5,8%). Отдельные образцы несли смешанную вирусную инфекцию. В обследованных хозяйствах Симферопольского и Севастопольского районов *GLRaV-1* и *GLRaV-3* обнаружены не были. *GLRaV-3* отсутствовал также в хозяйствах Бахчисарайского района.

Данная работа выполнена на базе Экспериментальной установки искусственного климата (регистрационный номер УНУ U-73547) при финансовой поддержке субсидии Министерства образования и науки Российской Федерации образования и науки Российской Федерации №14.604.21.0145, уникальный идентификатор прикладных научных исследований RFMEFI60414X0145.

## ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ БАКТЕРИЙ *PROPIONIBACTERIUM ACNES* И *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS* В ПЛАНКТОННОЙ КУЛЬТУРЕ И БИОПЛЕНКАХ

Придачина К.С.<sup>1</sup>, Коробов В.П.<sup>1,2,3</sup>, Ерошенко Д.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Пермский национальный исследовательский политехнический университет, Пермь, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВПО

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

*rebenok8.11@gmail.com*

Биопленка является наиболее распространенной формой организации жизнедеятельности микроорганизмов и представляет собой монокультуру или ассоциацию культур микроорганизмов, окруженную внеклеточным матриксом, который состоит из полисахаридов, гликопептидов, нуклеиновых кислот и защищает клетки в составе биопленки от неблагоприятных факторов внешней среды. Известно, что бактерии видов *Propionibacterium acnes* и *Staphylococcus epidermidis*, являясь основными представителями резидентной микрофлоры кожи человека, при стечении ряда факторов могут совместно вызывать оппортунистические инфекции, в частности акне.

Цель работы состояла в изучении влияния собственных и чужих внеклеточных метаболитов на рост планктонной культуры и формирования биопленок бактериями *S.epidermidis* и *P.acnes*.

Объектами исследования явились штаммы бактерий *S.epidermidis* ATCC 29887, *P.acnes* Ac 1450 и его рифампицин-устойчивый вариант *P.acnes* Ac 1450 RifR. Экзометаболиты были получены путем стерилизующей фильтрации (0,22 мкм) культуральной жидкости после 16 ч роста планктонной культуры бактерий. Биопленки выращивали в 96-луночных плоскодонных планшетах в течении двух суток с последующим определением биомассы пленок по степени связывания генцианвиолета.

Нами обнаружено, что добавление в питательную среду до 20% внеклеточных метаболитов *P.acnes* Ac 1450 RifR стимулирует рост планктонной культуры *S.epidermidis* ATCC 29887 и вызывает двукратное увеличение биомассы пленок *P.acnes* Ac 1450 RifR по сравнению с контрольными. Одновременно с этим, установлено, что метаболиты *S.epidermidis* ATCC 29887 оказывают ингибирующее действие на процесс формирования биопленок бактериями *P.acnes* Ac 1450 RifR, начиная с концентрации 20%. Кроме того, для всех изученных штаммов микроорганизмов показано, что с увеличением в питательной среде доли собственных и чужих экзометаболитов до 90% наблюдается тенденция к угнетению роста планктонных культур и уменьшению биомассы образующихся биопленок. В то же время, с помощью метода двукратных серийных разведений в микропланшетах установлено, что изученные метаболиты не обладают антибактериальной активностью.

Таким образом, экзометаболиты *P.acnes* и *S.epidermidis* могут оказывать значительное влияние как на рост планктонной культуры, так и на формирование биопленок этими же бактериями, причем направление вызываемого эффекта зависит от концентрации метаболитов.

Работа выполнена при финансовой поддержке УрО РАН (№ проекта 15-4-4-3).

**АКТИНОБАКТЕРИИ ИЗ ПИЖМЫ (*TANACETUM VULGARE L.*), ПОРАЖЕННОЙ ЛИСТОВОЙ  
НЕМАТОДОЙ РОДА *APHELENCHOIDES***

**Присяжная Н.В.<sup>1</sup>, Белянин А.С.<sup>2</sup>, Рябков Б.В.<sup>2</sup>, Стародумова И.П.<sup>1,3</sup>, Дорофеева Л.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Вятский государственный университет, Киров, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВПО Пушинский  
государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия

*tennoko@rambler.ru*

Результаты исследования фитопатогенных комплексов (микроорганизм-нематода) свидетельствуют о том, что бактериальный компонент представляет интерес, как для решения практических задач фитопатологии, так и исследований, направленных на изучение микробиома растений и разнообразия микроорганизмов на планете. Среди бактерий, изолированных из пораженных разными нематодами растений, ранее было обнаружено большое число потенциальных представителей новых видов и родов.

В настоящей работе приводятся результаты изучения коллекции бактерий (45 штаммов), выделенных из растения *Tanacetum vulgare* (пижма обыкновенная, г. Москва), пораженного нематодой *Aphelenchoides fragariae*. Штаммы выделялись на среде R2A (Difco) из предварительно отмытого и измельченного образца пижмы с четкими признаками нематодного поражения.

Около 40% выделенных культур были представлены штаммами, образующими однотипные розово-красные колонии диаметром 2–3 мм, гладкие, слегка вросшие в агар. Анализ 15 произвольно взятых штаммов этой группы методом МАЛДИ масс-спектрометрии показал, что бактерии имеют сходные масс-спектры, которые образуют тесный кластер на дендрограмме. С высокой долей вероятности культуры можно отнести к одному виду. На основании результатов анализа генов 16S рРНК установлено, что культуры являются представителями рода *Rhodococcus* и имеют 99.9% сходства с типовым штаммом вида *R. corynebacteroides*. Бактерии этого вида ранее выделялись из воздуха, воды, почвы и клинических материалов. Три штамма (DL-633, DL-646, DL-651), образующие соседнюю с кластером *R. corynebacteroides* группу на дендрограмме, определены как *Rhodococcus fascians* (единственный известный фитопатоген рода *Rhodococcus*).

Культуры с колониями желтого цвета разных оттенков входят в состав родов *Rathayibacter*, *Frigoribacterium*, *Microbacterium* и *Pseudoclavibacter* (МАЛДИ МС и/или 16S рРНК). Из них только представители рода *Rathayibacter* ранее были известны в качестве ассоциантов фитопатогенных нематод (виды рода *Anguina*, поражают злаки). Анализ фрагментов генов *gyrB* и данные МАЛДИ масс-спектрометрии свидетельствуют, что штаммы DL-629 и DL-631 являются новыми подвидами *R. festucae*, а DL-642 представляет собой новый вид рода.

Кроме того, были обнаружены представители *Alphaproteobacteria* (в т.ч., близкие к *Rhizobium rubi* и *Sphingomonas faeni*).

Авторы выражают благодарность сотруднику Центра паразитологии ИПЭЭ РАН С.А. Субботину за предоставление образцов растений. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-34-01048 мол\_а.

**ИЗУЧЕНИЕ ЛИТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА *LYSOBACTER CAPSICI* ВКМ В-2533**

**Протас К.Г.<sup>1,2</sup>, Васильева Н.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.Скрыбина РАН, Пушкино, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия

*k.protas2015@gmail.com*

Одной из главных проблем медицинской микробиологии является появление антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов. Формирование новых механизмов резистентности у бактерий приводит к тому, что они становятся нечувствительны к известным на сегодняшний день антибиотикам. Серьёзной проблемой является и развитие фунгицидорезистентности. Широкое внедрение в практику системных фунгицидов привело к появлению резистентных грибных возбудителей.

Род *Lysobacter* известен продукцией ряда антибиотиков, литических ферментов и коротких пептидов, обладающих антифунгальной и антимикробной активностью. Причем многие из биологически активных соединений, продуцируемых *Lysobacter* spp., ещё не исследованы. В связи с этим поиск и выделение литических агентов рода *Lysobacter* является перспективным направлением микробиологии и медицины.

В данной работе изучался литический потенциал *L. capsici* ВКМ В-2533. Было установлено, что *этот штамм* продуцирует в культуральную жидкость биологически активные соединения. Литическое действие препарата культуральной жидкости *L. capsici* было исследовано методом спот-теста на живых условно-патогенных штаммах грамположительных и грамотрицательных бактерий и мицеллярных грибах. Литический эффект был обнаружен по отношению к грамположительным бактериям *Staphylococcus aureus*,



*Corynebacterium flavum* и *Bacillus cereus* и грибам *Fusarium sporotrichiella*, *Fusarium solani* и *Sclerotinia sclerotiorum*. С целью выявления оптимальных условий для продукции литических агентов были апробированы различные питательные среды для культивирования *L. capsici*. Для выявления вероятных агентов белковой природы проведён сравнительный электрофоретический анализ белков полученных культуральных жидкостей. Это позволило выявить существенные различия в продукции предполагаемых биологически активных соединений при культивировании на различных средах.

Дальнейшие исследования будут направлены на выделение и характеристику литических агентов *L. capsici*.

### **ОЦЕНКА АНТИБИОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ШТАММОВ АКТИНОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ БАЙКАЛЬСКИХ ЭНДЕМИЧНЫХ ГЛУБОКОВОДНЫХ АМФИПОД РОДА *OMMATOGAMMARUS***

**Протасов Е.С., Аксенов-Грибанов Д.В., Войцеховская И.В., Димова М.Д., Тимофеев М.А.**  
ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

*protasov.evgenii@gmail.com*

В настоящее время поиски новых продуцентов биологически активных соединений направлены на уникальные по своим условиям экосистемы и обитающие в них организмы (Tiwari, 2012). Примером такой экосистемы, населенной эндемичными глубоководными обитателями, является оз. Байкал. Глубоководные амфиподы из рода *Ommatogammarus* относятся к типичным падальщикам и являются важным компонентом системы круговорота вещества и энергии в озере Байкал (Тахтеев, 2002). Учитывая «санитарную» роль в экосистеме Байкала, данная группа организмов представляет особый интерес для поиска микроорганизмов-симбионтов, способных продуцировать соединения антибиотической природы.

В ходе настоящего исследования проведено выделение актинобактерий из амфипод видов *O. albinus* и *O. flavus*. Амфиподы были выловлены с глубин 80, 100 и 200 м в районе пос. Большие Коты (Южный Байкал). Для оценки антибиотической активности выделенных штаммов, их культивировали глубинно на средах NL-19 и SG.

В результате проведенных работ выделено 43 штамма, из которых 41 штамм относится к роду *Streptomyces*, 1 штамм к роду *Micromonospora* и 1 штамм - к роду *Pseudonocardia*. Для антибиотических тестов были получены экстракты биологически активных соединений из культуральной жидкости и клеточной биомассы актинобактерий. Антибиотические тесты проведены против ряда модельных тест-культур, в том числе: *E. coli* ATCC25922, *P. putida* KT2440, *B. subtilis* ATCC 6633, *St. carnosus*, *S. cerevisiae* BY4742. В ходе высокоэффективной жидкостной хроматографии, сопряженной с масс-спектрометрией высокого разрешения, получены и проанализированы хроматограммы масс наиболее активных штаммов.

Из выделенных штаммов ряд штаммов проявил выраженную антагонистическую активность только против грамотрицательных, а ряд - только против грамположительных бактерий, или дрожжей. В то же время, ни один из штаммов не показал одновременной ингибирующей активности против всех тест-культур.

Показано, что актинобактерии, ассоциированные с байкальскими глубоководными эндемичными амфиподами, обладают высоким биосинтетическим потенциалом и продуцируют биологически активные соединения, в том числе антибиотики.

Настоящее исследование проведено при частичной финансовой поддержке проектов Министерства образования и науки РФ (№6.382.2014/К, 6.734.2016 DAAD, 6.696.2016 DAAD), РФФ (проект N 14-14-00400), РФФИ (проекты N 14-04-00501, 16-34-00686 мол\_а), грантов Иркутского государственного университета для молодых ученых.

### **ЭЛЕКТРОПРОВОДЯЩИЕ СВОЙСТВА КОМПОЗИЦИИ «БАКТЕРИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ *GLUCONOBACTER* – ПОЛИМЕР ПОЛИ(3,4-ЭТИЛЕНДИОКСИТИОФЕН), СВЯЗАННЫЙ С ПОЛИСТИРОЛСУЛЬФОНАТОМ»**

**Пташник И.В.<sup>1,2</sup>, Китова А.Е.<sup>1</sup>, Плеханова Ю.В.<sup>1</sup>, Тарасов С.Е.<sup>1</sup>, Готовцев П.М.<sup>3</sup>, Василев Р.Г.<sup>3</sup>,  
Решетилев А.Н.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушино, Россия; <sup>3</sup>НИИ Курчатовский институт, Москва, Россия

*ptashnik.ivan@yandex.ru*

Включение бактериальных клеток *Gluconobacter oxydans* sbsp. *industrius* ВКМ В-1280 в электропроводящий полимер поли(3,4 этилендиокситиофен):полистерен сульфоновой кислоты (ПЭДОТ:ПСС) позволяет получать сигналы, соответствующие окислению глюкозы. Данный эффект свидетельствует о том, что ПЭДОТ:ПСС выполняет роль электропроводящего медиатора. Величина сигнала

для 10 мМ раствора глюкозы составляла величину  $20 \pm 10$  мкА, связанную с окислением глюкозы и полученную при фиксированном потенциале -500 мВ. Данные, представленные в работе, ранее не были описаны и публикуются впервые.

Токопроводящие полимеры применяются во многих областях исследований, в том числе электрохимии и биотехнологии, обеспечивая композициям высокую электрическую проводимость, низкую удельную плотность, высокую пластичность.

Целью данной работы являлось изучение влияния ПЭДОТ:ПСС на свойства переноса заряда при окислении субстрата, на примере электрода, содержащего бактерии *Gluconobacter*, и изготовленного из спектрального графита. Предположительно данный электрод моделировал анод биотопливного элемента или измерительный электрод биосенсора. Имобилизацию бактерий осуществляли, используя суспензию с концентрацией 20 мкг/мл (указана концентрация по сухому весу). Измерения проводили по стандартной трех-электродной схеме (графитовый-платиновый-хлорсеребряный электроды). Регистрировали циклические вольт-амперные характеристики и зависимости тока от времени.

Добавление глюкозы к системе СГ/ПЭДОТ:ПСС/Клетки приводила к выраженному увеличению силы тока что, предположительно, может быть объяснено механизмом обмена электронами с активным центром PQQ-зависимой глюкозодегидрогеназы, присутствующей в мембранах бактерий *Gluconobacter*. При работе с системой СГ/ПЭДОТ:ПСС/Клетки не требовалось внесение медиатора, так как этот полимерный материал сам выполнял роль медиатора и способствовал переносу заряда от клеток на электрод.

В заключение можно отметить, что возможность безмедиаторного переноса заряда при использовании ПЭДОТ:ПСС открывают широкие перспективы для использования электропроводящего полимера ПЭДОТ:ПСС, а именно, как основы при создании матрицы-носителя для иммобилизации расширенного класса биоматериалов. Этот класс может включать бактериальные клетки. Создание таких безмедиаторных электродов позволяет планировать в дальнейшем оценку их параметров в роли электродов микробных биосенсоров, биотопливных элементов.

## ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИАЛЬНОГО СООБЩЕСТВА ТЕХНОГЕННОЙ ПОЧВЫ БЕЗ РАСТЕНИЙ И РАСТИТЕЛЬНОЙ РИЗОСФЕРЫ РАЙОНА СОЛЕРАЗРАБОТОК

Пьянкова А.А.<sup>1</sup>, Корсакова Е.С.<sup>1,2</sup>, Назаров А.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия; <sup>2</sup> ФГБОУ ВПО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

*annpjankva@mail.ru*

В настоящее время одним из наиболее перспективных биотехнологических направлений очистки окружающей среды от органических загрязнителей является биодеструкция. В ряде случаев эффективность данного метода ограничивается экстремальными условиями среды (высоким засолением).

Цель работы – исследование микроорганизмов-деструкторов из техногеннозасоленной почвы без растений и растительной ризосферы района солеразработок Пермского края.

Для исследования были взяты образцы ризосферы растений ежи сборной (*Dactylis glomerata* L.) и почвы с одного участка вблизи солеотвала (г. Соликамск, Пермский край). Содержание ионов  $\text{Na}^+$  определяли методом водной вытяжки (ГОСТ 26423-85) путем детекции на атомно-абсорбционном спектрофотометре AA6300 («Shimadzu», Япония). Органические загрязнители определяли в хлороформных экстрактах образцов с использованием хромато-масс-спектрометра Agilent 6890/5973N («Agilent», США). Образцы характеризовались повышенным уровнем засоления ( $\text{Na}^+$  320-398 мг/кг) и высокой концентрацией органических загрязнителей, анализ масс-спектров которых указывает на загрязнение исследованного участка нефтепродуктами.

Накопительные культуры (НК) получены на жидкой минеральной среде Раймонда (30 г/л и 100 г/л NaCl) с ростовым субстратом (нафталин, бифенил, орто-фталева кислота или дизельное топливо). Путём высева из НК на агаризованную среду Раймонда в чистую культуру был получен 31 штамм бактерий с разными морфологическими признаками.

Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей 16S рДНК показал, что выделенные изоляты филогенетически близки к бактериям 6 классов: *Alpha-*, *Beta-*, *Gammaproteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacilli* и *Cytophagia*. Также выделены бактерии с низким уровнем сходства по гену 16S рДНК (97,38-98,91%) со штаммами узаконенных видов (предположительно – новые таксономические единицы).

При изучении биодegradационных свойств изолированных бактерий выявлено, что штаммы *Pseudomonas* spp. NDT2, NDT17 и NDT19 способны использовать в качестве ростового субстрата нафталин. Штаммы *Rhodococcus* sp. NDT14 и *Dietzia* sp. NDT10 обладают свойствами активных деструкторов орто-фталевой кислоты и дизельного топлива, соответственно.

В результате исследований выделены штаммы-деструкторы нафталина, орто-фталевой кислоты и дизельного топлива, которые являются перспективными кандидатами для использования в

биотехнологических целях. Выявлены бактерии, являющиеся потенциальными представителями новых таксонов.

Работа поддержана грантом РФФИ № 16-34-01009 мол\_а.

### **ШТАММ БАКТЕРИИ *TSUKAMURELLA TYROSINOSOLVENS* PS2 – ДЕСТРУКТОР АЛКАНОВ И ПРОДУЦЕНТ БИОПАВ**

**Романова В.А., Григорьева Т.В., Лайков А.В.**

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

*avonamora-94@mail.ru*

В связи с тем, что сырая нефть является необходимым условием для существования мировой экономики и промышленного роста, объемы ее разведки и добычи постоянно увеличиваются, что в свою очередь приводит к увеличению сопутствующего загрязнения окружающей среды. Среди способов очистки почв и водоемов от загрязнений нефтью и продуктами ее переработки особое место занимают биологические методы с использованием углеводородокисляющих бактерий. Постоянно ведется поиск новых микроорганизмов, обладающих повышенной окисляющей активностью или обладающих дополнительными биотехнологически ценными свойствами, например, способностью продуцировать биоПАВ. Биосурфактанты, выделяемые бактериями, дают возможность микробным клеткам контактировать с гидрофобными углеводородными субстратами, тем самым, повышая их биодоступность не только бактерий, образующих биоПАВ, но и для других представителей сообщества.

Из твердых химических отходов нами был выделен бактериальный изолят, способный использовать алканы в качестве единственного источника углерода и энергии. По гену 16S рРНК изолят идентифицирован как *Tsukamurella tyrosinosolvens* PS2.

При перемешивании культуральной жидкости штамма *T. tyrosinosolvens* PS2 с гексадеканом, образовывалась устойчивая эмульсия, что послужило основанием для проведения данной работы, цель которой – характеристика свойств веществ культуральной жидкости, обладающих эмульгирующей активностью.

По оптической плотности эмульсии, полученной после смешивания гексадекана и культуральной жидкости штамма, установили, что наибольшая продукция биоПАВ происходит на питательной среде с гексадеканом по сравнению с питательными средами, содержащими глюкозу и сахарозу. Снижение поверхностного натяжения культуральной жидкости бактерии было доказано по увеличению площади капли на гидрофобной поверхности (пленка Parafilm M), по сравнению с исходной питательной средой.

Методом двойной диффузии биосурфактантов *T. tyrosinosolvens* PS2 и известных катионных ПАВ установлено, что биосурфактанты данной бактерии имеют неионогенную природу.

В геноме исследуемого штамма выявлены гены трех путей синтеза трегалозы, а именно: трегалоза-6-фосфат синтаза и трегалоза-6-фосфат фосфатаза, мальтоолигосилтрегалоза-синтаза и мальтоолигосилтрегалоза-трегалогидролаза, трегалоза-синтаза. Так же, найдены гены микол-трансфераз. Исходя из этого, мы предполагаем, что биосурфактанты штамма бактерии *T. tyrosinosolvens* PS2 принадлежат к классу трегалолипидов.

### **ИДЕНТИФИКАЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МИШЕНЕЙ ПРОИЗВОДНЫХ ФУРАНОНОВ В КЛЕТКАХ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, *BACILLUS SUBTILIS*, *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS* И *MICROCOCCUS LUTEUS***

**Рыжикова М.Н., Тризна Е.Ю., Курбангалиева А.Р., Чернова Л.С., Каюмов А.Р.**

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

*mariarimgol@mail.ru*

В настоящее время показано, что большинство бактерий существуют в природе в виде специфически организованных биопленок, которые представляют собой тесно адгезированное к субстрату сообщество. Дифференцированные клетки в биопленке прикреплены друг к другу и заключены в полисахаридный матрикс (EPS). Структура биопленки и физиологические свойства, под контролем «чувства кворума», делают биопленку более устойчивой к различным антимикробным агентам – дезинфицирующим средствам, антибиотикам, иммунной системе. Это вызывает трудность при лечении и определяет необходимость разработки ингибиторов формирования биопленки. Грамположительные бактерии являются причиной многих инфекционных заболеваний, *Staphylococcus aureus* – один из основных внутрибольничных патогенов, вызывающих хронические инфекции в организме человека. Поэтому актуальной проблемой является поиск новых препаратов, подавляющих рост и образование бактериальных биопленок. Ранее было показано, что использование галогенированных фуранононов приводит к ингибированию генов образования биопленок. Тем не менее, механизм их действия по-прежнему остается загадкой.

Целью работы было идентифицировать молекулярные мишени производных 2(5Н) - фуранона в клетках *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis* и *Micrococcus luteus*.

Скрининг производных фуранонов подавляющих рост и образование биопленок образованных клетками *S. aureus*, *B. Subtilis*, *S. epidermidis* и *M. luteus* показал эффективность соединения Ф105. Для выявления активного радикала фуранонов все эксперименты проводили также с фураноном Ф104, который является структурным аналогом Ф105 и имеет различие в виде одного радикала, однако не демонстрировал активности против биопленок используемых бактерий. Для определения клеточных мишеней фуранонов проводили электрофорез протеома планктонных и адгезированных клеток бацилл, стафилококков и микрококков, который показал наличие белков, синтез которых индуцируется или подавляется в присутствии фуранонов. Далее планируется MALDI-TOF идентификация индуцируемых и подавляемых фуранонами белков.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (Проект №15-14-00046)

## ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ РЕНТГЕНОДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕДУР ДЛЯ НОРМОФЛОРЫ КИШЕЧНИКА ЧЕЛОВЕКА

Рычакова Ж.С.<sup>1</sup>, До Тхи Зуен<sup>1</sup>, Сергеева С.Ю.<sup>2</sup>, Рыжкин С.А.<sup>2,3</sup>, Зеленихин П.В.<sup>1</sup>, Исмагилова Р.К.<sup>1</sup>, Ильинская О.Н.<sup>1</sup>, Яруллина Д.Р.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия; <sup>2</sup>ГБОУ ВПО Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия; <sup>3</sup>ГБОУ ДПО Казанская государственная медицинская академия, Казань, Россия

*rychakovazhanna@gmail.com*

Медицинские рентгенодиагностические (РД) процедуры являются одним из основных видов облучения населения, значительно превосходя по коллективной дозе другие техногенные источники. Способность веществ микробного происхождения повышать радиорезистентность млекопитающих хорошо известна, но воздействие облучения на лактобациллы прежде не рассматривалось. Бактерии этой группы входят в состав нормальной микрофлоры пищеварительного и урогенитального тракта человека, при этом обладают высокой биологической и функциональной активностью, что определяет их практическое использование в качестве пробиотиков и в производстве пищевых продуктов. Целью данной работы является оценка влияния медицинских РД процедур на пробиотические бактерии рода *Lactobacillus*.

В качестве объекта исследования использовали 12 штаммов 5 видов лактобацилл (*L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. fermentum*, *L. helveticus*, *L. acidophilus*), выделенных нами из пробиотических препаратов и желудочно-кишечного тракта человека. В геномах исследуемых бактерий с помощью секвенирования амплифицированных фрагментов ДНК было проверено наличие генов радиорезистентности *recN*, *urvA*, *urvB*, *recF*, *recG*. Ген *recG*, кодирующий АТФ-зависимую ДНК-хеликазу, обнаружен у всех штаммов лактобацилл. У *L. fermentum* На присутствуют все анализируемые гены радиорезистентности, следовательно, данный штамм потенциально обладает высокой устойчивостью к воздействию ионизирующих излучений. Напротив, самыми чувствительными, вероятно, являются бактерии *L. plantarum* 8РА3 и *L. plantarum* HF-A3, у которых обнаружен только ген *recG*. Далее суспензии клеток лактобацилл стационарной фазы роста были подвергнуты воздействию рентгеновского излучения, генерированного при моделировании исследований органов брюшной полости на рентгеновском компьютерном томографе и стационарном РД комплексе. Жизнеспособность бактерий регистрировали с помощью окрашивания йодидом пропидия и последующей проточной цитофлуориметрии. Показали, что воздействие рентгеновского излучения не оказывает влияния на жизнеспособность лактобацилл.

Таким образом, в данной работе впервые экспериментально оценена безопасность для функционально значимых представителей нормофлоры кишечника человека - бактерий рода *Lactobacillus* - основных видов медицинских РД исследований (рентгеновская компьютерная томография и рентгенография). Обнаруженная низкая чувствительность лактобацилл к ионизирующему излучению согласуется с их генетической программой.

## ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ *SINORHIZOBIUM MELILOTI*, ДЕТЕРМИНИРУЮЩИХ ВИРУЛЕНТНОСТЬ И СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТЬ

Саксаганская А.С., Мунтян В.С., Румянцева М.Л.

ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Пушкин, Россия

*allasaksaganskaya@mail.ru*

Симбиоз между клубеньковыми бактериями (ризобиями) и бобовыми растениями-хозяевами формируется на основе молекулярного сигналинга между двумя симбионтами. Сигнальными молекулами ризобий являются Nod-факторы, синтез которых детерминируется *nod* генами, расположенными на симбиотической мегаплазмиде. Процесс взаимодействия между макро- и микросимбионтами подробно

изучен в типовых условиях, тогда как под влиянием засоления процессы взаимодействия между симбионтами могут претерпевать различные изменения. В данном исследовании проведен анализ структурного полиморфизма двух функционально-различных групп генов у природных штаммов клубеньковых бактерий вида *Sinorhizobium meliloti*, выделенных в Северо-Кавказском очаге центра разнообразия культурных растений и в районе Мугоджар (Северный Казахстан). Последний район является современным центром разнообразия люцерны, который подвержен активному засолению. Одна группа – это 4 *nod* гена, ответственные за синтез сигнальной молекулы Nod-фактора, а вторая – 4 *bet* гена, детерминирующие солеустойчивость штаммов. В обеих выборках штаммов выявлен высокий уровень полиморфизма обеих групп генов, который однако был выше у симбиотических генов. Аллели генов, структура которых была сходна с таковой у модельного штамма Rm2011, обозначали как типовые или А. Аллели, которые имели структурные отличия, рассматривали как дивергентные (D) и их объединяли в соответствующую группу D\* аллелей каждого рассматриваемого гена. Анализ неравновесия по сцеплению (LD) проводили между А и D\* аллелями *nod* и *bet* генов. В результате наличие сцепления показано между рассматриваемыми группами генов в центре разнообразия люцерны, расположенном на Северном Кавказе, тогда как в Северном Казахстане, подверженном воздействию стресс-фактора – засолению, не выявлено факта неравновесия, что может указывать на независимое участие обеих групп генов в процессах рекомбинации. Полученные результаты позволяют обсуждать принципиальные различия в микроэволюционных процессах в географически различных популяциях клубеньковых бактерий люцерны.

Работа поддержана грантами РФФИ (15-04-09295а и 14-04-01441а).

### **ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ ЭКСТРАКТОВ РАСТЕНИЙ НА ТОЛЩИНУ СЛОЯ БИОПЛЕНОК *ESCHERICHIA COLI***

**Самойлова З.Ю., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н.**

ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

*samzu@mail.ru*

Одним из перспективных направлений современной микробиологии и медицины является исследование факторов, влияющих на образование биопленок представителями нормальной микрофлоры человека и животных. Известно, что наличие таких биопленок на стенках кишечника препятствует адгезии болезнетворных микроорганизмов, способствует детоксикации ксенобиотиков и таким образом вносит вклад в поддержание здоровья макроорганизма.

В данной работе нами было исследовано модулирующее влияние разных доз экстрактов лекарственных растений, зеленого и черного чая на образование толщины зрелых биопленок *Escherichia coli* BW25113 при инкубировании на свежей питательной среде в течение 3 ч. Зрелые биопленки (возраст 22 ч) отмывали физиологическим раствором и помещали в свежую питательную среду, содержащую экстракты растений, и инкубировали культуры далее в течение 3 ч, измеряя через каждый час толщину биопленкового слоя модифицированным методом окрашивания биопленок генцианвиолетом.

В присутствии зеленого и черного чая, толокнянки и брусники был обнаружен активный рост биопленок, при этом стимулирующий эффект возрастал с увеличением дозы экстрактов. По сравнению с необработанными культурами экспозиция с этими экстрактами (0,83 мг/мл) в течение часа увеличивала толщину биопленок в 2-4 раза, в течение 2-х часов – до 8 раз и после 3-х часов – до 8,5 раз. При концентрации экстрактов 6,64 мг/мл толщина биопленок увеличивалась до 5, 12 и 17 раз, соответственно. В наших условиях наиболее выраженное стимулирующее влияние на рост биопленок в течение всего периода культивирования оказывали экстракты толокнянки и брусники в обеих дозах. Экстракт березы оказывал положительный эффект в концентрации 6,64 мг/мл только через 3 часа после начала культивирования, увеличивая толщину матрикса в 2 раза. Таким образом, показано выраженное стимулирующее действие экстрактов ряда лекарственных растений на образование биопленок бактериями *Escherichia coli*.

Исследование выполнено при поддержке грантом РФФИ-Урал № 14-04-96031.

### **МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ТЕСТ-СИСТЕМА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ПРИРОДНЫХ ШТАММОВ-ПРОДУЦЕНТОВ АНТИМИКРОБНЫХ СОЕДИНЕНИЙ**

**Сацункевич Н.Е., Титок М.А.**

ГНУ Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

*nesatsunkevich@gmail.ru*

Природные микроорганизмы, синтезирующие антимикробные соединения, являются перспективными объектами биотехнологии. В частности, они широко используются в качестве продуцентов антибиотиков, а также входят в состав биопрепаратов для сельского хозяйства. Важным этапом для целенаправленного использования данных микроорганизмов является знание мишеней и механизмов действия синтезируемых ими антимикробных метаболитов.

Целью настоящей работы являлось использование молекулярно-генетической тест-системы для выявления природных бактерий, продуцирующих антимикробные соединения с определенным механизмом действия.

Для создания молекулярно-генетической тест-системы на первом этапе были сконструированы плазмиды (на основе репликона тета-типа плазмиды pBS72 бактерий *B. subtilis*), содержащие репортерный ген *lacZ*, экспрессия которого обеспечивалась промоторами, индуцируемыми в присутствии антибиотиков, нарушающих синтез клеточной стенки (*ypuA*, *liaH*), белка (*yheI*), ДНК (*yorB*) и РНК (*yvgS*), соответственно. Векторные конструкции вводили в клетки *B. subtilis* BD194 (*recA*<sup>-</sup>) и полученные плазмидосодержащие бактерии *B. subtilis*194E, *B. subtilis*194L (содержали плазмиды с промотором *ypuA* и *liaH*, соответственно), *B. subtilis*194D (содержал плазмиду с промотором *yorB*), *B. subtilis*194R (содержал плазмиду с промотором *yvgS*) и *B. subtilis*194P (содержал плазмиду с промотором *yheI*) проверяли на способность изменять окраску на среде с добавлением X-gal в присутствии антибиотиков с разным механизмом действия. В результате этих экспериментов было показано, что плазмидосодержащие бактерии окрашивались в синий цвет в присутствии антибиотиков, нарушающих синтез клеточной стенки (*B. subtilis*194E, *B. subtilis*194L), белка (*B. subtilis*194P), ДНК (*B. subtilis*194D) и РНК (*B. subtilis*194R). Показана возможность использования созданных сенсорных бактерий для выявления природных и характеристики коллекционных микроорганизмов, продуцирующих антимикробные соединения с определенным механизмом действия. В частности, анализ 27 штаммов коллекционных бактерий рода *Bacillus*, *Paenibacillus* и *Streptomyces*, обладающих антимикробными свойствами, позволил для большинства из них (15 штаммов) определить мишень действия синтезируемых ими соединений. Анализ почвенных образцов (всего 8), помещенных на поверхность среды, в которую предварительно вносили сенсорные бактерии, позволил в двух из них, изолировать бактерии, синтезирующие антимикробные соединения, нарушающие синтез клеточной стенки, белка и РНК.

#### ИНВАЗИЯ ТРОПИЧЕСКИХ ТОКСИЧНЫХ ЦИАНОБАКТЕРИЙ В ВОДОЕМЫ СЕВЕРНЫХ ШИРОТ: МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ *CYLINDROSPERMOPSIS RACIBORSKII* ИЗ ОЗЕРА НЕРО

Сиделев С.И.<sup>1</sup>, Кокшарова О.А.<sup>2</sup>, Бабаназарова О.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Sidelev@mail.ru

Инвазия в водоемы умеренной зоны тропических токсичных цианобактерий широко обсуждается в научной литературе. Наиболее изученный в этом отношении вид – это *Cylindrospermopsis raciborskii*. Повышенный интерес именно к этой тропической цианобактерии связан с её токсигенностью, способностью синтезировать гепатотоксин цилиндроспермопсин и нейротоксины сакситоксины (известные также, как паралитические яды моллюсков). Известно, что основной путь проникновения *C. raciborskii* в умеренную зону пролегал из Австралии через Среднюю Азию в Европу. Одна из центральных гипотез, предсказывающих дальнейший маршрут экспансии *C. raciborskii*, постулирует обратную миграцию европейских популяций вида в тропическую зону (в водоемы Африки). Однако в 2010 году нами впервые в России была зафиксирована вспышка развития тропической цианобактерии *C. raciborskii* в озере Неро (Ярославская область, 57 гр. с.ш.) (Babanazarova et al., 2015). Это свидетельствует о дальнейшем продвижении вида в северные широты, в том числе в Европейскую часть России. Известно, что азиатские штаммы *C. raciborskii* способны продуцировать цилиндроспермопсин, в то время как европейские штаммы не содержат гены синтеза данного цианотоксина. Выделенный Гусевым Е.С. (ИБВВ РАН) из планктонной пробы озера Неро штамм *C. raciborskii* был проанализирован на наличие генов синтеза цианотоксинов с использованием метода ПЦР. Предварительно принадлежность данного штамма к виду *C. raciborskii* была проверена нами по следующим генетическим маркерам: генам *nifH* и *rpoC1* и межгенному спейсеру *cpcBA-IGS*. Полученные нуклеотидные последовательности на 99-100% оказались идентичны таковым *C. raciborskii* из базы данных GenBank. Кроме того, морфологический анализ показал, что по наличию акинет (спор), прямой форме трихомов и размерам гетероцит *C. raciborskii* из озера Неро очень похож на популяции вида из водоемов Европы. У *C. raciborskii* из водоемов Африки отсутствуют акинеты, а у популяций вида из Азии часто встречаются кольцевидные, либо спиралевидные трихомы. ПЦР-анализ не выявил наличия генов, ответственных за синтез цилиндроспермопсина (ген *aoaA*) и сакситоксинов (ген *stxA*), у выделенного из озера Неро штамма *C. raciborskii*. Таким образом, данные морфологии и результаты молекулярно-генетического анализа токсигенности свидетельствуют в пользу гипотезы о проникновении данной цианобактерии в озеро Неро не из Азии, а из европейских водоемов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 16-34-50033.

## СТИМУЛЯЦИЯ ПЕРЕХОДА НЕКУЛЬТИВИРУЕМЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В ВЕГЕТАТИВНОЕ СОСТОЯНИЕ ПРИ ПОМОЩИ ИНУЛИНСОДЕРЖАЩИХ ПРЕПАРАТОВ

Скорлупкина Н.Н.<sup>1,2</sup>, Чистякова Д.А.<sup>2</sup>, Блинкова Л.П.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия

nadezhdaskor@yandex.ru

Переход микроорганизмов в некультивируемое состояние (НС) осуществляется в ответ на воздействие стрессовых факторов в течение промежутка времени и характеризуется обратимой потерей некультивируемыми клетками (НК) способности роста на питательных средах. НК затрудняют правильное тестирование на обсемененность патогенными и условно-патогенными микробами разных образцов. Поэтому необходимо выявлять и изучать агенты, способствующие переходу НК в вегетативное состояние.

Цель: изучение влияния инулина и инулинсодержащих препаратов на реверсию микроорганизмов из некультивируемого состояния.

Материалы и методы. Для опытов брали штаммы *Salmonella enterica* Typhimurium 79 и *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* 729, клетки находились в НС 8мес и 32мес соответственно. Факторы пробуждения - инулинсодержащий порошок топинамбура (количество инулина около 70%) и чистый инулин добавляли в бульон в концентрациях 0,1%, 1% и 10 %. Пробы исследовали через 0, 24 и 48ч, определяли общую численность клеток в камере Горяева, КОЕ/мл, оптическую плотность и жизнеспособность клеток, окрашенных Live/Dead, при флуоресцентной микроскопии.

Результаты и обсуждение. При 1% топинамбура клетки сальмонелл выходили из НС быстрее, чем с другими концентрациями и контроле. Через 24ч число НК было 80,26%, в контроле 92,77%, через 48 ч достоверно снизилось до 6,81% и 81,11% в контроле. Аналогичную ситуацию наблюдали для чистого инулина: через 24ч количество НК составило 36,56% против контроля 89,86%, через 48ч - 13,26% против 69,76% контроля. Для концентраций 0,1% и 10% топинамбура и чистого инулина данные не имели значимых различий.

При концентрации 0,1% топинамбура или инулина культура лактококков через 24ч достоверно ускорила выход из НС, доля НК в образцах составила 57,34% и 56,65% соответственно против контроля 64,99%. Через 48ч при всех концентрациях топинамбура или чистого инулина и в контроле количество НК было около 57% в пределах погрешности.

Выводы. При содержании 1% топинамбура или инулина в бульоне сальмонеллы достоверно ускоряли выход из НС, хотя при других концентрациях такого эффекта не отмечено. Вероятно, малые концентрации вещества для сальмонелл недостаточны, чтобы произвести позитивный эффект, а при больших дозах инулина проявляется известное для него подавляющее действие. *L. lactis* 729 при содержании 0,1% топинамбура или инулина достоверно ускоряли выход из НС в первые сутки, но далее количество НК оставалось на том же уровне. Возможно, это связано с тем, что культура находилась в НС более 2 лет и частично потеряла способность восстановления в вегетативное состояние.

## ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ПОЛОЖЕНИЕ ШТАММА-ДЕСТРУКТОРА ХЛОРФЕНОКСИКИСЛОТ РОДА *LYSINIBACILLUS*

Стариков С.Н.<sup>1</sup>, Сагитова А.И.<sup>1</sup>, Низамов Р.А.<sup>2</sup>, Коробов В.В.<sup>1,2</sup>, Маркушева Т.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Уфимский институт биологии РАН; <sup>2</sup>Учебно-научный центр ФГБОУ ВПО Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы, Уфа, Россия

tvmark@anrb.ru

Среди загрязнителей современной биосферы существенное место занимают производные ароматического ряда, в том числе, хлорфеноксиуксусные кислоты, постоянно поступающие в окружающую среду с отходами производства медицинских препаратов и системных гербицидов. Важным этапом разработки технологий ремедиации среды от хлорароматики является поиск и изучение микробных деструкторов.

Цель настоящей работы – определить филогенетическое положение вновь выделенного бактериального деструктора хлорфеноксикислот.

Объектом исследования являлся штамм, изолированный из грунтов промзоны г. Салават Республики Башкортостан. Классификацию штамма осуществляли по совокупности хемотаксономических и генетических признаков. Генетическое типирование основывали на результатах анализа ПЦР-фрагментов гена 16S рРНК, полученных с использованием универсальной праймерной системы. Секвенирование ДНК осуществляли на автоматическом секвенаторе ABI PRISM 3730 (Applied Biosystems, Inc., USA). Сходство последовательностей изучали в формате программного пакета BLAST, построение филогенетического дерева проводилось в программе MEGA4.

В ходе исследования установлено, что варьирующие по размеру палочковидные клетки вновь выделенного изолята CZ31h образовывали круглые непрозрачные колонии светло-кремового цвета.

Оптимальный рост культуры наблюдался в диапазоне от 28°C до 32°C при нейтральных значениях pH. Сравнительный анализ гена 16S рРНК длиной 1492 п.н. показал, что к изучаемой последовательности филогенетически наиболее близкими являлись гены типовых видов *L. xylanilyticus* XDB9 [Ahmed I. et al., 2007] и *L. boronitolerans* 10a [Lee C.S. et al., 2010] с уровнем сходства 99,5% и 98,1%. Полученные данные позволили дифференцировать выделенный штамм как *Lysinibacillus* sp. CZ31h семейства *Bacillaceae* отдела *Firmicutes*.

Ранее Ren Y. изолировал *L. cresolivorans* sp. nov, способный утилизировать м-крезол, Chaudhary P. обнаружено, что представители *Lysinibacillus* могут конвертировать антрацен, фенантрен, флуорен и пирен. Вместе с тем, для представителей бациллярной линии протеобактерий рода *Lysinibacillus* не была установлена возможность ассимиляции хлорароматических производных.

Вновь выделенный деструктор хлорфеноксициклот *Lysinibacillus* sp. CZ31h может быть применен в разработках технологий биоремедиации среды в техносфере.

## СКРИНИНГ ДРОЖЖЕВЫХ ОРГАНИЗМОВ - ПРОДУЦЕНТОВ ПАЛЬМИТОЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Степанова Н.Н.<sup>1,2</sup>, Шакирова М.М.<sup>3</sup>, Моргунов И.Г.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, Пушкино, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВПО Башкирский государственный университет, Уфа, Россия

nadinka\_1994@mail.ru

Пальмитолеиновая кислота (ПОК) находит широкое применение в медицине, косметологии и пищевой промышленности, а также используется для технических целей в качестве антифризной добавки к биодизельному топливу и как сырье для производства 1-октена, применяемого при получении линейных полиэтиленов низкой плотности.

Природными источниками ПОК являются нутряной жир морских животных, куриный желток, жир норки, орехи макадамии, облепиха. Методами генной инженерии активизированы механизмы сверхсинтеза ПОК в масличных культурах. Однако низкая урожайность, слабые агрономические характеристики растений, потребность в значительных с/х площадях и зависимость от погодных условий ограничивают коммерческое получение ПОК из данных источников. В последние годы наиболее перспективным считается микробиологический синтез ПОК.

В связи с вышеизложенным, целью данной работы был скрининг штаммов дрожжей для выявления потенциальных продуцентов ПОК.

В ходе выполнения работы определены показатели роста и синтеза липидов у 17 штаммов дрожжей различной таксономической принадлежности: *Debaryomyces globosus* ВКМ Y-9539, *Tausonia pullulans* ВКМ Y-2302, *Yarrowia lipolytica* 68, *Y. lipolytica* 69, *Y. lipolytica* 79, *Y. lipolytica* 86, *Y. lipolytica* 214, *Candida maltose* ВКМ Y-293, *Y. lipolytica* ВКМ Y-57, *Diutina rugosa* ВКМ Y-67, *C. boidinii* ВКМ Y-2356, *Blastobotrys adenivorans* ВКМ Y-2676, *B. adenivorans* ВКМ Y-2677, *Aciculoconidium aculeatum* ВКМ Y-1301, *Cryptococcus laurentii* ВКМ Y-1628, *Cr. albidus* ВКМ Y-1994, *Apiotrichum curvatum* ATCC-20509. В качестве источника углерода использовали глюкозу.

Показано, что выход клеток по массе от потребленной глюкозы ( $Y_{X/S}$ ) варьировал у исследованных штаммов от 5,7 до 38,2%. В составе липидов обнаружены C<sub>14</sub>-C<sub>20</sub> кислоты с преобладанием пальмитиновой, ПОК, олеиновой и линолевой кислот. Содержание липидов у исследованных штаммов варьировало от 3,6 до 34,4%. Наибольшее количество липидов наблюдалось в биомассе штаммов *Y. lipolytica* 69 (28,8%), *Y. lipolytica* 68 (16,5%) и *D. globosus* ВКМ Y-9539 (15,9%).

Установлено, что изученные штаммы дрожжей значительно различались по способности синтезировать ПОК: 6 штаммов не синтезировали ПОК, а у 11 штаммов доля ПОК в составе липидов варьировало от 2,2 до 39%. Максимальное накопление ПОК обнаружено у штаммов *Y. lipolytica* 68 (34,5%), *D. globosus* ВКМ Y-9539 (32,7%), *C. boidinii* ВКМ Y-2356 (30,1%), *Y. lipolytica* 69 (25,7%).

Селекционированные продуценты будут использоваться при разработке процессов получения ПОК.

## СОВМЕСТНОЕ ВЛИЯНИЕ КАДМИЯ, СВИНЦА И БАКТЕРИЙ *BACILLUS SUBTILIS* НА ЗЕЛЕННЫЕ ВОДОРОСЛИ

Тимофеева З.М., Курамшина З.М.

Стерлитамакский филиал ФГБОУ ВО Башкирский государственный университет, Стерлитамак, Россия

zubi.timofeeva@mail.ru

Тяжелые металлы – самые распространенные поллютанты. Тяжелые металлы рассеиваются на большие расстояния вокруг металлургических заводов, тепловых станций, оседают на ближайших сельскохозяйственных угодьях. В практике сельского хозяйства активно используются разнообразные биопрепараты на основе различных микроорганизмов. Применение биопрепаратов на основе считается



экологически безопасным и обеспечивает устойчивость растений к разным загрязнителям и стрессовым факторам. Одними из таких микроорганизмов, являющихся основой биопрепаратов (Фитоспорин, Аллирин и др) являются бактерии *Bacillus subtilis*.

Целью работы явилось определение совместного влияния ионов кадмия, свинца и бактерий *Bacillus subtilis* на зеленые водоросли.

В качестве тест-объектов были выбраны зеленые водоросли *Chlorella vulgaris* и *Scenedesmus quadricauda*, которые выращивали на среде Бристоль. Перед началом эксперимента исходные культуры водорослей сгущали до образования суспензии путем центрифугирования и определяли исходное число клеток в камере Горяева. Затем методом разведений доводили число клеток до одинакового количества ( $23-25 \text{ тыс./см}^3$ ) в контрольных и экспериментальных сосудах, содержащих 20 мл среды и вносили бактерии. Банки сверху накрыли акриловой тканью. В эксперименте использовали суспензии клеток культур *B. subtilis* штаммов 26Д, 11ВМ. Разведением в стерильном 0,9%-ном растворе NaCl получали культуры с такой концентрацией, чтобы в сосудах с водорослями число клеток бактерий составляло  $10^6$  в  $1 \text{ см}^3$ . Нами использовались следующие соли:  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2 \times 3\text{H}_2\text{O}$ , в концентрациях 0,01, 0,1, 1, 10 мг/л.

Показано, что при добавлении в среду ионов тяжелых металлов в концентрации 0,01 и 0,1 мг/мл в первые сутки роста наблюдалось слабое стимулирование роста водорослей *C. vulgaris* и *S. quadricauda* по сравнению с контролем. При увеличении концентрации металлов наблюдали ингибирование роста водорослей, при концентрации 10 мг/л и выше рост водорослей прекращался. Эндофитные штаммы бактерий *B. subtilis* 26Д и 11ВМ ингибировали рост водорослей *C. vulgaris* и *S. Quadricauda* на 25 -30%. Наличие в среде одновременно ионов исследованных металлов и бактерий *B. subtilis* не приводило к усилению ингибирующего действия металлов на рост водорослей *C. vulgaris*, *S. quadricauda*. Выявлено, что действие тяжелых металлов и эндофитных штаммов *B. subtilis* на зеленые водоросли определяется концентрацией металлов, штаммом бактерий и продолжительностью воздействия негативных факторов.

#### СИМБИОТИЧЕСКИЕ И СЕРОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БАКТЕРИЙ ШТАММА *AZOSPIRILLUM THIOPHILUM BV-S*

Титанова Е.О.<sup>1</sup>, Попова И.А.<sup>1,2</sup>, Бурьгин Г.Л.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, Россия

titanova\_elen@mail.ru

Бактерии рода *Azospirillum* широко известны как представители группы ризобактерий, стимулирующих рост растений (PGPR), способные колонизировать корни многих растений как однодольных, так и двудольных. При этом представители двух видов выделены из водных экосистем. В конце 2015 года были опубликованы результаты секвенирования полного генома бактерий штамма *Azospirillum thiophilum* BV-S, выделенного из природного минерального источника из серного бактериального мата, сформированного серуоокисляющей бактерией *Sphaerotilus natans*, что открывает перспективы биотехнологического использования этого штамма.

В данной работе изучена способность штамма *A. thiophilum* BV-S к формированию ассоциации с растениями и проведено серологическое исследование клеток и поверхностных антигенов этих бактерий в сравнении с ризосферными штаммами азоспирилл.

Инокуляция суспензией клеток штамма *A. thiophilum* BV-S проростков пшеницы (сорт Саратовская 29) с последующей микроскопией и иммуноферментным анализом корней позволило выявить адсорбцию бактерий к корневым волоскам уже в первые часы инкубации и сохранение микробных клеток на поверхности корней пшеницы в течение всего эксперимента (4 суток). Иммунофлуоресцентная микроскопия с антителами к ЛПС штамма *A. thiophilum* BV-S выявило локализацию бактерий только на поверхности корней, преимущественно на корневых волосках. Эти данные свидетельствуют о способности клеток штамма *A. thiophilum* BV-S колонизировать корни пшеницы и формировать устойчивый симбиоз с растительным партнёром. Также выявлено достоверное стимулирование бактериями увеличение длины coleoptиле проростков пшеницы, что является косвенным признаком продукции ауксина клетками штамма *A. thiophilum* BV-S.

Результаты серологического изучения клеток штамма *A. thiophilum* BV-S и их липополисахаридов и флагеллинов свидетельствуют о наличии общих антигенных детерминант как белковой, так и углеводной природы у *A. thiophilum* BV-S и ризосферных штаммов азоспирилл разных видов. По серологическим характеристикам ЛПС штамм *A. thiophilum* BV-S может быть отнесен в отдельную группу, занимающую промежуточное положение между серогруппами II и III азоспирилл. А флагеллин полярного жгутика *A. thiophilum* BV-S, предположительно, гликозилирован подобно флагеллину *A. brasilense* Sp7 и содержит антигенные детерминанты сходные с О-антигеном.

Работа выполнена при поддержке грантом РФФИ 16-04-01444.

## МАЛДИ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ – ЭФФЕКТИВНЫЙ МЕТОД СИСТЕМАТИКИ АСКОМИЦЕТНЫХ ДРОЖЖЕЙ

Томашевская М.А.<sup>1</sup>, Субботина М.С.<sup>2</sup>, Кропачев И.А.<sup>2</sup>, Присяжная Н.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушино, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Вятский государственный университет, Киров, Россия

*tommand@rambler.ru*

В последние годы метод МАЛДИ масс-спектрометрии клеток микроорганизмов получил широкое распространение в таксономии прокариот. Однако в случае дрожжей и грибов использование метода ограничено, в том числе, по причине небольшого количества изученных таксонов и малой представленности референтных культур в доступных базах данных МАЛДИ масс-спектров.

Целью данной работы было пополнение локальной базы данных МАЛДИ масс-спектров дрожжей и уточнение видовой принадлежности представителей родов *Debaryomyces* и *Yarrowia* из фонда ВКМ (идентифицированных ранее на основании морфологических и физиолого-биохимических признаков).

Анализ масс-спектров 52 штаммов рода *Debaryomyces* (среди них 41 штамм вида *D. hansenii*) показал, что культуры *D. fabryi*, *D. nepslensis* и *D. maramus*, образуют тесные кластеры вместе с типовыми штаммами этих видов (за исключением значительно обособляющегося *D. nepalensis* ВКМ Y-1033). При этом в кластер *D. fabryi* попали также *D. hansenii* ВКМ Y-596 и *D. hansenii* ВКМ Y-2021. Другие культуры, относящиеся к *D. hansenii* в соответствии с диагнозом вида, гетерогенны по МАЛДИ спектрам. Они формировали несколько плотных кластеров, уровень сходства между которыми был более низким (иногда значительно), чем это определено для видов *D. fabryi*, *D. Nepslensis* и *D. maramus*. Интересно также отметить, что спектры типовых штаммов видов *D. coudertii* и *D. hansenii* (и ряда других культур, примыкающих к *D. hansenii* ВКМ Y-116<sup>T</sup>) были практически идентичными.

В отличие от массива *D. hansenii*, все представители *Yarrowia lipolytica* (80 штаммов) формировали единый кластер с высоким уровнем сходства спектров, который четко обособлялся от типового штамма *Yarrowia deformans*.

Таким образом, в результате проведенного исследования пополнена база данных масс-спектров дрожжей фонда ВКМ, уточнена видовая принадлежность ряда штаммов, а также выявлен большой массив культур, определение таксономического положения которых требует дальнейших исследований с использованием молекулярно-биологических методов.

## ИНАКТИВАЦИЯ ГЕНА ВЕРОЯТНОЙ ЦИСТЕИН ДЕСУЛЬФУРАЗЫ *csdA* ДЕСТРУКТОРА ДИХЛОРЕТАНА *METHYLOBACTERIUM DICHLOROMETHANICUM* DM4

Торгонская М.Л.<sup>1</sup>, Носова Д.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушино, Россия;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВПО Уральский Федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина,  
Екатеринбург, Россия

*mltrmbh@rambler.ru*

Ранее во фракции поверхностных белков клеток аэробного метилотрофного деструктора дихлорметана (ДХМ) *Methylobacterium dichloromethanicum* DM4, выращенных на ДХМ, нами был выявлен белок с приблизительной молекулярной массой 70 кДа, масс-спектрометрически идентифицированный как вероятная цистеин десульфураза *CsdA* (METDI1754). В геноме *M. dichloromethanicum* DM4 присутствует один гомолог гена *csdA*, расположенный отдельно от генов цистеин десульфураз *Suf*- и *Isc*-семейств, локализованных в кластере METDI4969-METDI4972. Аминокислотная последовательность белка *CsdA* лишь на 51% идентична таковой его ближайшего гомолога *SufS* (METDI4972).

С использованием суицидного вектора pK18mob (Km<sup>R</sup>) получен нокаут-мутант с инактивированным геном *csdA* (METDI1754). Ген *csdA* с фланкирующими участками (2416 п.н.) клонировали из *M. dichloromethanicum* DM4 в pK18mob по сайтам рестрикции *Xba*I и *Hind*III, в середине клонированного фрагмента по сайтам рестрикции *Sph*I замещали участок 1320 п.н. геном устойчивости к гентамицину Gm<sup>R</sup> из вектора p34S-Gm. Полученный вектор мобилизовали в *M. dichloromethanicum* DM4 с помощью *E. coli* S17-1 λpir. Трансконъюганты отбирали по устойчивости к гентамицину и чувствительности к канамицину. Инсерцию Gm<sup>R</sup> подтверждали ПЦР с праймерами на фланкирующие ген *csdA* последовательности.

Мутант *M. dichloromethanicum* DM4 Δ*csdA* растет на сукцинате, метаноле и ДХМ, однако, при переносе на среду с метиламином в качестве единственного источника С и N, демонстрирует трехкратное снижение скорости роста по сравнению с исходным штаммом. Это эффект может быть связан со снижением у DM4 Δ*csdA* синтеза ферредоксинов для превращения L-глутамин в L-глутамат. Аналогично, низкая эффективность синтеза кофакторов детоксикации формальдегида (молибдоптерин, НАД<sup>+</sup>, GSH), может являться причиной 30%-го повышения чувствительности к нему клеток мутанта, выращенных до стационарной фазы роста на ДХМ. Установлено, что добавление 2% этанола, моделирующее окислительный стресс, приводит к снижению выживаемости клеток DM4 Δ*csdA* на два порядка по сравнению с исходным

штаммом. Отсутствие различий в чувствительности мутантного и дикого штамма к  $H_2O_2$ , по-видимому, объясняется функционированием  $H_2O_2$ -устойчивой Suf-системы цистеин десульфураз. Результаты нашей работы свидетельствуют об участии белка CsdA (METD11754) в специфической защите клеток *M. dichloromethanicum* DM4 от окислительного стресса и биосинтезе серосодержащих кофакторов  $C_1$ -метаболизма.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 15-04-04458-а.

### **ВЛИЯНИЕ КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ НА ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ БАКТЕРИЙ НОРМОБИОТЫ**

**Трашкова Т.М.<sup>1</sup>, Моругина А.С.<sup>2</sup>, Вахитов Т.Я.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГУП Гос. НИИ особо чистых биопрепаратов ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

*nemimantoya@yandex.ru*

Карбоновые кислоты (КК) преимущественно образуются в толстой кишке и оказывают воздействие как на саму микробиоту, их производящую, так и на организм хозяина. Часть образованных КК утилизируется как энергетический субстрат, другие поступают в органы и ткани, где служат в качестве источника энергии или модулятора физиологических процессов и метаболических реакций.

Целью данной работы являлось сравнительное изучение влияния различных КК на пролиферацию клеток нормобиоты, а также поиск веществ, обладающих сходной биологической активностью по отношению к пробиотическим штаммам и клеткам органотипических тканей.

В работе использовался пробиотический штамм *E.coli* M-17.

Эффективность действия карбоновых кислот оценивали по влиянию их на рост микроорганизмов на жидких и плотных средах (инициация роста и размер колоний). В первом методе экзометаболиты в концентрации от 0,1 до 10000 нг/мл добавляли в пробирки к культуре, разведенной до концентрации  $2 \times 10^2, 2 \times 10^3$  КОЕ/мл, инкубировали при 37°C. Эффективность роста оценивали через 22 часа. Для определения размера колоний культуру в оптимальной концентрации высевали на чашки Петри с агаризованной средой M-9, содержащей исследуемые КК в концентрации 20 мкг/мл. Чашки инкубировали при 37°C в течение 50 часов. После инкубации определяли средний диаметр колоний на контрольных чашках (без внесения КК) и чашках с добавками, рассчитывали индекс площади колоний.

В работе было исследовано действие 23 карбоновых кислот и их солей. В результате были выделены группы стимуляторов (яблочная, пировиноградная, фумаровая, масляная, янтарная, молочная, валериановая, изовалериановая кислоты, ГАМК, L-лактат, натрия сукцинат, натрия формиат, натрия ацетат), нейтрально действующих (глутаровая, лимонная, малеиновая, капроновая, 3-оксимасляная кислоты, D,L-лактат, натрия пропионат) и экзометаболитов-ингибиторов (ароматические КК - фенилянтарная, фенилмасляная, фенилмолочная).

Ранее при морфометрическом исследовании роста эксплантов крыс (печень, почка, поджелудочная железа и селезенка), было показано, что фумаровая, масляная, пировиноградная и изовалериановая кислоты оказывают стимулирующее действие на пролиферативную активность клеток в органотипических культурах тканей. Аналогичный эффект был отмечен и для бактериальных клеток. Малеиновая, лимонная, капроновая и 3-оксимасляная кислоты в обоих случаях не проявили значительного влияния. Ароматические карбоновые кислоты и аминокислоты (тирозин, триптофан и фенилаланин) оказали ингибирующий эффект на пролиферацию как бактериальных клеток, так и клеток в органотипических тканях, за исключением ткани почки.

### **ВОЗМОЖНЫЕ ПУТИ ДЕСТРУКЦИИ АРОМАТИЧЕСКОЙ СОСТАВЛЯЮЩЕЙ НЕФТИ НЕКОТОРЫМИ ВИДАМИ БАКТЕРИЙ-НЕФТЕДЕСТРУКТОРОВ ВЫДЕЛЕННЫМИ ИЗ ЭНДО И РИЗОСФЕРЫ РАСТЕНИЙ**

**Третьякова М.С.<sup>1</sup>, Беловежец Л.А.<sup>2</sup>, Макарова Л.Е.<sup>1</sup>, Маркова Ю.А.<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup> ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия; <sup>2</sup> ФГБУН Институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, Иркутск, Россия; <sup>3</sup> ФГБОУ ВО Иркутский национальный исследовательский технический университет, Иркутск, Россия

*marina-tretjakova@yandex.ru*

В настоящее время перспективным способом по очистке нефтезагрязненной территории является биоремедиация, основанная на использовании аборигенных углеводородокисляющих микроорганизмов, в частности используются эндофитные и ризосферные бактерии. Для более эффективного применения данных микроорганизмов в биоремедиации необходимо понимание путей, по которым идет разложение нефти в природных условиях. Среди фракций нефти особо интересными являются ароматические соединения, которые являются наиболее токсичной частью нефти. Для расщепления этих веществ микроорганизм-

деструктор должен обладать определенным набором оксигеназных ферментов, расщепляющих нефть до безопасных соединений. Для прослеживания преобразования исходного соединения проще всего зафиксировать ряд промежуточных веществ, получающихся в процессе микробиологической деструкции, т. к. большинство конечных соединений встраиваются в метаболизм самих бактерий и их определение практически невозможно.

Для изучения основных путей разложения нефти использовались аборигенные штаммы, выделенные из ризосферы и эндосферы растений, которые ранее показали активную деструкцию нефти в жидкой минеральной среде, а также оказались способны выживать в условиях высоких концентраций нефти (до 50%).

По результатам проведенного нами ВЭЖХ-анализа выявлены все основные метаболиты, свидетельствующие о различной активности разложения ПАУ у выбранных штаммов. У каждого штамма реализовался один основной путь деградации ароматических соединений – с образованием салициловой кислоты и пирокатехина. У двух близкородственных штаммов, относящихся к роду *Acinetobacter*, были зарегистрированы соединения, свидетельствующие о реализации различных путей деструкции ПАУ. Так, у штамма 112 выявлялись пики, соответствующие салициловой и протокатеховой кислотам, что свидетельствует о наличии у него двух путей деструкции ПАУ. У штамма 114, очевидно, разложение ПАУ происходит только по одному пути – пути образования салициловой кислоты и ее деривата - пирокатехина.

Таким образом, у полученных штаммов выявлены возможные пути биодеградации ароматической составляющей нефти путем мониторинга состава низкомолекулярных фенольных компонентов, что позволит лучше понять процессы, происходящие при разложении нефти микроорганизмами.

### **ВЫЖИВАЕМОСТЬ БАКТЕРИЙ В ПОЛИМИКРОБНЫХ БИОПЛЕНКАХ**

**Тризна Е.Ю., Мухаметзянова С.Р., Байдамшина Д.Р., Курбангалиева А.Р., Баранова Н.Б.,  
Шарафутдинов И.С., Каюмов А.Р.**

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

*trizna91@mail.ru*

Бактерии в природе могут существовать в двух состояниях: в виде планктонных клеток или в составе биопленок. В последние годы с помощью метагеномики и изучения микробиома бактериальных биопленок было показано, что человеческое тело, корневую систему растений, холодные и горячие водоемы населяют в основном полимикробные биопленки, состав которых может содержать до 6 различных видов бактерий. Действие антибиотиков, используемых в настоящее время, обладает низкой эффективностью против бактерий, находящихся в составе мономикробных биопленок. В полимикробных биопленках устойчивость бактерий к действию антибиотиков и биоцидов возрастает в несколько раз, при этом вирулентность таких сообществ также возрастает. Микоплазмы, эффективно обходящие защитные системы организма и вызывающие хронические воспалительные процессы также способны образовывать биопленки. В водной среде полимикробные биопленки могут вызывать коррозии металлов судов, что приносит большие экономические затраты судовым компаниям.

Целью работы было моделирование в условиях *in vitro* взаимодействия грамположительных бактерий *Bacillus subtilis* и *Micrococcus luteus*, а также растительного паразита микоплазмы *Acholeplasma laidlawii* в составе их общей биопленки и оценка интегративной способности микоплазм в микробные биопленки.

Для моделирования полимикробных биопленок был проведен скрининг питательных сред, обеспечивающих образование плотной биопленки всеми используемыми штаммами бактерий. В результате была отобрана среда БМ.

Были получены смешанные биопленки образованные клетками *B. subtilis* и *M. luteus*. За счет использования кокковых и палочковидных форм бактерий упрощается задача идентификации бактерий в смешанной пленке по форме клеток. Ранее нами был проведен скрининг фуранонов, подавляющих образование мономикробных биопленок. Для фуранона F105, проявляющего максимальную активность при низкой токсичности, была установлена МБПК для отобранных штаммов. В присутствии F105 большинство клеток микрококка оказывалось нежизнеспособным, тогда как в составе смешанной биопленки клетки выживали, а также не оказывали антагонистического действия против клеток бацилл.

Также была показана способность микоплазм *A. laidlawii* интегрироваться в биопленку образованную клетками бацилл. В дальнейшем планируется изучить жизнеспособность бацилл, находящихся в составе подобных биопленок, в присутствии неблагоприятных факторов среды.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского Научного Фонда (Проект №15-14-00046)

## ТАКСОНОМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НОВЫХ ШТАММОВ МЕТАНОГЕННЫХ АРХЕЙ, УЧАСТВУЮЩИХ В РАЗЛОЖЕНИИ АЛКИЛБЕНЗОЛСУЛЬФОНАТОВ

Трубицын В.Э.<sup>1</sup>, Рыжманова Я.В.<sup>2</sup>, Ошуркова В.И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Вятский государственный университет, Киров, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт физиологии и биохимии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушино, Россия

TVA\_pro@mail.ru

Метаногенные сообщества различных местообитаний являются предметом тщательных и продуктивных исследований. Это обусловлено не только желанием изучить разнообразие микроорганизмов окружающей среды и их биологическую роль, но и экономической целесообразностью. Ранее исследователями было доказано, что в сообществах анаэробных микроорганизмов может происходить утилизация ксенобиотиков, в том числе алкилбензолсульфонатов, на основе которых получают большинство моющих средств.

При изучении такого сообщества на основе гранулированной биомассы из UASB-реактора, в лаборатории анаэробных микроорганизмов Института биохимии и физиологии микроорганизмов имени Г.К. Скрыбина были выделены два штамма метанообразующих архей: водородиспользующий штамм МН VKM В-2198 и штамм ММ VKM В-2199, способный утилизировать ацетат. Цель настоящего исследования состояла в определении таксономического положения новых штаммов метаногенов.

Штамм МН представлен неподвижными одиночными грамотрицательными палочками, часто образующими цепочки длиной более 30 мкм. Штамм ММ растет в виде мелких агрегатов по 2-6 клеток полигональной формы диаметром от 0,8 до 3 мкм, окруженных общей оболочкой. Имеет клеточную стенку грамположительного типа.

Нами были получены почти полные последовательности гена 16S рРНК исследуемых метаногенов длиной XX и XX, соответственно. Филогенетический анализ показал, что штамм ММ кластеризуется с метаногенными археями рода *Methanosarcina*, а его ближайшим соседом является *Methanosarcina barkeri* (99,6% сходства). Однако, сравнение фенотипических свойств ММ и близкородственных видов выявило ряд различий в Г+Ц составе и спектре потребляемых субстратов. Для окончательного вывода о таксономическом положении изолята необходимо определить уровень ДНК-ДНК гибридизации штамма ММ с референтным штаммом *M.barkeri*.

Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК штамма МН показал, что он кластеризуется с метаногенами рода *Methanobacterium*, а его ближайшим родственником является *Methanobacterium congolense* с 98,8% сходства. Подобный уровень сходства свидетельствует, о том, что штамм МН является новым видом рода *Methanobacterium*.

Вывод. Установлена принадлежность штаммов МН и ММ, выделенных из анаэробного сообщества разлагающего алкилбензолсульфонаты, к родам *Methanobacterium* и *Methanosarcina*, соответственно. Полученные результаты показали, что изоляты, вероятно, являются новыми видами метаногенных архей в рамках этих родов.

## ЦИРКУЛЯЦИЯ ГЛУТАТИОНА ПРИ ИЗМЕНЕНИИ ДОСТУПНОСТИ НЕОРГАНИЧЕСКОГО ФОСФАТА У БАКТЕРИЙ *ESCHERICHIA COLI*

Тюленев А.В.<sup>1</sup>, Смирнова Г.В.<sup>1</sup>, Буров В.Е.<sup>2</sup>, Октябрьский О.Н.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Пермский национальный исследовательский политехнический университет, Пермь, Россия

Leksey333@yandex.ru

Чередование периодов голодания и роста у бактерий является неотъемлемой частью жизнедеятельности. Молекулярные механизмы ответа на стресс голода известны, однако переходные процессы, сопровождающие адаптацию к этому стрессу, а также роль редокс-статуса среды и клетки изучены недостаточно. Ранее нами показано, что в экспоненциально растущих культурах *E. coli* глутатион (GSH, основной внутриклеточный редокс-буфер) непрерывно циркулирует между клетками и средой. Динамическое равновесие между входом и выходом GSH изменяется при стрессовых воздействиях. В данной работе исследовались изменения уровней внутри- (GSH<sub>in</sub>) и внеклеточного (GSH<sub>out</sub>) глутатиона в условиях голода по источнику фосфора (P<sub>i</sub>) и возобновления роста, после его добавления.

Объект исследования: бактерии *E. coli* BW25113(wt) и мутанты JW3412(*Aggt*) и AN2343 (*cydD1*). Бактерии выращивали на среде MOPS с глюкозой с заданной концентрацией фосфата при 37°C в колбах на орбитальном шейкере (150 об/мин). Для создания условий голодания использовали среду без фосфата. Количество GSH<sub>in</sub> и GSH<sub>out</sub> определяли циклическим методом Титца.

В присутствии фосфата растущие бактерии BW25113 накапливали GSH<sub>in</sub> пропорционально увеличению биомассы. Уровень GSH<sub>out</sub> сохранялся постоянным на протяжении всей периодики. При

голодании наблюдалось постепенное снижение  $GSH_{out}$ , тогда как уровень  $GSH_{in}$  увеличивался в 17 раз, этот эффект отсутствовал в растущей культуре. Таким образом, переход к голоданию сопровождается замедлением циркуляции GSH и его внутриклеточной аккумуляцией.

При внесении 150 мкМ  $KH_2PO_4$  в длительно голодающую по фосфату культуру, содержание  $GSH_{out}$  быстро возрастало, увеличиваясь 10-кратно по сравнению с базовым уровнем. Выход GSH из клетки носил обратимый характер. Возвращение GSH в клетки замедлялось у мутанта по  $\gamma$ -глутамилтранспептидазе (GGT) – ферменту, участвующему в гидролизе GSH и переносу его фрагментов в цитоплазму.

CydDC является единственной известной экспортной системой для GSH. Выход глутатиона при добавлении фосфата в голодающую культуру в мутанте *cydD1* снижался в 1.5 раза в сравнении с родительским штаммом. Это указывает на то, что в данной ситуации большая часть глутатиона экспортировалась через не идентифицированную транспортную систему, меньшая – через транспортер CydDC.

Исследования поддержаны грантами РФФИ № 16-04-00762 и грантом № 15-4-4-16 Комплексной программы УрО РАН.

### ВЛИЯНИЕ ЦИПРОФЛОКСАЦИНА НА УРОВЕНЬ ЭКСТРАКЛЕТОЧНОГО СУЛЬФИТА ( $SO_3^{2-}$ ) У БАКТЕРИЙ *ESCHERICHIA COLI*

Ушаков В.Ю.<sup>1,2</sup>, Смирнова Г.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

*ushakovvad@yandex.ru*

Ранее было показано, что при воздействии ряда антибиотиков бактерии продуцируют активные формы кислорода (АФК). Было предположено, что эти АФК могут вносить вклад в убивание бактерий антибиотиками. Развитие окислительного стресса как неспецифической реакции, сопровождающей действие антибиотиков, в частности, фторхинолона ципрофлоксацина (CF), было показано в растущих культурах *Escherichia coli*. Образующиеся при окислительном стрессе анионный радикал супероксида  $O_2^*$  и  $H_2O_2$  могут подвергаться детоксикации как ферментными системами (каталаза, супероксиддисмутаза), так и низкомолекулярными тиолами, например глутатионом (GSH). Потенциальной антиоксидантной активностью может обладать сульфит ( $SO_3^{2-}$ , один из продуктов метаболизма серы у бактерий).

Целью данной работы было исследование действия разных концентраций ципрофлоксацина (CF) (0.3  $\mu\text{g/ml}$  и 3  $\mu\text{g/ml}$ ) на модуляцию уровня экстраклеточного сульфита ( $SO_3^{2-}$ ). В качестве объекта исследования использовали бактерии *E. coli* родительского типа (wt) и делеционный мутант по синтезу глутатиона (*gshA*). Бактерии выращивали в аэробных условиях на минимальной среде М9 с глюкозой, уровень сульфита в среде измеряли после достижения  $OD_{600} = 0.4$ .

В культурах родительского типа и мутанте *gshA* бактериостатическое действие CF при концентрации 0.3  $\mu\text{g/ml}$  проявлялось через 75 мин после его добавления, при 3  $\mu\text{g/ml}$  – через 30 мин. В необработанных антибиотиком культурах обоих штаммов концентрация  $SO_3^{2-}$  в среде через 90 мин от начала культивирования снижалась в 2 раза. Динамика уровня экстраклеточного сульфита при добавлении в среду культивирования CF зависела от концентрации антибиотика и наличия мутации. Обработка клеток родительского типа ципрофлоксацином в концентрации 0.3  $\mu\text{g/ml}$  и 3  $\mu\text{g/ml}$  приводила к снижению уровня  $SO_3^{2-}$  на 25% по сравнению с необработанными клетками за 30 и 5 мин экспозиции, соответственно. После указанного времени концентрация сульфита продолжала незначительно падать при действии CF 0.3  $\mu\text{g/ml}$  и оставалась неизменной у клеток, обработанных 3  $\mu\text{g/ml}$ . В культурах *gshA* не обнаружено достоверного снижения уровня сульфита при действии ципрофлоксацина. Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 16-04-00762 и гранта № 15-4-4-16 Комплексной программы УрО РАН.

### ВЫДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИЙ-ДЕСТРУКТОРОВ ДДТ ИЗ ПОЧВ, ДЛИТЕЛЬНО ЗАГРЯЗНЁННЫХ ХЛОРООРГАНИЧЕСКИМИ ИНСЕКТИЦИДАМИ

Фарофонова В.В.<sup>1</sup>, Егорова Д.О.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

*CrazyTide@yandex.ru*

ДДТ – инсектицид широкого спектра действия. По масштабам применения в 20 веке занимал одно из лидирующих положений. ДДТ оказывает негативное влияние на здоровье человека, попадая в организм благодаря биоаккумуляции в пищевой цепи. На основании всех перечисленных свойств ДДТ включен в состав стойких органических загрязнителей (СОЗ). Однако его производство не запрещено, а ограничено. В связи с этим проблема разложения ДДТ в окружающей среде является актуальной.

Разложение ДДТ бактериями на начальном этапе происходит: 1) через дехлорирование молекулы, 2) по пути окисления одного из колец молекулы. Второй путь представляет научный и практический интерес, так как описан на данный момент только для одного штамма рода *Pseudomonas* и обеспечивает минерализацию ДДТ. Возможным метаболитом при этом является 4-хлорбензойная кислота (4ХБК). Первоначальное окисление молекулы ДДТ осуществляется 2,3-диоксигеназой, вероятно схожей с бифенил-2,3-диоксигеназой.

Цель работы – поиск новых бактерий, осуществляющих аэробное разложение ДДТ через стадию гидроксилирования молекулы.

В почвах, длительное время загрязненных соединениями группы СОЗ, происходит селекция бактерий, способных разлагать широкий спектр химических соединений. Штаммы-деструкторы были выделены методом накопительных культур из почв ООПТ «Осинская лесная дача», загрязненных в течение 40 лет различными инсектицидами. Описана морфология 40 изолятов, установлены их ДНК-профили, полученные в результате Вох-PCR.

Для дальнейшего исследования отобраны штаммы, осуществляющие разложение ДДТ, бифенила и 4-ХБК. Способность к разложению оценивали по изменению оптической плотности бактериальной культуры в минеральной среде, содержащей в качестве источника углерода одно из перечисленных соединений. Анализ полученных результатов показал, что 17 штаммов осуществляют разложение бифенила, 19 штаммов – ДДТ и 20 штаммов – 4-ХБК. Особый интерес представляют 10 штаммов (WD: 25, 12.1, 24, 13, 19, 4, 41, 5, 10.1, 16р), способные утилизировать все три субстрата, а также 5 штаммов (WD: 34, 30, 43, 26, 36), разлагающих ДДТ и 4-ХБК. Также стоит рассматривать как перспективные штаммы WD 32, 14.1, 12р, осуществляющие деструкцию бифенила и ДДТ.

Штаммы WD 10.1, 5, 25 и 16р отнесены к родам *Cupriavidus*, *Terrabacter*, *Kocuria* и *Bosea* на основании анализа нуклеотидной последовательности части гена 16S субъединицы рРНК.

Таким образом, выделены бактериальные штаммы, которые вероятно способны разлагать ДДТ через стадию гидроксилирования ароматического кольца молекулы.

Работа поддержана грантом РФФИ №14-04-96021\_урал\_a.

#### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТАБИЛЬНОСТИ ДОНОРА АТТЕНУАЦИИ В/СССР/60/69 МЕТОДОМ ПИРОСЕКВЕНИРОВАНИЯ

**Федорова Е.А., Крутикова Е.В.**

ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

*fedorova.iem@gmail.com*

Пиросеквенирование позволяет в режиме реального времени оценивать генетическую последовательность участков генома различных организмов. Кроме возможности чтения генома *de novo*, были разработаны подходы, позволяющие использовать метод пиросеквенирования для количественной экспресс-оценки состава участков с известной последовательностью в образце (анализ одиночных полиморфизмов, аллельный состав). С помощью технологии, реализуемой в системе анализа Pyromark Q24 можно проводить анализ участка генетической последовательности 24 образцов в получасовой промежуток времени с количественным определением содержания разных вариантов полиморфного нуклеотида в образце.

В вирусологии данный метод часто применяется для определения лекарственной чувствительности вирусов, в частности, устойчивости вирусов гриппа к ингибиторам нейраминидазы, для которых описана четкая связь с одиночными мутациями в активном центре белка.

Мы разработали систему экспресс-оценки сохранности уникальных мутаций в геноме вакцинного реассортанта, предназначенного для подготовки живой холодоадаптированной вакцины против циркулирующих вирусов гриппа подтипа В, в основе которой лежит пиросеквенирование участков генов вируса гриппа с использованием Pyromark Q24. Ежегодно ВОЗ, на основе оценки свойств циркулирующих изолятов вирусов гриппа, корректирует состав вакцины, предназначенной для иммунизации против гриппа в следующем сезоне.

Штаммы живой холодоадаптированной гриппозной вакцины в России получают методом реассортации эпидемического вируса гриппа и холодоадаптированного донора аттенуации в развивающихся куриных эмбрионах. В случае вируса гриппа В используется донор аттенуации В/СССР/60/69. Геном донора аттенуации содержит ряд уникальных мутаций в генах, кодирующих внутренние белки вируса гриппа, которые в дальнейшем отвечают за безопасность применения вакцины у людей. Готовый вакцинный штамм проходит ряд пассажей в развивающихся куриных эмбрионах для подтверждения генетической стабильности полученного варианта. Пиросеквенирование участков генома, содержащих уникальные мутации, позволяет оперативно произвести оценку безопасности вакцинного штамма в процессе подготовки.

Разработанная нами система также может быть использована для оценки отсутствия реверсий к исходным вариантам в клинических изолятах вирусов, полученных при клинических испытаниях живой

гриппозной вакцины, у привитых лиц, что является важнейшим доказательством безопасности штамма живой гриппозной вакцины.

### **ВЛИЯНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ РИБОНУКЛЕАЗЫ *BACILLUS ALTITUDINIS* НА ДИНАМИКУ ТИТРА БАКТЕРИОФАГА В КУЛЬТУРАЛЬНОЙ СРЕДЕ *BACILLUS ALTITUDINIS***

**Хазиева Л.Р., Шах Махмуд Р.**

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

*kalipso.94@mail.ru*

Рибонуклеаза почвенных грамположительных бактерий является одним из изучаемых ферментов среди бактериальных нуклеаз. Данный фермент проявляет противоопухолевые действия на некоторые злокачественные опухоли и противовирусные действия на вирусы гриппа А(H1N1), вирусы ящура, бешенства и другие. Чтобы установить модельный эксперимент противовирусного действия рибонуклеазы, нами были выбраны природные бактериофаги *B. altitudinis* и рибонуклеаза секретирующие бактериальные клетки *B. altitudinis*. Таким образом, целью нашей работы было определение влияния вируса *B. altitudinis*. на секрецию рибонуклеазы клетками.

В исследовании, для определения влияния бактериофага *B. altitudinis* на секрецию рибонуклеазы были проведены динамики роста вирусзараженных клеток с разными концентрациями бактерий и бактериофагов. При изучении рибонуклеазы вирусзараженных клеток *B. altitudinis* установлено, что пики активности при действии бактериофагов смещаются. Из незараженных клеток рибонуклеаза выходит в конце стационарной фазы роста на 16-ом часу и в начале фазы отмирания. При заражении пики активности смещаются, в случаи 0,01 МЖИ (множественность инфекции) максимальная секреция рибонуклеазы появляется на 12-ом часу роста. При 100 МЖИ пик РНКазной активности появляется на 8-ом часу. Уровень рибонуклеазной активности при заражении бактериофагом уменьшается в 5 и 6 раз соответственно.

Для определения влияния секреции рибонуклеазы на титр бактериофага *B. altitudinis*, были использованы те же данные динамики роста вирусзараженных клеток *B. altitudinis*. Вирус интенсивно размножается до 8-го часа. Когда в культуральной среде начинается секреция рибонуклеазы, титр бактериофага падает с 14-го часа, до тех пор, пока идет секреция рибонуклеазы. После 14-го часа секреция фермента уменьшается, одновременно начинает подниматься титр вируса. Таким образом, на титр падение титра вируса в культуральной среде происходит с появлением рибонуклеазы. Это проявление доказывает прямое влияние рибонуклеазы *B. altitudinis* на репродукцию вируса *B. altitudinis*.

Установлено, что при заражении бактериофагом клетки *B. altitudinis*, характер динамики роста изменяется с исчезновением стационарной фазы роста. При заражении вирусом 0.01 МЖИ и 100 МЖИ происходит смещение динамики секреции рибонуклеазы с уменьшением уровня РНКазной активности в 5 и 6 раз, соответственно. Характер динамики титра вируса изменяется с появлением рибонуклеазы *B. altitudinis* в культуральной среде.

### **БИОДЕГРАДАЦИЯ ДЕГИДРОАБИЕТИНОВОЙ КИСЛОТЫ АКТИНОБАКТЕРИЯМИ РОДА *DIETZIA***

**Черемных К.М.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

*kseniya.cheremnih@gmail.com*

Дегидроабиетиновая кислота (ДАК) – природный трициклический дитерпеноид, входящий в состав отходов целлюлозно-бумажной промышленности, является выраженным экотоксикантом. В настоящее время актуален поиск эффективного способа нейтрализации ДАК. Наиболее перспективны биологические методы, основанные на использовании ферментативной активности микроорганизмов. Описанные биодеструкторы (*Pseudomonas abietaniphila*, *Sphingomonas yanoikuyae* и др.) проявляют свою активность при концентрации ДАК не более 250 мг/л. В связи с этим актуален поиск новых биокатализаторов с более высокой деградабельной активностью в отношении ДАК. Одной из активно разрабатываемых в биотехнологии групп микроорганизмов являются актинобактерии, способные трансформировать различные ксенобиотики.

В работе исследована возможность использования коллекционных штаммов диетций из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (акроним ИЭГМ, [www.iegmcol.ru/strains/index.html](http://www.iegmcol.ru/strains/index.html)) для биодеградации ДАК. Клетки выращивали в минеральной среде К (Catalogue of Strains of Regional Specialized Collection of Alkanotrophic Microorganisms. 2015 <http://www.iegmcol.ru> [19.02.16]) с добавлением 0,1 об.% *n*-гексадекана. ДАК в концентрации 500 мг/л вносили в виде раствора в этаноле через 48 ч роста культуры. Продолжительность процесса деградации составляла 7 сут.



По нашим данным, добавление ДАК в среду культивирования *Dietzia maris* ИЭГМ 55<sup>T</sup> приводило к снижению ростовой и дыхательной активности актинобактерий. В течение всего эксперимента количество жизнеспособных клеток поддерживалось практически на одном уровне. Респираторная активность через 24 ч после добавления ДАК постепенно увеличивалась, а на 5 сут превышала аналогичные показатели биотического контроля. С использованием различных ингибиторов ферментных оксигеназных комплексов подтверждено участие цитохром Р450-зависимых монооксигеназ в процессе биодеструкции ДАК. По данным ГХ-МС, в конце эксперимента на 7 сутки *n*-гексадекан в среде не обнаруживался, а остаточное содержание ДАК составляло менее 2%. Методом определения антимикробной активности показано, что экстракты полученных метаболитов не обладали выраженной токсичностью по сравнению с таковой исходного субстрата. В результате проведенных исследований показана возможность использования коллекционного штамма *D. maris* ИЭГМ 55<sup>T</sup> в качестве эффективного биодеструктора токсичной ДАК. Исследования выполнены в рамках Комплексной программы УрО РАН (проект 1512410).

### ГЕНОМНЫЕ ОСТРОВА У ПРИРОДНЫХ ШТАММОВ *SINORHIZOBIUM MELILOTI*

Черкасова М.Е., Мунтян В.С., Румянцева М.Л.

ГНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

*mariiacherkasova@mail.ru*

У клубеньковых бактерий люцерны (*Sinorhizobium meliloti*) в структуре хромосомы выявлены три последовательности, которые соответствуют определению «геномные острова». Эти последовательности, обозначенные как острова Sme21T, Sme19T и Sme80S, были описаны у модельного штамма Rm1021, тогда как данные о встречаемости их у природных штаммов в литературе отсутствовали. Нами выполнен структурный анализ островов штамма Rm1021, построены их физические карты и разработана система ПЦР-анализа для поиска островов. Проведен скрининг 184 природных штаммов, различавшихся по географическому происхождению (Северный Кавказ и Приаралье), источнику выделения (клубеньки, почва) и солеустойчивости. Оказалось, что наличие всех трех островов в геноме, как это показано для Rm1021, является скорее исключением, чем правилом, поскольку частота встречаемости таких штаммов не превысила 0.04. Тем не менее, более 55% штаммов содержали в геноме 1 или сочетания 2-х островов, при этом индекс разнообразия Шеннона составил 1.65. Полученные данные впервые позволили показать, что в геномах географически различных штаммов *S. meliloti* имело место закрепление функционально различных островов. Остров Sme21T, содержащий гены, вовлеченные в информационные процессы, встречался в геномах штаммов, выделенных на территории Северного Кавказа, в 4 раза чаще, чем у штаммов из Приаралья (0.24 и 0.06, соответственно). Наиболее протяженный остров Sme80S, содержащий гены, влияющие на адаптивность, преимущественно был идентифицирован (частота 0.29) в геномах штаммов, выделенных в районе Приаралья, который подвержен засолению. Достоверных различий по встречаемости острова Sme19T, который содержит многочисленные гены, кодирующие транспозазы, между изучаемыми популяциями штаммов не обнаружено. Анализ неравновесия по сцеплению (LD) между различными парами островов позволил выявить их независимое наследование у солечувствительных штаммов различного географического происхождения и, наоборот, отсутствие такового для большинства рассмотренных сочетаний у солеустойчивых штаммов. В соответствии с этим сделано заключение, что структура хромосомы у штаммов, преимущественно солечувствительного фенотипа, активно подвержена рекомбинационным процессам, что может предопределять интенсивность микроэволюционных процессов в бактериальных популяциях и способствовать быстрой адаптации бактерий к внешним неблагоприятным воздействиям.

Работа поддержана двумя грантами РФФИ 15-04-09295а и 14-04-01441а.

### ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ДЕСТРУКТОРОВ НЕФТИ ИЗ ГЕОГРАФИЧЕСКИ УДАЛЕННЫХ РЕГИОНОВ

Чернявская М.И.<sup>1</sup>, Делеган Я.А.<sup>2</sup>, Филонов А.Е.<sup>2</sup>, Титок М.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь; <sup>2</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино, Россия

*mm-cher@tut.by*

Антропогенное и природное загрязнение окружающей среды нефтью (содержит около 1000 компонентов, многие из них плохо деградируются, являются мутагенами и канцерогенами) оказывает губительное действие на экосистемы. Поиск экологически безопасных технологий очистки от аварийных разливов нефти является актуальной задачей для стран, добывающих, транспортирующих и перерабатывающих этот пока основной вид энергоносителей. При создании биопрепаратов ключевым моментом является подбор микроорганизмов, способных эффективно деградировать нефть в конкретных условиях внешней среды. Для очистки разных географических регионов (с жарким, холодным, умеренным климатом, с определенной влажностью, радиацией, осмолярностью и др.)

наиболее оптимальным является использование деструкторов, изначально приспособленных к определенным внешним условиям среды. Однако ключевые физиолого-биохимические свойства микроорганизмов обусловлены их таксономическим статусом (представители одной таксономической группы обладают сходными признаками).

Целью работы явилось изучение видового разнообразия бактерий-деструкторов, выделенных из географически удаленных регионов (Беларусь, Ливия, Ирак и Антарктида).

Физиолого-биохимический и молекулярно-генетический анализ 24 штаммов-деструкторов нефти позволил установить, что во всех исследованных регионах выявляются грамположительные с высоким содержанием ГЦ-пар микроорганизмы, относящиеся к группе *Actinobacteria* (12 штаммов отнесены к *Rhodococcus erythropolis*, *R. opacus*, *R. pyridinivorans*, *Dietzia sp.*, *Arthrobacter sp* и *Micrococcus sp.*). В Ливии и Ираке обнаружены грамположительные бактерии с низким содержанием ГЦ-пар группы *Firmicutes* (по одному штамму *Bacillus sp.*, *B. flexus*, *B. licheniformis* и *Planococcus maitriensis*). Грамотрицательные гамма-протеобактерии обнаружены в Ливии, Ираке и Антарктиде (6 штаммов отнесены к *Pseudomonas sp.*, *P. stutzeri*, *Acinetobacter radioresistens*, *Alkanindiges sp.*). В Антарктиде выделен один штамм представитель группы *Deinococcus (Deinococcus sp.)*.

Следует отметить, что для выявленных во всех исследованных регионах *R. pyridinivorans* не обнаружены генетические (фингерпринты с разными типами праймеров не выявили отличий) и физиологические отличия (характеризовались идентичными параметрами роста при разных условиях). Однако один из штаммов *R. pyridinivorans* L5A-BSU из почвенного образца Ливии (всего выявлено 6 штаммов *R. pyridinivorans*) обладал наибольшим спектром утилизируемых субстратов и наиболее эффективно деградировал нефть в жидкой среде и песчаной почве при разных температурных режимах (от 28 до 45 °C).

#### ПОИСК КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ, СИНТЕЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИОЦИНЫ

Чистякова Д.А.<sup>1,2</sup>, Блинкова Л.П.<sup>1</sup>, Зайцева Е.В.<sup>1</sup>, Ожован И.М.<sup>1</sup>, Максимова О.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ НИИ Вакцин и Сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; <sup>2</sup>ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия

*mushka1994@list.ru*

Необходимость скрининга штаммов микроорганизмов, продуцирующих антагонистические вещества, к которым относятся бактериоцины (БЦ), обусловлена потребностью практической медицины в новых эффективных антибактериальных препаратах. Бактериоцины – вещества белковой (пептидной) природы, продуцируемые микроорганизмами и обладающие антимикробным действием. Известно, что антибиотики обладают многочисленными побочными действиями, в то время как бактериоцины нормализуют микробный ценоз при некоторых патологиях у человека и животных. Поэтому выделенные штаммы клинических культур-продуцентов бактериоцинов могут привести к созданию новых лекарственных препаратов.

Таким образом, поиск новых клинических штаммов-продуцентов и изучение их свойств является актуальным вопросом для дальнейшего создания медицинских препаратов.

Цель исследования – поиск и изучение свойств свежевыделенных клинических штаммов – продуцентов бактериоцинов, перспективных для дальнейших биотехнологических разработок.

Материалы и методы. Работа проведена на базе ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова с использованием клинических культур, выделенных медперсоналом из различных органов пациентов с их согласия. Выделенные штаммы идентифицировали до рода или до вида. Индикаторными штаммами являлись штаммы *M. luteus* NCTC 2665. Тестирование на синтез БЦ проводили на диффузионных питательных средах (типа Мюллера-Хинтона) по авторскому методу отсроченного антагонизма. Оценку уровня продукции рассчитывали по коэффициенту ингибиции роста индикатора (отношение диаметров зоны торможения роста индикаторного штамма и колонии).

Результаты и обсуждение. Анализу на продукцию БЦ подвергли 42 клинические культуры. Выделенные бактерии идентифицировали по физиолого-биохимическим свойствам. Среди выделенных культур были *E. coli*, *Proteus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Citrobacter spp.*, *Enterococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Vacillus spp.* Частота обнаружения бактериоцинпродуцирующих штаммов составляла около 40%. Это были представители разных таксономических групп. Коэффициент ингибиции колебался от 2 до 5.

Выводы. Таким образом, из клинических культур с частотой 40% были выделены продуценты бактериоцинов разного спектра действия. Созданный банк штаммов может быть использован в биотехнологии.

## АПРОБАЦИЯ ИМЕЮЩИХСЯ ПРАЙМЕРОВ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ ПЕКТОЛИТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ МЕТОДОМ ПЦР

Шавель М.И., Комар Е.И., Песнякевич А.Г.

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

marimianka@list.ru

В Беларуси в результате изменения климатических условий, выращивания сортов зарубежной селекции и импорта картофеля из южных регионов постепенно меняется видовой состав возбудителей заболеваний растений. В настоящее время точная и быстрая идентификация вызвавших болезнь бактерий является необходимым условием планирования и осуществления комплекса мероприятий, направленных на предотвращение возможных потерь урожая. Настоящая работа посвящена оценке эффективности использования разработанных на кафедре молекулярной биологии Белорусского государственного университета праймеров для видовой идентификации грамотрицательных пектолитических фитопатогенных бактерий, выделенных из собранных в разных регионах Беларуси образцов картофеля.

Первоначально исследуемые штаммы (26) были идентифицированы на основании морфологии клеток и колоний, физиолого-биохимических свойств и тестов на фитопатогенность как *Pectobacterium carotovorum* (*Pca*) – 11 штаммов, *Pectobacterium atrosepticum* (*Pat*) – 8 штаммов и близкие по выше перечисленным характеристикам к бактериям рода *Dickeya* – 7 штаммов. В работе также использовались коллекционные штаммы *Dickeya dadantii* ENA49, *Pca* j289 и 3-2 из коллекции фитопатогенных микроорганизмов кафедры микробиологии, а также штаммы *Pca* 2a и 14a, *Pat* SCRI 1043, 21a, 36a из коллекции фитопатогенных микроорганизмов кафедры молекулярной биологии биологического факультета БГУ.

Видовая идентификация методом ПЦР проводилась с использованием пар праймеров, специфичных к генам *hrpJ*, *hrpN*, *hrpL* системы секреции III типа, а также праймеров Y45/Y46, *cfa6f2/cfa6r2*, *cfa6f/cfa6r*, ADE1/ADE2. Установлено, что праймеры к генам *hrpN* и *hrpJ* позволяют достоверно идентифицировать бактерии вида *Pca* – специфические ПЦР-продукты образовывались и с ДНК коллекционных штаммов *Pca*, и при использовании ДНК всех вновь выделенных штаммов, отнесенных нами к данному виду. Пара праймеров *hrpLf/hrpLg* не рекомендована для использования, так как дает положительные результаты как на ДНК штаммов вида *Pca*, так и на ДНК штаммов вида *Pat*.

В результате амплификации с использованием пар праймеров Y45/Y46, *cfa6f2/cfa6r2* и *cfa6f/cfa6r* специфические ПЦР-продукты образовались лишь с использованием в качестве матрицы ДНК и клеток контрольных штаммов *Pat* 21a, 36a и SCRI 1043 и некоторых из исследуемых нами, следовательно они могут применяться для распознавания бактерий этого вида.

Пара праймеров ADE1/ADE2 используется для идентификации *Dickeya* sp. Среди изучаемых нами штаммов представителей данного рода обнаружено не было.

Работа выполнялась при финансовой поддержке гранта № Б14МВ-006 от 23.05.2014г.

## ЭФФЕКТ ФУРАНОНА F105 НА ОБРАЗОВАНИЕ БИОПЛЕНКИ КЛЕТКАМИ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* MRSA

Шарафутдинов И.С.<sup>1</sup>, Тризна Е.Ю.<sup>1</sup>, Курбангалиева А.Р.<sup>1</sup>, Каюмов А.Р.<sup>1</sup>, Макаревич О.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия; <sup>2</sup>Университетская клиника Йены при Йенском университете им. Фридриха Шиллера, Йена, Германия

IrSultanovich@gmail.com

Проблема бактериальных биопленок стоит перед лицом науки уже достаточно давно, однако универсальных методов борьбы с ними не разработано и по нынешний день. С различным успехом применяется широкий спектр антибиотиков, однако стремительная адаптация к ним бактерий ведет к потере эффективности антибактериальных средств. Показано что фураноны, впервые выделенные из морских водорослей *Delisea pulchra*, способны подавлять образование бактериями биопленок. В рамках данной работы исследовано влияние фуранона F105, синтезированного в химическом институте Казанского Университета, на образование биопленок клетками *S. aureus*.

Для получения биопленки клинического изолята *S. aureus*, устойчивого к метициллину (MRSA), являющегося наиболее опасным представителем своего вида, использовали среду Мюллер Хинтон. Методом микротитрования была установлена минимальная подавляющая концентрация (MIC), которая оказалась равной 40 мкг/мл. Для определения минимальной концентрации фуранона, подавляющей образование биопленки (MBIC), бактерии культивировали в течение 48 часов в присутствии фуранона. Анализ биопленок проводили на конфокальном микроскопе Zeiss LSM 780 (Германия) с дифференциальным окрашиванием мертвых и живых клеток красителями Syto 9 и пропидия йодидом. При концентрации фуранона F105 80 мкг/мл биопленка не образовывалась, рост бактерий подавлялся более чем на 2 порядка. Также была оценена возможность фуранона разрушать уже образованную биопленку (MBEC). Для этого

выращивали биопленки в течение 24 часов, после чего вносили фуранон и инкубировали культуры дополнительно еще сутки. Данные показали, что эффективная, разрушающая биопленки, концентрация составила также 80 мкг/мл. Таким образом, данное соединение представляется перспективным в его дальнейшем изучении.

Работа осуществлена при поддержке гранта РФФИ 15-14-00046.

### ВЛИЯНИЕ ПРОТЕАЗЫ HTRA ИЗ *BACILLUS SUBTILIS* НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ КЛЕТОК *ESCHERICHIA COLI*

**Шигапова (Гайнутдинова) З.Р., Черова Л.С., Шарафутдинов И.С., Каюмов А.Р.**  
ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

*gzr1994@mail.ru*

HtrA - высокоспецифичный фермент, относящийся к классу сериновых протеаз, протеолитическая активность которого модулируется температурой. Основной функцией представителей семейства HtrA является белковый качественный контроль и удаление денатурированных и несфолированных белков. Протеиназы HtrA в клетках *Bacillus subtilis* могут проявлять также функции шаперонов, стабилизируя дефектные белки, что является интересным свойством этого семейства белков. Значимая особенность HtrA – возможность обратимо включать и отключать свою каталитическую активность, что не характерно для классических сериновых протеаз.

Целью данной работы являлось исследование влияния белка HtrA из *B. subtilis* на устойчивость клеток *Escherichia coli* к температурному стрессу. Использовался штамм *E.coli* BL21 pET15b-HTRA, несущий генетическую конструкцию, при индукции ИПТГ, обеспечивающую сверхэкспрессию бациллярного белка HtrA. Был проведен анализ жизнеспособности бактерий при культивировании в условиях повышенной температуры (45<sup>0</sup>С) с окрашиванием мертвых и живых клеток флюоресцентными красителями (акридиновый оранжевый, пропидий йодид). Ночные культуры штаммов *E.coli* BL21 pET15b и *E.coli* BL21 pET15b-HTRA разводили до конечной ОП<sub>600</sub>=0,1, клетки инкубировали 4 часа. Далее проводили индукцию экспрессии белка внесением ИПТГ до конечной концентрации 1мМ, после чего растили клетки 3 часа при 30<sup>0</sup>С. Затем отбирали по 200мкл культуры и растили 2 часа при 45<sup>0</sup>С и при 37<sup>0</sup>С. Установлено, что протеиназа HtrA из *B. subtilis* в условиях повышенной температуры на выживаемость клеток *E.coli* существенно не влияет. Соотношение мертвых и живых клеток в штамме *E.coli* с гиперпродукцией гетерологичного белка HtrA соответствует аналогичным результатам контрольного штамма. Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что клетки *E.coli* исходного типа продуцируют достаточное количество собственной протеазы HtrA, что обеспечивает их жизнеспособность при повышенной температуре.

### БАКТЕРИИ-ДЕСТРУКТОРЫ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ ИЗ ШЛАМОХРАНИЛИЩА СОЛЕДОБЫВАЮЩЕГО ПРЕДПРИЯТИЯ ПАО «УРАЛКАЛИЙ» (Г. БЕРЕЗНИКИ, ПЕРМСКИЙ КРАЙ)

**Шипова А.В.<sup>1</sup>, Шестакова Е.А.<sup>2</sup>, Егорова Д.О.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

*shipova.alisa@mail.ru*

Отходы калийного производства одни из наиболее мощных источников поступления в биосферу стойких экотоксикантов, таких как фталаты, фенолы, хлорпарафины, полициклические ароматические углеводороды. Основную роль в утилизации или частичной трансформации таких токсичных соединений как ароматические углеводороды играет микробная деструкция.

Цель исследования – изучение разнообразия бактерий-деструкторов из образцов шламов и техногенной почвы, отобранных вблизи шламохранилища предприятия ПАО «Уралкалий» (БКПРУ-3).

В результате проведенных исследований из отобранных образцов шламов и техногенной почвы выделено в чистую культуру 43 галотолерантных и 2 галофильных штамма бактерий-деструкторов нафталина, бифенила, орто-фталата. На основе морфологического описания колоний и ДНК-типирования изоляты были отнесены к 27 геногруппам. После проведения филогенетического анализа исследуемых изолятов, (ген 16S рРНК) установлено, что 62% изолированных культур являются представителями класса *Actinobacteria*, 25% – относятся к классу *Gammaproteobacteria*, и 13% – к классу *Alphaproteobacteria*. В образце техногенной почвы (3 м от рассолосборника) были обнаружены бактерии, преимущественно близкородственные к типовым штаммам родов *Microbacterium* и *Rhodococcus*. В образце шлама (1 м от рассолосборника) доминирующее положение (45%) занимает род *Halomonas*, в образце шлама (0,1 м от рассолосборника) – микроорганизмы рода *Brevibacterium* (31%) и *Dietzia* (23%). Основная часть штаммов способна к росту на агаризованной богатой среде Раймонда как без добавления NaCl, так и с содержанием соли до 100 г/л. Ряд штаммов (BFL15, BFL6, BNL7-2, BVL12-2, BNL5, BNL22, BNL23, BBL22) способны к росту при повышенной концентрации соли – до 150 г/л NaCl. Два штамма BNL22 и BNL23 не растут без добавления NaCl (галофилы).

В результате изучения биодegradационных свойств изолированных бактерий было выявлено, что штаммы *Brevibacterium* sp. BNL7-2 и *Janibacter* sp. BBL2.2a обладают наиболее широкой субстратной специфичностью, используя в качестве ростового субстрата: нафталин, бифенил, фенол, фенантрен, толуол, бензол, дибutilфталат, а также орто-фталевою, салициловую, протокатеховую, пара-гидроксибензойную, бензойную, 2-, 3- и 4-хлорбензойные кислоты. Таким образом, исследованные штаммы вызывают биотехнологический интерес в мероприятиях по восстановлению загрязненных/засоленных территорий.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 14-04-96021 p\_урал\_a.

### РОЛЬ MACAB ЭФФЛЮКС-СИСТЕМЫ В ЗАЩИТЕ *SERRATIA MARCESCENS* ОТ АНТИБИОТИКОВ И ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА

Ширшикова Т.В.<sup>1</sup>, Матросова Л.Е.<sup>1</sup>, Шарипова М.Р.<sup>1</sup>, Богомольная Л.М.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия; <sup>2</sup>Научный центр здоровья тeхасского университета A&M, Техас, США

tatyana-shirshikova@yandex.ru

Грамотрицательная бактерия *Serratia marcescens* является одним из возбудителей оппортунистических инфекций, лечение которых часто затруднено из-за устойчивости к ряду антибиотиков (АБ). Одним из механизмов, обеспечивающих клеткам *S. marcescens* повышенную устойчивость к антибиотикам, является активное удаление их из клеток с помощью эффлюкс систем.

Проведенный анализ генома *S. marcescens* показал наличие эффлюкс системы ABC-типа, гомологичной системе MacAB *E. coli*, защищающей клетки от АБ класса макролидов. Таким образом, целью работы стало изучение роли MacAB эффлюкс-системы в защите *S. marcescens* от антибиотиков и оксидативного стресса.

Используя методы ПЦР и системы рекомбинации фага λ-ред, был получен мутантный штамм *S. marcescens* SM6 с делецией генов *macAB*. Полученная мутация была перенесена в штамм SM6 при помощи трансдукции бактериофагом ФОТ8.

Определение чувствительности бактерий к АБ проводили диско-диффузионным методом (ДДМ) и методом серийных разведений. Использование ДДМ показало, что мутантный штамм стал более чувствительным к АБ, относящихся к классам аминогликозидов I, II и III поколения, а также к классу макролидов по сравнению с диким типом.

Для подтверждения или опровержения полученных результатов были проведены дополнительные эксперименты с определением чувствительности к АБ методом серийных разведений. Наблюдали динамику роста дикого штамма и мутанта по генам *macAB* в среде с эритромицином (класс макролидов) и гентамицином (класс аминогликозидов). Мутантный штамм в присутствии эритромицина незначительно отставал в росте от дикого, следовательно, исследуемая нами эффлюкс система не защищает клетки от АБ класса макролидов. В присутствии в среде гентамицина, дикий штамм сохранял жизнеспособность при более высоких концентрациях АБ в отличие от мутантного.

По данным литературы, гомолог MacAB эффлюкс системы у *Salmonella* играет роль в защите клеток от оксидативного стресса. Для определения чувствительности к перекиси водорода, клетки выращивались в присутствии H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. В течение первых трех часов мутантные клетки теряли жизнеспособность.

Таким образом, получены мутанты *S. marcescens* по генам эффлюкс системы *macAB* и установлена ее роль в формировании устойчивости бактерии к ряду антибиотиков и активным формам кислорода. Эффлюкс система MacAB может рассматриваться как мишень для получения новых антимикробных препаратов.

Работа выполнена за счет средств, выделенных в рамках государственной поддержки ФГАОУ ВПО КФУ в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров", поддержана грантом РФФИ 15-04-02110.

### ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ АРБУСКУЛЯРНЫХ МИКОРИЗНЫХ ГРИБОВ ЕСТЕСТВЕННЫХ И АГРОЭКОСИСТЕМ ЕВРОПЕЙСКОЙ ТЕРРИТОРИИ РОССИИ

Юрков А.П.<sup>1,2</sup>, Якоби Л.М.<sup>1</sup>, Степанова Г.В.<sup>3</sup>, Шишова М.Ф.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Российский государственный гидрометеорологический университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>3</sup>ФГБНУ ВНИИ кормов им. В.Р. Вильямса, Лобня, Московская обл., Россия; <sup>4</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

yurkovandrey@yandex.ru

Проведено исследование симбиотической эффективности 25 штаммов грибов арбускулярной микоризы (АМ) в условиях низкого уровня доступного для питания растений фосфора (P) в почве (3,5 мг P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> на 100 г почвы) и при внесении фосфорного удобрения (+3,5 мг P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> на 100 г почвы). В результате

работы показано наличие существенного полиморфизма АМ-грибов по симбиотической эффективности на сильно микотрофным растении-хозяине – облигатно микотрофной в условиях низкого уровня доступного фосфора (Рд) в почве линии MIS-1 люцерны хмелевидной (*Medicago lupulina* L. subsp. *vulgaris* Koch.). Анализ показателей микоризации и АМ-эффективности проведен на 45 сут от посадки и инокуляции люцерны хмелевидной одновозрастными инокулятами АМ-грибов. По результатам эксперимента выделены контрастные по симбиотической эффективности группы АМ-грибов. Проведен корреляционный и кластерный анализ полученных данных и идентификация 10 штаммов. Характерно, что в варианте без внесения Р имеется значимая корреляция между таким показателем микоризации накопительной культуры плектрантуса как встречаемость АМ и симбиотической эффективностью грибов на люцерне ( $r = 0,81$ ), он был выше, чем тот же коэффициент корреляции между встречаемостью АМ на люцерне и эффективностью АМ на люцерне ( $r = 0,76$ ). Существенная корреляционная связь между содержанием гриба в инокуляте (корнях плектрантуса) и эффективностью АМ на тест-растениях люцерны указывает на перспективность исследования фосфатазной активности (ФА) в инокулятах АМ-грибов и ее взаимосвязи с показателями АМ-эффективности на люцерне. В связи с этим выбран оптимальный набор процедур для определения ФА в корнях плектрантуса. Анализ ФА запланирован на 2016 год. В 2015 г проведено новое обследование участков леса, пашни и луга в 3 регионах Европейской территории России. В результате обследования на плектрантусе южном поставлены горшечные накопительные культуры АМ-грибов: 35, 42 и 21 культура из почв и корней растений 9 участков Ленинградской, Московской и Ростовской области, соответственно. Проведено ботаническое обследование, идентификация видов растений (100 образцов), с которых планируется выделить изоляты АМ-грибов. Определен тип и проведен агрохимический анализ 9 образцов почв исследуемых территорий, обилие спор АМ-грибов в гумусовом горизонте. Корни растений исследованы на предмет наличия АМ-грибов. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 15-29-02753 офи м и с использованием оборудования РЦ “Развитие молекулярных и клеточных технологий” СПбГУ (проект №109-98) и оборудования ЦКП “Геномные технологии, протеомика и клеточная биология” ВНИИСХМ.

## **СЕКЦИЯ « БИОФИЗИКА И БИОИНФОРМАТИКА »**

### **EFFECTS OF X-RAYS ON THE URINARY EXCRETION OF CELL-FREE NUCLEAR AND MITOCHONDRIAL DNA IN RATS OF DIFFERENT AGES**

**Abdullaev S.A.<sup>1,2</sup>, Kamenskikh K.A.<sup>1,2</sup>, Minkabirova G.M.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russian Federation; <sup>2</sup>Pushchino State Institute of Natural Sciences, Pushchino, Russian Federation.

*saabdullaev@gmail.com*

Activation of cell death at a whole organism level in mammals can be assessed by an increase in of circulating cell-free DNA (cf-DNA) in urine or plasma. We conducted a comparative study for the excretion of cf-nuclear DNA (cf-nDNA) and cf-mitochondrial DNA (cf-mtDNA) in the urine of 3 and 24 months age rats after X-irradiation. Groups of Fisher 344 male rats were subjected to X-irradiation at a dose of 5 Gy. Urine was collected from the same rats prior to exposure (control), as well as following 6, 12, 24 and 72 hours after their treatment. The content of cf-nDNA and cf-mtDNA in the urine was determined by quantitative real-time PCR. The results of cf-DNA analysis in the urine samples of rats collected prior to treatment showed that the amount of cf-nDNA is 40% higher, and cf-mtDNA is 50% higher in the urine of aged rats compared to that of young animals. Following 6 and 12 hours after irradiation the content of cf-nDNA in the urine of young rats is increased by 150-200 %, and the content of cf-mtDNA is increased by 375-460 %, relative to the control. By the same time point after irradiation the urine of aged rats is characterized by an increase in the contents of cf-nDNA and cf-mtDNA by 200-250% and 550-720%, respectively. Thus, the results indicate that urine samples of rats collected after 6-12 hours following X-irradiation contain elevated levels of cf-nDNA and cf-mtDNA. Elevated levels of cf-nDNA and cf-mtDNA induced by X-irradiation in the urine of 24-month-old rats were significantly higher compared to those in the urine of 3-month-old rats. High levels of cf-DNA in the urine of aged rats subjected to X-irradiation is obviously associated with the presence of defective cells (damaged organelles and DNA) having low activity of reparation systems in the tissues of these rats prior to irradiation.

This work has been supported by the Russian Foundation for Basic Research (Grant 12-04-31070, Grant 16-34-00832) and by the Institute of Theoretical and Experimental Biophysics RAS.

### **INCREASE OF EXTRACELLULAR NUCLEAR AND MITOCHONDRIAL DNA WITH MUTATIONS IN THE URINE OF RATS EXPOSED TO IONIZING RADIATION**

**Kamenskikh K.A.<sup>1,2</sup>, Minkabirova G.M.<sup>1,2</sup>, Abdullaev S.A.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russian Federation; <sup>2</sup>Pushchino State Institute of Natural Sciences, Pushchino, Russian Federation

*kristina.kamensk@mail.ru*

Investigation of cell-free DNA (cf-DNA) in bodily fluids, as a potential biomarker for assessing the effect of ionizing radiation on the organism is of considerable interest. We investigated changes in the contents of cell-free mitochondrial DNA (cf-mtDNA) and cell-free nuclear DNA (cf-nDNA) in the urine of X-ray exposed rats. Assays of cf-mtDNA and cf-nDNA were performed by a real-time PCR in the urine of rats collected before and after their irradiation with doses of 3 and 5 Gy. We also determined the presence of mutations in urine cf-mtDNA, as recognized by Surveyor nuclease. A sharp increase in cf-mtDNA and cf-nDNA in urine of irradiated rats was demonstrated within 24 hrs after exposure, followed by a decrease to normal levels. In all cases, the contents of cf-mtDNA fragments copies (estimated by gene *tRNA*) is significantly more as compared with the cf-nDNA (by gene *GAPDH*) in urine of rats. A certain portion of mutant cf-mtDNA fragments was detected in the urine of exposed rats, whereas they were absent in the urine of the same animals before irradiation. These preliminary data also suggest that increased levels of urine cf-mtDNA and cf-nDNA may be a potential biomarker for noninvasive assessment of how the organism responds to ionizing radiation influence.

This work has been supported by the Russian Foundation for Basic Research (Grant 12-04-31070).

### **WHEAT SEEDLINGS GROWTH AND ANTIOXIDANT SYSTEM ACTIVITY CHANGES AS RESPONSES TO MILLIMETER WAVES IRRADIATION**

**Mukhaelyan Z.H., Poghosyan G.H., Vardevanyan P.H.**

Department of Biophysics, Yerevan State University, Yerevan, 0025, Armenia

*zhanna.muxaelyan@gmail.com*

Extremely high frequencies (EHF) electromagnetic irradiation (EMI) (a range from 30 GHz to 300 GHz), or millimeter waves with low intensity induces significant changes in living organisms of a different level of organization. The majority of researchers have shown that all membranes of different objects serve as the main

location of influence for radiation in mm range: primary mechanisms which determine final effect of radiation in mm range. It has been shown that EMI leads to changes of membrane properties: to acceleration or suppression in active ions transport, to changes in biological membranes permeability due to proteins conformation changes and by means of membrane lipid peroxidation. High plants growth as well as the intensity of antioxidant system activity are the important indexes for characterization the influence of electromagnetic fields.

The seedlings (3-day-old, 7-day- and 12-day-old) of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) of “Bezostaya” variety were exposed to EMI of 50.3 and 51.8 GHz (flux capacity of 0.6 mW. cm<sup>-2</sup>) for 5 days, each 1h. As a source of monochromatic EMI EHF generator G4-141 type with working intervale of 37.50-53.57 GHz (State Scientific-Production Enterprise “Istok”, Russia) was used. Treatment with EMI significantly increased the average plant height, leaf/ root length, leaf width, and fresh weight. At the same time EMI-induced oxidative stress was indicated by the markedly changes of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, lipid peroxidation rate (MDA-level), and catalase activity depending on EMI frequency used and exposure duration. Conjectures have been made concerning possible causes of the age-related differences in the response of wheat plants to EMI-induced oxidative stress.

### INCREASE IN THE COAGULATION FACTOR Xa CONCENTRATION UPON COMPETITION OF REVERSIBLE INHIBITORS WITH ANTITHROMBIN

Maurov A.S.<sup>1</sup>, Pantelev M.A.<sup>1,2</sup>, Kolyadko V.N.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation; <sup>2</sup>Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology RAS, Moscow, Russian Federation

as.maurov@physics.msu.ru

*Background:* Activation of the blood clotting leads to generation of activated coagulation factors and results in fibrin clot formation. Irreversible plasma inhibitors inactivate these factors, thereby preventing massive clotting in circulation. Factor Xa (FXa) is one of the key proteinases of blood coagulation system, which is a target for competitive inhibitors used for prevention of thrombosis.

*Objective:* To study kinetics of FXa inactivation by antithrombin (AT) and competitive inhibitors.

*Methods:* Kinetics of FXa (initial concentration 2.5 nM) was studied by mathematical modelling and measured experimentally in the purified system containing AT (3.5 μM), competitive inhibitor (0-100 nM), and the chromogenic substrate S-2765 (0.4 mM). The model contained 8 ODE and described three chemical reactions: 1) FXa inactivation by AT; 2) reversible inhibition by a competitive inhibitor having the K<sub>i</sub> value to be varied; and 3) hydrolysis of S-2765 by FXa to measure its activity. Calculations were performed in Wolfram Mathematica and COPASI. Measurement of FXa activity was performed after incubation with AT and rivaroxaban (the inhibitory constant K<sub>i</sub> of 0.3 nM) during 45; 30; 20; 15; 10; 5; 2.5; and 0 min at 37°C. The incubated sample was diluted 10-fold by addition of S-2765 in Tris 50 mM, NaCl 150 mM, 0.1 mg/ml BSA, pH 8.0.

*Results & discussion:* AT inactivated FXa down to 0 nM exponentially over time (t<sub>1/2</sub> 200 s). When the competitive inhibitor (I<sub>0</sub> 5 nM) was present the FXa concentration approached rapidly (for 30 s) the quasi-stationary value of 0.02 nM. The FXa quasi-stationary concentration was dependent on the K<sub>i</sub> value non-monotonically; at low K<sub>i</sub> (0 – 2.5 nM) this concentration was increasing, the maximum values (approx. 0.175 nM FXa) were reached at K<sub>i</sub> ranging from 2.5 to 13 nM (the corresponding dissociation and association constants were k<sub>+</sub> 0.004 – 0.01 nM<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup> and k<sub>-</sub> 0.003 – 0.01 s<sup>-1</sup>, respectively), followed by the gradual decrease at higher values of the inhibitory constant. The rate of S-2765 hydrolysis by FXa preliminary incubated with both AT and rivaroxaban during 30 min was measured to be as much as 40% of the initial rate without inhibitors. Contrarily, when FXa was incubated with AT alone for 30 min the FXa activity was not detected.

*Conclusion:* Competitive inhibitor of FXa can protect the factor from irreversible inactivation by AT. Existence of the FXa quasi-stationary state in the system containing both the irreversible and competitive inhibitors was predicted by the model and proved experimentally.

### КОНКУРЕНТНОЕ СВЯЗЫВАНИЕ ИОНОВ K<sup>+</sup> И H<sup>+</sup> В ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОМ КАНАЛЕ ДОСТУПА NA<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФАЗЫ

Mayorova V.E.<sup>1</sup>, Tashkin V.Y.<sup>2</sup>, Sokolov V.S.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГОУ ВПО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва, Россия

maurova.varvara@yandex.ru

Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФаза принадлежит к семейству АТФаз Р-типа. Она осуществляет транспорт ионов натрия из клетки, а ионов калия – в клетку за счет энергии гидролиза АТФ. Согласно общепринятому механизму, активный транспорт происходит из-за изменения конформации белка при гидролизе АТФ, в результате чего попеременно открывается доступ ионов к центрам их связывания внутри белка либо со стороны внутриклеточного (конформация E1), либо со стороны внеклеточного (конформация E2) растворов.



В последнее время показано, что перемещение ионов натрия и калия в каналах сопряжено с их обменом на протоны. Для изучения механизма этого обмена в работе исследовалось конкурентное связывание протонов и ионов калия в канале с внутриклеточной стороны белка.

Исследования проводились на искусственной мембране с адсорбированными на ней фрагментами мембран, содержащими очищенную  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазу. С помощью разработанного ранее метода измерялись малые приращения емкости мембраны с  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазой, вызванные скачками рН при быстром освобождении  $\text{H}^+$  при фотолизе 2-метокси-5-нитрофенилсульфат натрия (MNPS-Na, или Caged- $\text{H}^+$ ). Скачки емкости при фотолизе Caged- $\text{H}^+$  наблюдались и на мембране без белка, но в присутствии  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы эти скачки зависели от концентрации ионов калия. Полученные результаты объяснены моделью, предполагающей конкуренцию ионов калия с протонами за места связывания, что позволило определить рК мест связывания ионов с цитоплазматической стороны  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы, а также константы диссоциации в них ионов калия. Изучено влияние АТФ на значения этих констант.

Показано, что АТФ в концентрации около 100 мкМ подавляет связывание ионов калия в белке. Полученные результаты объясняются известным в литературе эффектом связывания АТФ с  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазой в сайтах низкого сродства, вызывающим изменение конформации белка и освобождение ионов калия с его внутриклеточной стороны.

## CADMIUM-INDUCED OXIDATIVE STRESS AND GROWTH PARAMETERS OF WHEAT PLANTS

**Poghosyan G.H., Mukhaelyan Z.H., Vardevanyan P.H.**

Department of Biophysics, Yerevan State University, Yerevan, Armenia

*gayanepoghosian@yahoo.com*

Metal contamination of soils has become a worldwide problem and great environmental threat, as these metals accumulate in soil and plants in excess, and enter the trophic chain. Cadmium (Cd) is one of the most toxic heavy metals with no biological function. It is readily taken up by roots, probably in competition with other divalent ions, and restricts plant growth and development. Heavy metals cause molecular damage to plants, either directly or indirectly through reactive oxygen species (ROS) formation. Although the mechanism of metal damaging action is not clearly understood, there is increasing evidence suggesting that, at least in part, metal toxicity is due to the oxidative damage.

The effects of 3-, 5- and 9-days Cd (50 and 100  $\mu\text{M}$  Cd) exposure on growth (leaf/ root length, leaf area, and fresh weight) of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) plants were studied. Research findings showed that Cd accumulation in roots and leaves (roots >leaves) increased with the increasing Cd concentration in nutrient solution. High Cd concentration (100  $\mu\text{M}$ ) inhibited the leaf area and plant fresh weight as well as leaf/root length (leaf > root) depending on exposure duration. Cd pollution induced the oxidative stress by inducing  $\text{H}_2\text{O}_2$ , which increased in leaves, at the same time, MDA as the final product of peroxidation of membrane lipids, accumulated in them. On the other hand Cd-induced oxidative stress was indicated by the markedly increase of antioxidant enzyme system activity, i. e. almost all the activities of catalase (CAT; EC. 1.11.1.6), guaiacol peroxidase (GPX; EC 1.11.1.7) were elevated both in leaves and roots. The obtained results indicated that Cd-tolerance of wheat may be related with the activation of the antioxidant system to avoiding the toxicity of heavy metal.

## ВЛИЯНИЕ ИОНА МЕТАЛЛА НА СПЕЦИФИЧНОСТЬ ПИРИМИДИНФОСФОРИЛАЗЫ ИЗ *BACILLUS SUBTILIS* ПО РЕЗУЛЬТАТАМ РЕНТГЕНОСТРУКТУРНОГО АНАЛИЗА

**Балаев В.В., Лашков А.А., Габдулхаков А.Г., Михайлов А.М.**

ФГБУН Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова РАН, Москва, Россия

*vlad\_balaev@mail.ru*

Пиримидины и пиримидиновые нуклеозиды находят широкое применение в лечении онкологических и вирусных заболеваний. Ключевыми ферментами, осуществляющими их метаболизм, являются пиримидинфосфорилазы. В клетках эукариот и некоторых видов прокариот (например, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*) присутствуют специфичные к определенному пиримидиновому нуклеозиду ферменты: тимидинфосфорилаза и уридинфосфорилаза. В некоторых низших организмах (*Bacillus subtilis*, *Geobacillus stearothermophilus*, *Staphylococcus aureus*) альтернативой этим ферментам является широкоспецифичная пиримидинфосфорилаза (ПиНФ), способная с соразмерной каталитической активностью способствовать расщеплению уридина и тимидина.

С целью исследования особенностей пространственной структуры ПиНФ, впервые решена и уточнена структура ПиНФ из *Bacillus subtilis* (BsPyNP) в комплексе с сульфат-анионом (PDB ID: 5EP8; разрешение 2.6 Å; Rwork=21.5%; Rfree=29.3%; rmsdbonds=0.007 Å; rmsdangles=1.125°). Также как и в аналогичном ферменте из бактерии *Geobacillus stearothermophilus* (GsPyNP; PDB entry 1BRW), в субъединице В BsPyNP локализован ион  $\text{Na}^+$ . Ион  $\text{Na}^+$  координирует атомы кислорода аминокислотных

остатков (а.о.) Gly88, Thr90, Leu243, Ala246, Glu255, расположенных в вершинах четырехугольной пирамиды. В А-субъединице *BsPyNP* ион металла не локализован, а Gly88 и Thr90, как и в тимидинфосфорилазах, координируют структурированную молекулу воды, контактирующую с O1 атомом кислорода фосфат-аниона. В субъединице В *BsPyNP* эта молекула воды отсутствует, что приводит к смещению сульфат-аниона в направлении структурно-консервативной петли а.о. 110 – 120. Наличие иона металла, таким образом, препятствует образованию водородных связей между Gly88 и Thr90 и молекулой воды. Кроме того, в тимидинфосфорилазах Thr90 заменен на Val, а находящийся вблизи координационного многогранника Na<sup>+</sup> Gly244 заменен на Ala, создавая, таким образом, гидрофобный карман в этой области. В *GsPyNP* эта структурная вода присутствует, несмотря на наличие иона металла, что может быть связано с термофильной природой *Geobacillus stearothermophilus*. Понимание механизмов функционирования ПиНФ необходимо для оптимизации процессов их биотехнологического использования и для разработки ингибиторов, специфичных к этому типу пиримидинфосфорилаз.

Работа выполнена при базовом бюджетном финансировании ИК РАН и при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 14-04-00952 а).

## КОНСТРУИРОВАНИЕ БИОСЕНСОРОВ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИИ *HELICOBACTER PYLORI*

Белова А.М., Клинов Д.В., Басманов Д.В., Лазарев В.Н.

ФГБУ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины ФМБА, Москва, Россия

*ambelova26@gmail.com*

*Helicobacter pylori* – спиралевидная, грамтрицательная, микроаэрофильная бактерия, которая инфицирует различные области желудка и двенадцатиперстной кишки. Показано, что бактерия может вызывать гастрит, а также язву желудка и рак кишечника. Целью работы было конструирование репортерных систем на основе бактерии *H.pylori* для последующего получения биологических сенсоров.

Для осуществления поставленной задачи были получены рекомбинантные векторы, в составе которых под контролем промоторных областей различных генов *H. pylori* находился ген, кодирующий Зеленый флуоресцентный белок (GFP), флуоресценция которого может быть зарегистрирована в отдельных живых клетках и количественно оценена. Среди трансформированных штаммов *H.pylori*, содержащих полученные плазмиды, было выбрано несколько вариантов, содержащих промоторные области наиболее важных генов, для оценки чувствительности потенциальных репортерных систем к внешним воздействиям. Анализ проводился различными экспериментальными методами. В частности, с помощью Real Time PCR была проведена оценка уровней экспрессии гена *gfp*, в случае действия на трансформанты различных индукторов, выбранных в зависимости от соответствующей промоторной области. Также были подобраны условия и проведена иммобилизация клеток *H. pylori* на микрофлюидной платформе с целью исследования изменения интенсивности флуоресценции GFP единичных клеток маркерных штаммов *H. pylori* в ответ на изменение pH и температуры среды для культивирования, а также добавление к среде индуктора.

## ТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ИОНОВ УРАНИЛА И ЦИНКА НА РЯСКУ МАЛУЮ

Боднарь И.С.

ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

*bodnar-irina@mail.ru*

К одним из наиболее распространенных радионуклидов-загрязнителей гидросферы относится уран. В природных водах уран обычно находится в растворенной форме уранил-иона ( $UO_2^{2+}$ ). Степень воздействия урана на биоту зависит в том числе от химического состава воды. В данной работе рассмотрено совместное действие ионов уранила и цинка на ряску малую (*Lemna minor* L.). Рясковые широко используются в биотестировании при химическом загрязнении воды. Ряска малая чувствительна к среде обитания, обладает высокой скоростью роста и преимущественно вегетативным размножением, что позволяет использовать генетический однородный клон на протяжении всего эксперимента.

Ряска малая культивировалась на среде Штейнберга. Воздействие проводили в течение 7 дней, в соответствии с рекомендациями OECD (2006). В работе в качестве источника уранил-ионов использовали  $UO_2(NO_3)_2 \cdot H_2O$ , а цинк-ионов –  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ . Используемые концентрации урана – от 0 до 31,5 мкмоль/л, цинка – от 0 до 79 мкмоль/л. В качестве отрицательного контроля использовалась среда. Положительным контролем служила среда, содержащая цинк или уранил в соответствующих эксперименту концентрациях.

Минимальная концентрация, при которой наблюдается снижение удельной скорости роста лабораторной культуры ряски малой для урана составляет 0,6 мкмоль/л, а для цинка – 1,27 мкмоль/л.

При воздействии урана в концентрации 6 мкмоль/л, цинка 3,15 мкмоль/л по отдельности и при их совместном воздействии происходит снижение удельной скорости роста на 18-20 %. Если концентрация урана остается такой же, а концентрацию цинка увеличить до 6,35 мкмоль/л, скорость роста будет такая же как в положительном контроле с цинком без уранила. При дальнейшем увеличении концентрации цинка отмечается синергический эффект: удельная скорость роста культуры ниже, чем в положительном контроле отдельно с цинком или с уранилом. При воздействии токсикантов у ряски происходит изменение площади фронда (листоподобной поверхности) для уранила начиная с концентрации 6 мкмоль/л, а цинка с 1,27 мкмоль/л. Число хлорозов и некрозов у ряски при совместном воздействии цинка и уранила зависит от концентрации цинка, их частота статистически достоверно увеличивается, начиная с 6,3 мкмоль/л ( $p \leq 0,05$ ). Работа выполнена при поддержке Программы Президиума РАН «Природная среда России: Адаптационные процессы в условиях изменяющегося климата и развития атомной энергетики» № 15-2-4-26.

### **ВЛИЯНИЕ МУТАЦИЙ ТРОПОМИОЗИНА, ПРИВОДЯЩИХ К КАРДИОМИОПАТИЯМ, НА КАЛЬЦИЕВУЮ РЕГУЛЯЦИЮ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МИОЗИНА С ТОНКИМ ФИЛАМЕНТОМ**

**Боровков Д.И.<sup>1,2</sup>, Щепкин Д.В.<sup>2</sup>, Набиев С.Р.<sup>2</sup>, Матюшенко А.М.<sup>3,4</sup>, Копылова Г.В.<sup>2</sup>, Левицкий Д.И.<sup>3,4</sup>**  
<sup>1</sup>ФГАОУ ВПО УрФУ имени Первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия; <sup>3</sup>ФГБУН Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва, Россия; <sup>4</sup>МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

zytnsnytz@ya.ru

Тропомииозин (ТМ) является одним из важнейших регуляторных белков сократительного аппарата поперечно-полосатых мышц. Мутации ТМ нарушают актин-миозиновое взаимодействие и приводят к кардиомиопатиям, гипертрофическим (ГКМП) и дилатационным (ДКМП). Исследовано влияние гипертрофических (D175N, 180G) и дилатационных (E40K и E54K) мутаций  $\alpha$ -цепи ТМ на кальциевую регуляцию актин-миозинового взаимодействия в сердечной мышце. В *in vitro* подвижной системе получены зависимости скорости скольжения реконструированных регулируемых тонких филаментов, содержащих актин, тропонин и ТМ, по сердечному миозину от концентрации кальция. Оценены максимальная скорость скольжения ( $V_{max}$ ) тонких филаментов и кальциевая чувствительность ( $pCa_{50}$ ) зависимости « $pCa$ -скорость». С помощью оптической ловушки установлены характеристики одиночных взаимодействий миозина с тонким филаментом на максимальном кальции ( $pCa$  5): сила, развиваемая молекулой миозина, время связанного с тонким филаментом состояния, размер и продолжительность шага. В экспериментах использован рекомбинантный сердечный  $\alpha$ -ТМ человека, в качестве белка дикого типа – ТМ с мутацией С190А, в котором остаток Cys190 был заменен на остаток аланина. Миозин, актин и тропонин выделены из миокарда желудочков сердца кролика.

Обнаружено, что ГКМП и ДКМП мутации ТМ по-разному влияют на кальциевую регуляцию взаимодействия актина и миозина в миокарде желудочка. Мутации, ассоциированные с ГКМП, D175N и E180G увеличивают  $V_{max}$  тонкого филамента и кальциевую чувствительность зависимости « $pCa$ -скорость». Значения  $V_{max}$  составили:  $3.0 \pm 0.1$  мкм/с для С190А ТМ,  $3.9 \pm 0.5^*$  мкм/с и  $3.8 \pm 0.2^*$  мкм/с для D175N ТМ и E180G ТМ, соответственно. Значения  $pCa_{50}$  были равны  $6.36 \pm 0.01$ ,  $6.65 \pm 0.10^*$ ,  $6.85 \pm 0.14^*$  для С190А, D175N и E180G мутаций ТМ. E40K мутация ТМ, приводящая к ДКМП, значительно уменьшала как значение  $V_{max}$  (до  $1.9 \pm 0.03$  мкм/с), так и значение  $pCa_{50}$  (до  $6.10 \pm 0.14$ ). В то же время E54K мутация не влияла на характеристики кальциевой регуляции актин-миозинового взаимодействия. На уровне одиночных взаимодействий миозина с регулируемым тонким филаментом и ГКМП, и ДКМП мутации молекулы ТМ изменяли характеристики взаимодействия, причём влияние это зависело от вида мутаций. Впервые, напрямую измерив с помощью оптической ловушки параметры одиночных взаимодействий миозина с тонким филаментом, показано, что молекулярный механизм патогенеза исследованных мутаций молекулы ТМ различен.

Исследования поддержаны РФФИ (гранты № 15-34-20136 и 15-04-01558).

### **СТРУКТУРА И СВОЙСТВА МОДИФИЦИРОВАННОГО ГИДРОКСИАПАТИТА ДЛЯ ИМПЛАТНОВ**

**Быстрова А.В.<sup>1,2</sup>, Дехтяр Ю.Д.<sup>2</sup>, Быстров В.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ИМПБ РАН - филиал ИПМ им. М.В. Келдыша РАН, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ИБТН Рижского технического университета, Рига, Латвия

aniria2003@mail.ru

Гидроксиапатит (ГАП) широко используемый материал для имплантатов в медицине. Это важный и один из самых распространенных материалов в организме человека, являющийся минеральной компонентой костных тканей. Костный матрикс представляет собой иерархическую структуру, состоящую

из волокон белковых молекул коллагена и кристаллитов ГАП. ГАП кристаллизуется в небольших промежутках между этими белками, и их сочетание формирует костную ткань. Это объясняет естественную биосовместимость ГАП и делает его привлекательным в ортопедической области: импланты изготавливаются на титановых подложках, покрытых тонким слоем ГАП. Слой ГАП улучшает адгезию импланта к окружающей кости и обеспечивает рост костей. Но, такие имплантаты имеют недостатки. Прежде всего, биологический ГАП отличается от минерального: он содержит много отклонений от более идеальной структуры минерала ГАП. Среди них такие как, нестехиометрия химического состава, замены атомов, вакансии и другие дефекты. Для того, чтобы достичь биосовместимости искусственно изготовленного ГАП, нужно знать, как управлять составом и свойствами ГАП. Для функционализации ГАП, применяют различные технологии модификации поверхности ГАП, в т.ч. изменение ее электрических свойств, заряда или поляризации. Установлено, что клетки костной ткани – остеобласты, значительно лучше адгезируются, быстрее растут и размножаются на электрически заряженной поверхности ГАП. Известно, что неоднородности в поверхностных слоях создаются различными дефектами ГАП структуры: вакансиями, внедрениями, замещениями атомов и т.п.

В данной работе рассмотрено влияние таких дефектов на электрические свойства и работу выхода электрона с поверхности ГАП. В работе применены различные технологические воздействия (температура, облучение гамма-лучами и микроволнами, помещение в атмосферу водорода с повышенным давлением и т.д.), изменяющие концентрацию заряда в поверхностных слоях ГАП, влияющих на электрические свойства ГАП и его способности активно взаимодействовать с живыми клетками (остеобластами). Эти исследования проводились с использованием измерений фотоэлектронной эмиссии до 6,5 эВ и фотолюминесценции от синхротронного излучения DESY до 30 эВ. Проведено также численное моделирование и расчеты свойств ГАП с такими дефектами, в сравнении с экспериментально установленными изменениями работ выхода при различных воздействиях на образцы ГАП. Анализ этих воздействий на поверхности ГАП представлен в этой работе.

Исследование поддерживается РФФИ 15-01-04924.

#### **ОЦЕНКА АДАПТАЦИОННЫХ И МИКРОЭВОЛЮЦИОННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В ЕСТЕСТВЕННЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ ДОЖДЕВЫХ ЧЕРВЕЙ, ДОЛГОЕ ВРЕМЯ НАСЕЛЯЮЩИХ ПОЧВЫ С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ РАДИОНУКЛИДОВ И ТЯЖЁЛЫХ МЕТАЛЛОВ**

**Велегжанинов И.О., Канева А.В., Майстренко Т.А., Белых Е.С., Шадрин Д.М., Пылина Я.И., Чадин И.Ф.**

ФГБУН Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, Сыктывкар, Россия

*vellio@yandex.ru*

Деятельность человека приводит к быстрым изменениям в окружающей среде, изменяя скорость и направление процесса эволюции во всех биологических системах. В связи с этим, комплексные исследования адаптационных и микроэволюционных изменений в естественных популяциях, обитающих в генотоксически контаминированной среде, высоко актуальны. В настоящем исследовании выполнена оценка плотности населения, устойчивости к острому химическому и радиоактивному стрессу, дождевых червей, несколько десятилетий живущих в условиях загрязнения почвы тяжёлыми металлами и радионуклидами на территории хранилища радиоактивных отходов в пос. Водный (Республика Коми, Россия). Кроме того были проанализированы уровень повреждения и скорость репарации ДНК целомочитов.

На популяционном уровне были выявлены генетическая структура и генетическое разнообразие дождевых червей *Aporrectodea caliginosa*. Показано, что численность дождевых червей в загрязнённой почве значительно снижена. Однако, несмотря на чрезвычайно низкую миграционную способность, часть популяции сохраняется. Признаков приобретённой повышенной устойчивости к дополнительному острому воздействию  $\gamma$ -излучения не обнаружено. Более того, особи, обитавшие в загрязнённых почвах более чувствительны к воздействию высоких концентраций кадмия. Уровни повреждений ДНК, детектируемых щелочной и нейтральной версиями метода ДНК-комет, в целомочитах червей, обитавших на загрязнённых и референтной территориях не различались. В то же время, скорость репарации повреждений ДНК, индуцированных дополнительным острым облучением в дозе 4,5 Гр, была повышена у червей, обитавших в радиоактивно загрязнённой почве. Генетические дистанции между популяциями, обитающими в загрязнённых и не загрязнённых почвах малы, и не позволяют судить о наличии адаптивной дивергенции. В то же время, корреляция между генетической и географической дистанцией отсутствует, так же как между генетической дистанцией и содержанием поллютантов. Была обнаружена сложная внутривидовая структура во всех исследуемых популяциях, содержащая как минимум три генетически дифференцируемых кластера. При этом генетическое разнообразие внутри всех исследованных популяций не различалось. Всё это свидетельствует об отсутствии выраженных адаптивных изменений и признаков движущего отбора, несмотря на долгою историю загрязнения. Это может быть связано с тремя факторами: со сложностью

состава поллютантов, их нерегулярным пространственным распределением и сложностью внутривидовой генетической структуры *A. caliginosa*.

### ИЗМЕНЕНИЕ НАРУЖНОГО СЛОЯ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ДЕЙСТВИИ АМИЛОИДНЫХ ФИБРИЛЛ

Венская Е.И.<sup>1</sup>, Скоробогатова А.С.<sup>1,2</sup>, Лукьяненко Л.М.<sup>1</sup>, Ковалева С.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГНУ Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь; <sup>2</sup>ГНУ Объединенный институт машиностроения НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

*e.i.rusina@mail.ru*

Амилоиды – это нерастворимые белковые фибриллы, которые откладываются в органах человека при различных патологиях. При этом амилоиды оказывают влияние не только на ткани органа-мишени, но и на клетки крови, находящиеся в постоянном контакте с ними. Цель данной работы - изучить изменения топографии наружного слоя мембран эритроцитов человека после действия на них амилоидных фибрилл из лизоцима с помощью атомно-силовой микроскопии. В работе использовался микроскоп NT-206 (ОДО Микротестмашины, Беларусь) со стандартными кремниевыми зондами (МикроМаш) в статическом (зонд CSC21) и динамическом (зонд NSC21) режимах. Амилоидные фибриллы получали из лизоцима куриного яйца путем инкубации его при 65°C в растворе соляной кислоты в течение 6 суток. Эритроциты выделяли из периферической крови практически здоровых доноров. В качестве контроля использовали клетки, проинкубированные 3 ч. при 37°C в буферном растворе, а также в растворе, содержащем 10 и 20 мкг/мл нативного лизоцима. Для оценки влияния амилоидов на эритроциты клетки инкубировали в растворе, содержащем 10 и 20 мкг/мл амилоидных фибрилл.

Показано, что после трехчасовой инкубации эритроцитов в среде, содержащей амилоидные фибриллы из лизоцима, изменяется отношение диаметра клеток к высоте. В контрольных клетках этот параметр составлял  $3,5 \pm 0,27$ ; после воздействия нативного лизоцима -  $3,9 \pm 0,56$ ; а амилоидных фибрилл в концентрации 10 и 20 мкг/мл -  $5,4 \pm 0,78$  и  $5,7 \pm 0,92$ , соответственно. Полученные данные указывают на изменение формы и объема клеток.

Также нами было изучено изменение параметров Ra (среднее арифметическое отклонение) и Rq (среднее квадратичное отклонение), с помощью которых оценивают «шероховатость» (неровность) поверхности клеточной мембраны. В наших экспериментах после трехчасовой инкубации эритроцитов в среде, содержащей амилоидные фибриллы из лизоцима в концентрации 20 мкг/мл, существенно возрастают показатели Ra и Rq по сравнению с контрольными клетками, проинкубированными в среде, не содержащей белков (от 2,74 и 3,52 до 4,41 и 5,74, соответственно). При этом нативный лизоцим в концентрации 20 мкг/мл практически не оказывает влияния на показатели Ra и Rq (2,71 и 3,66, соответственно).

Таким образом, нами обнаружено, что после трехчасовой инкубации эритроцитов в среде, содержащей амилоидные фибриллы в концентрации 10 и 20 мкг/мл, происходит изменение формы и объема клеток, а также увеличивается шероховатость поверхности клеток, что может оказывать влияние на функциональную активность клеток.

### РОЛЬ ПРОТЕИНКИНАЗЫ p38 В РЕГУЛЯЦИИ СТРЕССОВЫХ ОТВЕТОВ НА ЭМИ СВЧ У МЫШЕЙ

Виноградова Е.В.<sup>1,2</sup>, Новосёлова Т.В.<sup>1,2</sup>, Хренов М.О.<sup>1</sup>, Глушкова О.В.<sup>1</sup>, Новосёлова Е.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биофизики клетки РАН Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт Пушкино, Россия

*elenakinsky@yandex.ru*

p38 – протеинкиназа сигнального пути MAPK, играющая чрезвычайно важную роль в ответе клетки на стрессы, обусловленные факторами внешней среды. Гиперосмотичность, тепловой и окислительный шок, УФ-излучение вызывают активацию этой киназы, что приводит к фосфорилированию и активации транскрипционных факторов и экспрессии генов, кодирующих белки адаптивного ответа. Ранее в нашей лаборатории было показано, что низкоинтенсивное электромагнитное сантиметровое излучение (ЭМИ СВЧ) вызывает стрессовую реакцию как на клеточном уровне так и на уровне всего организма, что выражалось в активации стресс-индуцибельных сигнальных путей, увеличении синтеза белков теплового шока, провоспалительных цитокинов и активных форм кислорода. Целью настоящей работы явилось исследование роли митоген-активированной протеинкиназы p38 в реализации стрессового ответа на действие низкоинтенсивного ЭМИ СВЧ у мышей при облучении всего организма.

В экспериментах мы использовали ингибитор активности p38 Inhibitor XI, который вводили самцам мышей линии Balb/c за 1 час до облучения ЭМИ СВЧ. Источником ЭМИ СВЧ служил генератор Я2Р-76/2 (8.15-18 ГГц, 1 мкВт/см<sup>2</sup>, 1 час). Через 6 часов оценивали концентрацию цитокинов в крови методом ИФА,

концентрацию и активацию стрессовых и сигнальных белков (электрофорез и иммуноблот) в спленоцитах мышей.

Облучение мышей ЭМИ СВЧ вызывало развитие стрессовых ответов, что проявлялось в усилении активации внутриклеточных сигнальных путей p38, NF- $\kappa$ B, JNK и особенно IRF3 в клетках селезенки по сравнению необлученными животными. Кроме того, в спленоцитах животных после применения ЭМИ СВЧ наблюдалось значительное увеличение концентрации рецептора TLR4 и стресс-индуцируемых белков теплового шока HSP70 и HSP90. Активация сигнальных каскадов, индуцированная применением ЭМИ СВЧ, вызвала увеличение концентрации провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$ , IL-17, IL-6 и IFN- $\gamma$ , но не IL-1 в плазме крови мышей. Интересно, что блокирование активности сигнального пути p38 с использованием специфического ингибитора активности этой протеинкиназы приводило к устранению чувствительности организма мышей к действию ЭМИ СВЧ. Действительно при облучении животных с предварительно заблокированной активностью p38, активация сигнальных путей p38, NF- $\kappa$ B, JNK, концентрация TLR4, HSP70, HSP90 в иммунных клетках и продукция провоспалительных цитокинов сыворотке крови мышей не отличались от контрольного уровня. Таким образом, митоген-активированная киназа p38 определяет чувствительность организма млекопитающих к действию ЭМИ СВЧ.

Работа была поддержана грантами РФФИ 14-44-03558 и 16-34-00231.

### ИССЛЕДОВАНИЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ НА БИСЛОЙНЫХ ЛИПИДНЫХ МЕМБРАНАХ

Гаврильчик А.Н., Соколов В.С.

ФГБУН Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва, Россия

*anna.n.gavrilchik@gmail.com*

Метод фотодинамической терапии рака основан на использовании фотосенсибилизаторов (ФС) - соединений, способных при освещении передавать энергию молекулярному кислороду, переводя его в химически активное синглетное состояние  $^1\text{O}_2$ . Синглетный кислород окисляет липиды и белки в мембране, что приводит к гибели опухолевой клетки.

Ввиду сложности строения клеток, для исследования адсорбционных и фотодинамических свойств ФС *in vitro* мы моделируем их взаимодействие с клеточной мембраной, используя максимально приближенную к ней по свойствам модельную бислойную липидную мембрану (БЛМ). Исследования проводятся с помощью разработанного в лаборатории ИФХЭ РАН метода компенсации внутримембранного поля (КВП), позволяющего регистрировать изменения разности граничных потенциалов мембраны при адсорбции или разрушении на ее поверхности дипольных или заряженных соединений.

В данном эксперименте в качестве объектов исследования были выбраны сульфированные производные алюминофталоцианинов  $\text{AlPcS}_n$  и четырежды сульфированный порфирин  $\text{TPPS}_4$ . Измеренные методом КВП значения разности граничных потенциалов при адсорбции этих соединений сравнивали с ранее опубликованными  $\zeta$ -потенциалами. Было показано, что для  $\text{AlPcS}_1$  и  $\text{AlPcS}_2$  значения потенциалов различались, что было объяснено заметным вкладом дипольной составляющей граничного потенциала, то есть погружением этих соединений при адсорбции в бислой, в то время как для  $\text{AlPcS}_3$  и  $\text{AlPcS}_4$  эти значения совпали, что говорит об адсорбции этих соединений на поверхности мембраны без погружения в бислой.

Для исследования фотодинамических свойств ФС на поверхность БЛМ были адсорбированы не только ФС, но и мишени синглетного кислорода, скорости разрушения которых пропорциональны стационарной концентрации образующегося при освещении ФС синглетного кислорода. В качестве мишеней были использованы дипольные молекулы стирилового красителя di-4-ANEPPS. Было обнаружено, что при уменьшении числа сульфогрупп увеличивается фотодинамическая активность ФС, что объясняется увеличением глубины адсорбции ФС. При увеличении концентрации этих ФС скорость разрушения увеличивается, достигая насыщения, что говорит о способности самих ФС тушить  $^1\text{O}_2$ .

### КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ДИНАМИКИ ПЕРЕКЛЮЧЕНИЯ ПОЛЯРИЗАЦИИ В ПОЛИМЕРНЫХ СЕГНЕТОЭЛЕКТРИКАХ НА ОСНОВЕ ПВДФ

Геворкян В.Е.<sup>1</sup>, Быстров В.С.<sup>2</sup>, Авакян Л.А.<sup>1</sup>, Парамонова Е.Б.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВПО Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт математических проблем биологии РАН, Пушкино, Россия

*v.geworkian@yandex.ru*

В данной работе исследуется поляризация ПВДФ нанопленок Ленгмюра–Блоджетт (ЛБ). Сегнетоэлектрические тонкие плёнки ЛБ, основанные на сополимерах поливинилиденфторид и поли(винилиденфторид- трифторэтилене), демонстрируют явление переключения поляризации на

наноуровне с локальным переключением сегнетоэлектрической поляризации на атомно-молекулярном уровне. Области широкого применения ПВДФ и П(ВДФ-ТрФЭ) – в нанотехнологиях и микроэлектронике, устройствах хранения информации и новых энергонезависимых запоминающих устройствах. И особенно в биомедицине и наномедицине – как многообещающие компоненты различных нанокомпозитов, сенсоров и имплантов, благодаря своим особым акустическим и пьезоэлектрическим свойствам, высокой совместимости со многими органическими и биологическими молекулами и тканями.

В данной работе было выполнено детальное компьютерное моделирование и последовательное изучение молекулярных моделей структуры ПВДФ. Все версии моделей были разработаны и исследованы с использованием программного пакета HyperChem 8.0. Мы исследовали основные электрические и физические свойства ПВДФ. При проведении моделирования и расчетов в данной работе были использованы различные вычислительные методы, включая квантово-химические расчеты, основанные на полужемпирических методах. Сравнение и анализ данных, полученных различными методами, позволяет повысить надежность результатов.

Были рассмотрены следующие системы-цепочки, содержащие

- основной молекулярный мотив ПВДФ-сополимера:  $-\text{CH}_2-\text{CF}_2-$  (6 и 10 элементов)
- 2 цепочки, содержащие  $...-\text{CH}_2-\text{CF}_2...$  (6 и 10 элементов)
- 4 цепочки, содержащие  $...-\text{CH}_2-\text{CF}_2...$  (6 и 10 элементов)

С помощью специальной опции в пакете HyperChem, позволяющей имитировать включение внешнего электрического поля в различных направлениях, нами изучалось влияние приложенного электрического поля на структуру моделей молекулярных цепей различной длины и в различных конформациях. Определялось критическое коэрцитивное поле  $E_c$ , в котором происходит переворот цепочек и меняется направление поляризации. Эти расчеты выполнялись двумя методами: методами молекулярной динамики и методами геометрической оптимизации с построением петель гистерезиса. Полученные поля  $E_c \sim 0.5 - 2.5$  ГВ/м соответствуют данным эксперимента для разных составов сополимеров в цепочках. Полученные значения величин близки также к рассчитанным другими авторами в разных ТФП-подходах.

Работа поддержана грантами РФФИ 15-01-04924, 16-51-53017 и РФФИ 14-31-50605 мол\_нр.

#### ХАОТИЧЕСКАЯ ДИНАМИКА ПАРАМЕТРОВ ТРЕМОРА И ТЕППИНГА С ПОЗИЦИИ ТЕРМОДИНАМИЧЕСКОГО ПОДХОДА

**Горбунов Д.В., Эльман К.А., Горбунова Д.С., Срыбник М.А.**

БУВО Сургутский государственный университет Ханты-Мансийского автономного округа — Югры,  
Сургут, Россия

*gorbunov.dv@mail.ru*

Было установлено, что использование новых методов в рамках теории хаоса-самоорганизации (ТХС) помогает выявить различия в ряде параметров гомеостаза, в частности, параметров тремора и теппинга. При различных исследованиях сейчас все более активно используется метод многомерных фазовых пространств. При изучении и моделировании сложных биологических объектов существует возможность внедрения традиционных физических методов в биологические исследования и новых методов теории хаоса-самоорганизации для сравнения их эффективности. В этой связи в представленной работе демонстрируется реализация такого подхода на основе метода анализа двумерных фазовых пространств при изучении тремора, т.е. не произвольные движения и теппинга – произвольные движения. Вместо традиционного понимания стационарных режимов биосистем в виде  $dx/dt=0$ , где  $x=x(t)=(x_1, x_2, \dots, x_n)^T$  является вектором состояния системы (ВСС), в этом случае используются параметры *квазиаттракторов* (КА), внутри которых наблюдается движение ВСС в *фазовом пространстве состояний* (ФПС). Эти движения имеют хаотический характер, т.е. всегда  $dx/dt \neq 0$ , но при этом движение ВСС ограничено в ФПС объемом квазиаттрактора. Все это лежит в основе новой теории хаоса-самоорганизации – ТХС.

Многочисленные исследования подтвердили эффективность применения методов многомерных фазовых пространств в качестве меры динамики изменения параметров тремора и теппинга. Сравнение традиционных методов обработки тремора и теппинга и методов ТХС показывает низкую эффективность моделей в рамках расчета энтропий  $E$ , расчета спектральной плотности сигнала (СПС), автокорреляционных функций  $A(t)$ .

Основу третьей парадигмы и ТХС составляет проблема определенности и неопределенности биосистем – complexity (СТТ), которая в итоге сводится к проблеме порядка и беспорядка оценки и моделирования complexity. На этом фоне все еще отсутствует понимание особенностей (а их сейчас 5) и принципов организации биосистем, принципиальной невозможности их описания в рамках детерминизма, стохастики и детерминированного хаоса Арнольда-Тома.

## ПОИСК АНТИМИКРОБНЫХ БЕЛКОВ И ПЕПТИДОВ В СЕКРЕТЕ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ МЕДИЦИНСКОЙ ПИЯВКИ

Графская Е.Н.<sup>1,2</sup>, Бабенко В.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГОУ ВПО Московский физико-технический институт (Государственный университет), Долгопрудный, Россия; <sup>2</sup>ФГБУ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

*grafskayacath@gmail.com*

Антимикробные белки (АМБ) и антимикробные пептиды (АМП) являются неотъемлемой частью системы врожденного иммунитета любого организма. В силу быстро растущей в последнее время устойчивости возбудителей инфекционных заболеваний к антибиотикам, поиск и изучение новых антибактериальных агентов представляется важной и актуальной задачей.

Секрет слюнных желез медицинской пиявки (ССЖ) представляет собой уникальный сбалансированный набор природных высокоспецифичных биологически активных соединений, в том числе и антимикробных. Несмотря на многолетние детальные исследования медицинской пиявки, ССЖ остается на сегодняшний день мало изученным. Цель настоящей работы заключалась в поиске АМП и АМБ в ССЖ медицинских пиявок трех видов: *Hirudo medicinalis*, *H. verbana* и *H. orientalis*.

Ранее нами были получены транскриптомные данные для изолированных с помощью лазерной микродиссекции клеток слюнных желез и мышечной ткани пиявок трех видов, а также было проведено протеомное профилирование ССЖ с помощью масс-спектрометрии. Одновременно, было проведено полногеномное секвенирование *H. medicinalis*.

В данной работе представлены результаты биоинформатического анализа этих данных, направленного на поиск антимикробных пептидных и белковых компонентов ССЖ. Нами была создана объединенная база данных, содержащая последовательности антимикробных белков, пептидов и токсинов из 5 различных баз данных: APD2, ADAM, CAMPR3, UniProt и ATDB2.0. С использованием программного пакета InterProScan 5.15-54.0 мы провели функциональный анализ белковых последовательностей и выполнили сравнение транскриптомных и протеомных данных с полученной базой.

Основываясь на результатах выравниваний и изучив доступную литературу, нами были отобраны кандидатные последовательности полипептидов с предположительно антимикробной функцией. Для дальнейшего изучения антимикробных свойств отобранных белков и пептидов с помощью генно-инженерных методов нами получены конструкции для экспрессии генов, кодирующих эти последовательности, в клетках человека и *Escherichia coli*.

## РОЛЬ МИОЗИНА В ПРОЦЕССАХ РЕЦИКЛИРОВАНИЯ СИНАПТИЧЕСКИХ ВЕЗИКУЛ В ДВИГАТЕЛЬНОМ НЕРВНОМ ОКОНЧАНИИ ХОЛОДНОКРОВНЫХ

Григорьев П.Н.

ГБОУ ВПО Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия

*grigpavel@mail.ru*

Киназа легких цепей миозина – Са/кальмодулин-зависимый фермент, фосфорилирующий миозин, – рассматривается в качестве одного из кандидатов, регулирующих синаптическую передачу и пластичность. Однако роль киназы легких цепей миозина в процессах рециклирования синаптических везикул остается недостаточно изученной. В экспериментах на двигательных нервных окончаниях кожно-грудинной мышцы лягушки с использованием внутриклеточного микроэлектродного отведения постсинаптических сигналов и флуоресцентной конфокальной микроскопии исследовались процессы секреции медиатора и экзоцитоза синаптических везикул в условиях блокады миозина нервных окончаний.

Для блокады киназы легких цепей миозина и немышечного миозина II типа были использованы, соответственно, специфические ингибиторы ML-7 и блебистатин. Обнаружено, что действие ML-7 и блебистатина приводило к более выраженной динамике депрессии секреции медиатора при высокочастотном раздражении (20 имп/с). Высокочастотное раздражение препаратов, предварительно загруженных с использованием красителя FM 1-43, приводило к падению свечения до одного уровня и исчезновению флуоресцирующих пятен, как в контроле, так и при действии ML-7 или блебистатина.

Сопоставление динамик квантового состава и выгрузки флуоресцирующего красителя продемонстрировало замедление рециклирования синаптических везикул при действии ML-7 и блебистатина. Полученные данные свидетельствуют о том, что миозин участвует в процессах рециклирования синаптических везикул при высокочастотном раздражении.



## БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ ПОИСК ЛИПИД-СВЯЗЫВАЮЩИХ ВНУТРЕННЕ НЕУПОРЯДОЧЕННЫХ БЕЛКОВ

Дерюшева Е.И., Немашкалова Е.Л., Пермяков С.Е.

ФГБУН Институт биологического приборостроения с опытным производством РАН, Пушкино, Россия

*evgenia.deryusheva@gmail.com*

Основная особенность внутренне неупорядоченных (ID, intrinsically disordered) белков – полное или частичное отсутствие трехмерной структуры в изолированном состоянии. ID белки широко распространены в природе и выполняют множество разных функций. Многие ID белки связывают с развитием заболеваний, включая рак, диабет, широкий спектр нейродегенеративных заболеваний. Некоторые из болезней (например, болезни Альцгеймера, Паркинсона, Ниманна-Пика типа С) ассоциируют со способностью отдельных ID белков связывать липиды, что, по-видимому, связано с наличием в таких белках экспонированных растворителю гидрофобных участков, обладающих повышенным сродством к низкомолекулярным гидрофобным или амфифильным соединениям. Тем не менее, распространенность явления связывания липидов ID белками, а также закономерности этого явления, до сих пор не изучены. В этой связи, в настоящей работе проведен поиск множества белков, являющегося пересечением множеств внутренне неупорядоченных и липид-связывающих белков.

В качестве источника ID белков использовали базу данных DisProt, содержащую информацию лишь об экспериментально доказанных случаях внутренней неупорядоченности (694 белка). Поиск липид-связывающих белков проводили по записям базы данных DisProt, а также соответствующим записям базы данных белковых последовательностей UniProt, используя ключевые строки "lipo", "lipid", "fatty". Наличие не менее одной ключевой строки служило первоначальным критерием отнесения записи к искомому множеству. Реализация алгоритма поиска и извлечения данных проведена на основе высокоуровневого языка программирования Python. Автоматическая обработка записей DisProt и соответствующих записей UniProt выделила 96 белков, предположительно относящихся к липид-связывающим внутренне неупорядоченным (LBID, lipid-binding intrinsically disordered) белкам. Каждый из белков этого множества подвергался ручному анализу на предмет наличия литературных источников, подтверждающих липид-связывающие свойства белка, что позволило выявить 57 LBID белков (8% базы DisProt).

База данных LBID белков (xml-формат) содержит данные, характеризующие их структурные свойства, особенности их липид-связывающих и неупорядоченных участков, а также литературные источники, что создает основу для дальнейшего поиска закономерностей строения и функционирования LBID белков. В целом, показано, что не менее 8% ID белков относятся к категории липид-связывающих белков; создана база данных таких белков, служащая основой для установления структурно-функциональных закономерностей LBID белков.

Работа поддержана грантом РФФИ №16-34-00744мол\_а.

## РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННОЕ УВЕЛИЧЕНИЕ ПРОЛИФЕРАТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА ФИБРОБЛАСТОВ ЛЁГКИХ ЭМБРИОНА ЧЕЛОВЕКА

Ермакова А.В., Велегжанинов И.О.

ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

*ermakova\_a.v@ib.komisc.ru*

В настоящее время хорошо изучены биологические эффекты ионизирующих излучений в высоких дозах. По причине недостаточной чувствительности методов исследования и плохой воспроизводимости эффектов малых доз радиации механизмы их формирования остаются плохо изученными. В то же время, чаще всего человек подвергается воздействию радиации именно в малых дозах как кратковременному так и хроническому.

Известен ряд специфических эффектов ионизирующих излучений в малых дозах, которые позволяют говорить о качественных различиях реакции по интегральным показателям жизнеспособности различных биологических систем при количественном изменении радиационного воздействия. В частности, хорошо известно, что облучение клеток млекопитающих в высоких дозах приводит к индукции преждевременного клеточного старения. В то же время, нами был ранее обнаружен эффект замедления клеточного старения не иммортализованной культуры фибробластов лёгких человека, при облучении в малых дозах на ранних пассажах. В настоящей работе мы впервые выявили детализованную дозовую зависимость данного эффекта, а затем оценили динамику пролиферации фибробластов человека, облучённых в дозах, вызывающих замедление клеточного старения.

Максимальная задержка накопления стареющих клеток в культуре наблюдалась после облучения в дозе 3 сГр. При этом в первые дни происходило замедление пролиферации фибробластов, а затем значительное её ускорение, сохранявшееся до поздних пассажей. Таким образом, мы можем говорить о радиационно-индуцированном повышении пролиферативного потенциала клеток. Интересными оказались

также последствия облучения в дозе 2 Гр. В первые недели, как и ожидалось, облучение в высокой дозе приводило к повышению доли стареющих клеток и выраженному замедлению роста. Вероятно, это происходило в результате индукции преждевременной стресс-индуцированной необратимой остановки клеточного цикла. Однако, клетки, сохранившие способность делиться в дальнейшем пролиферировали быстрее необлученных, и к четвертой и пятой неделе мы наблюдали сниженное количество стареющих клеток в культуре, облученной в дозе 2 Гр.

Культуры, облученные в дозах 1, 9, 12, 15, 20, 50 и 100 сГр практически не отличались по динамике накопления стареющих клеток от необлученных. В связи с вышеупомянутой стохастичностью эффектов малых доз ионизирующих излучений все эксперименты были проведены в большом количестве технических и биологических повторностей и описанные результаты являются воспроизводимыми.

Работа поддержана грантом Российского Фонда Фундаментальных Исследований № 16-34-00367.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ТРИБЛОКСОПОЛИМЕРОВ НА ХАРАКТЕР АДСОРБЦИИ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ НА ПОВЕРХНОСТИ ПФУ ЭМУЛЬСИЙ

Жалимов В.К.<sup>1</sup>, Грицына Ю.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия

*student-iam@mail.ru*

В настоящее время широко распространено использование дисперсных форм лекарственных препаратов. Такой подход позволяет значительно расширить круг лекарственных веществ для внутривенного введения и делает возможным создание, например, плазмозаменителей - средств для парентерального питания и систем для направленной доставки препаратов. Однако при применении мелкодисперсных лекарственных форм возникает явление опсонизации частиц препарата белками плазмы. Это явление приводит к ускорению захвата частиц клетками ретикулоэндотелиальной системы и ускоренному выведению их из кровотока. Одним из способов подавить адсорбцию белков плазмы и замедлить поглощение микрочастиц (МЧ) клетками ретикулоэндотелиальной системы является покрытие поверхности МЧ неионогенными поверхностно-активными веществами (ПАВ), представляющими собой триблоксополимеры (ТБС) на основе полиэтиленгликоля (ПЭГ) и полипропиленгликоля (ППГ). В связи с этим становится важным изучение того, как зависит адсорбция белков от используемых ПАВ, что позволит спрогнозировать адсорбцию на поверхностях, стабилизированных ими.

Состав и количество адсорбированных белков исследовали, используя метод белкового 2D-картирования. Для денситометрии использовали сканированные изображения с разрешением 600 точек на дюйм и 48-битном цветовом представлении. Полученные изображения обрабатывали с помощью программ ImageJ и Adobe Photoshop CS3.

Из проведенной работы можно сделать вывод, что адсорбцию белков на поверхности ПФУ эмульсий, стабилизированных различными ТБС, условно можно разделить на 3 типа: **первый** - адсорбция на эмульсиях, стабилизированных ТБС, формирующих плотный и малоподвижный поверхностный слой. Для данного типа характерна адсорбция преимущественно белков опсонинной группы, в то время как адсорбция по механизму гидрофобного взаимодействия практически не выражена; **второй** - адсорбция данного типа наблюдается при использовании ТБС, формирующего плотный, но достаточно подвижный слой на поверхности каплей эмульсии. При этом наблюдается адсорбция значительного количества низкомолекулярных (до 15 кДа) белков, основанная на гидрофобном эффекте. **Третий** тип адсорбции наблюдается, когда используемый ТБС формирует рыхлый стабилизирующий слой на поверхности частиц эмульсии. В данном случае наблюдается адсорбция большого количества белков с молекулярными массами от ~10 до ~500 кДа, при этом различия в массовом соотношении между этими белками становятся менее выраженными.

## ПОИСК ГЕНОВ, ОТНОСЯЩИХСЯ К МНС-РЕГИОНУ У ПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

Захарова А.Л.<sup>1,2</sup>, Васильев К.А.<sup>1,2</sup>, Пантелеева А.А.<sup>3</sup>, Добрынин П.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Центр геномной биоинформатики им. Ф.Г. Добржанского, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>3</sup>Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ "Курчатовский институт", Гатчина, Россия

*alx.zakharova@gmail.com*

МНС - главный комплекс гистосовместимости, представляющий собой совокупность клеточных поверхностных белков, необходимых для распознавания иммунной системой чужеродных молекул у позвоночных. Картирование генов этого региона у разных организмов важно для изучения сцепления генов, определения консервативности областей, изучения их регуляции и оценки эволюционного процесса.

Целью нашей работы была аннотация региона МНС у нескольких, таксономически далёких, позвоночных животных и описание генов, находящихся на этом участке.

В работе использовались уже имеющиеся данные об аннотации этого региона у человека. Для поиска гомологичных генов мы выравнивали последовательности мРНК на геномы соответствующих животных с использованием BLAST. Далее были определены области, содержащие интересующие нас гены и заново проаннотированы с помощью AUGUSTUS. Построение карт МНС регионов осуществлялось в Circos, после чего полученные карты сравнивались с картой расположения генов у человека.

В результате работы нам удалось выровнять более 130 генов МНС региона у каждого из выбранных животных. Наибольшая часть генов, расположение которых удалось определить, относятся к классам МНСI и МНСII. В целом порядок расположения генов данных семейств совпадает у человека и выбранных животных. Для оценки консервативности нами были взяты различные группы генов, включая гистоны, гены, кодирующие обонятельные рецепторы (OR receptors), и гены 3-х классов МНС, включая EXI и EXII (Extended class 1 and Extended class 2). Что примечательно, у большинства животных гены разбросаны на 15 и более скафолдах, что может указывать на плохое качество сборки геномов.

Таким образом, в настоящем исследовании проаннотирован МНС регион у нескольких позвоночных животных и описаны гены, которые в нем находятся, а также показано, что представители разных таксономических групп среди позвоночных животных имеют схожее строение МНС региона, что подтверждает ранее известные данные о высокой консервативности этих генов.

### **ВЛИЯНИЕ ФЛУКТУАЦИЙ ГЕОМАГНИТНОГО ПОЛЯ, ИМИТИРУЮЩИХ МАГНИТНУЮ БУРЮ, НА ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ КАЛЬЦИЙЗАВИСИМЫЕ ПРОТЕИНАЗЫ НЕКОТОРЫХ ГИДРОБИОНТОВ**

**Канцерова Н.П.<sup>1</sup>, Крылов В.В.<sup>2</sup>, Лысенко Л.А.<sup>1</sup>, Немова Н.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, Борок, Россия

*nkantserova@yandex.ru*

Магнитной бурей называют связанное с солнечной активностью возмущение геомагнитного поля длительностью от нескольких часов до нескольких суток. Амплитуда флуктуаций геомагнитного поля во время магнитной бури редко превышает 1% от напряженности магнитного поля Земли, но даже такие слабые воздействия приводят к увеличению риска осложнений различных заболеваний человека, в первую очередь – сердечнососудистых и заболеваний нервной системы. Различные ионы (в том числе ионы кальция), связанные с белками и способные влиять на их функционирование, рассматривают в качестве первичных мишеней влияния магнитных возмущений на живые организмы.

Кальпаины – семейство внутриклеточных кальцийзависимых протеиназ, представители которого обнаружены у всех эукариот. Кальпаины участвуют в регуляции многих физиологических (внутриклеточная сигнализация, клеточный цикл, программируемая клеточная гибель и др.) и патологических процессов (миодистрофия, нейродегенеративные, сердечнососудистые заболевания и др.). Основным регулятором активности кальпаинов является внутриклеточный кальций, нарушение гомеостаза которого и приводит к развитию кальпаинассоциированных патологических состояний.

В настоящей работе в эксперименте исследовали влияние флуктуаций геомагнитного поля, имитирующих магнитную бурю, на активность кальцийзависимых протеиназ семейства кальпаинов некоторых водных беспозвоночных и рыб. Установлено, что магнитная буря, а также отдельные ее элементы (а именно медленные изменения напряженности геомагнитного поля) вызывают снижение уровня активности кальпаинов в тканях исследованных организмов. Установлено, что другие элементы магнитной бури практически не оказывают влияния на кальцийзависимые протеиназы изученных объектов. Таким образом, показано, что кальцийзависимые протеиназы семейства кальпаинов являются молекулярными мишенями действия геомагнитных флуктуаций, кроме того, эффективность магнитной бури обусловлена главным образом медленными изменениями геомагнитного поля, что согласуется с полученными ранее данными для некоторых биологических процессов у животных и растений.

Исследование выполнено с использованием приборов Центра коллективного пользования научным оборудованием ИБ КарНЦ РАН. Финансовое обеспечение исследования осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания № 0221-2014-0003 и при поддержке гранта Президента РФ МК-4737.2016.4.

### **ХАРАКТЕРИСТИКА И ГЕНОМНАЯ АННОТАЦИЯ SSR ЛОКУСОВ, СЦЕПЛЕННЫХ С ДЛИНОЙ ВОЛОКНА У СРЕДНЕВОЛОКНИСТОГО ХЛОПЧАТНИКА (*G. HIRSUTUM L.*)**

**Клюева М.В., Салахутдинов И.Б., Шерматов Ш.Э., Буриев З.Т., Абдурахмонов И.Ю.**

Центр геномики и биоинформатики АН Республики Узбекистан, Ташкент, Узбекистан

*mary.klyueva@outlook.com*

С целью определения генов в маркированных участках генома, предположительно ответственных за проявление признака длины волокна у средневолокнистого хлопчатника *G. hirsutum L.* были изучены

микросателлитные маркеры, сцепленные с параметром длины волокна согласно работам Shen и др.(2007) и Wang и др.(2006).

Были проанализированы 15 SSR маркеров, сцепленных с признаком длины волокна, занесенные в базу данных Cotton Marker Database. Последовательности праймерных пар этих SSR были использованы для проведения *in silico* PCR с помощью соответствующего инструмента в программе UGENE 1.19.0. В результате было получено 16 виртуальных ампликонов, которые далее анализировались при помощи BLAST и веб-приложения для предсказания генов Augustus.

Данные анализа виртуальных ампликонов позволили аннотировать участки, прилегающие к следующим маркерам: CIR246, CIR381b, NAU4024, NAU3260, JESPR208. Результаты анализов в BLAST и Augustus показали, что регионы, маркированные этими SSR, содержат гены, кодирующие субъединицу тубулин полиглутамилазного комплекса, убиквитин-протеинлигазу, компонент экзоциста, фактор транскрипции bHLH, WAT1-связанный белок и белок семейства MATE соответственно. Анализ литературы показал, что все эти гены прямо или косвенно вовлечены в процессы удлинения и формирования клеточных стенок растений, в том числе и волокна.

Тубулин полиглутамилазный комплекс обратимо модифицирует тубулин – компонент микротрубочек, необходимых для выравнивания целлюлозных волокон, регулирующих удлинение клетки. Уровень экспрессии убиквитин-протеинлигазы высок в волокнах хлопчатника, и Но и др. (2010) предполагают, что убиквитинирование играет роль при переходе к различным стадиям развития волокна, например, убирает белки, участвующие в удлинении волокна, для остановки роста клетки при переходе к стадии формирования вторичной клеточной стенки. На основе проведенных экспериментов Zarsky и др.(2008) предполагают, что экзоцистный комплекс участвует не только в росте клетки, но и в формировании клеточной стенки. У *A. thaliana* WAT1 – белок, локализованный в тонопласте клетки – необходим для формирования вторичной стенки в волокнах, а одна из групп транспортных генов MATE участвует в регуляции удлинения клеток гипокотила.

Таким образом, с помощью *in silico* PCR и BLAST анализа были определены предполагаемые гены, ответственные за длину волокна у *G. hirsutum*, и прежде анонимные маркеры CIR246, CIR381b, NAU4024, NAU3260, JESPR208 потенциально могут быть отнесены к функциональным, так как маркированные ими регионы содержат гены, возможно принимающие участие в процессах удлинения волокна.

## ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЕ НОВЫХ СЕЛЕН-СОДЕРЖАЩИХ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ НА СОСТОЯНИЕ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ КРЫС

Коваленко А.А.<sup>1</sup>, Забелина И.А.<sup>1</sup>, Хмиль Н.В.<sup>1</sup>, Овсянникова Т.Н.<sup>1</sup>, Дяченко В.Д.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Харьков, Украина; <sup>2</sup>Луганский национальный университет им. Т.Г. Шевченко, Луганск, Украина

*aerlina@mail.ru*

Селен является эссенциальным элементом, входящим в состав антиоксидантного фермента глутатион-пероксидазы. В настоящее время проводятся работы по созданию новых селенорганических препаратов, которые оказывают позитивное действие в условиях оксидативного стресса. Цель работы - изучить влияние новых селен-содержащих органических соединений (ethyl-2-(4-(4-bromophenyl)-1,3-selenazol-2-yl)-acetate, условно - ДВД-4 и 2-amino-6-((2-(4-chlorophenyl)-2-oxoethyl)selenyl)-4-(furan-2-yl)pyridine-3,5-dicarbonitrile (ДВД-7) на стойкость эритроцитов к кислотному гемолизу и генерацию в них первичных продуктов ПОЛ (перекисного окисления липидов).

Кислотную резистентность изучали по кривым кинетики гемолиза эритроцитов крыс с помощью агрегометра-формометра Shapemeter-01В. Активность ПОЛ определяли по уровню первичных продуктов – конъюгатов (диеновых - ДК, оксодиеновых – ОДК, триеновых - ТК и тетраеновых – ТЕТ) жирных кислот после инкубации эритроцитовой массы с одним из двух селен-содержащих соединений в течение 30 мин. Соединения были предварительно растворены в диметилсульфоксиде (их конечные концентрации в инкубируемых пробах – микромолярные, добавка раствора в среду – 20 мкл на 2 мл). Концентрации продуктов ПОЛ выражали в нмоль (для ДК, ТК, ОДК) и единицах оптической плотности (для ТЕТ) на 1 мл эритроцитовой массы.

Было показано смещение эритрограмм влево (в сторону меньших временных значений), что указывает на понижение кислотной резистентности мембран относительно контроля и подтверждается уменьшением лаг-периода гемолиза на полминуты ( $p < 0,005$ ). При этом индекс сферичности клеток не менялся, что свидетельствует об отсутствии влияния соединений на цитоскелет эритроцитов. Также установлено повышение уровня всех изучаемых продуктов ПОЛ после инкубации эритроцитовой массы с соединением ДВД-4: ДК - приблизительно в 3 раза, ОДК, ТК и ТЕТ - в 5 раз (ДК –  $100,86 \pm 17,14$ ; ТК –  $23,24 \pm 6,74$ ; ОДК –  $41,72 \pm 12,8$  нмоль/л; ТЕТ –  $0,81 \pm 0,23$  ед.опт.пл.) по сравнению с контрольным уровнем до инкубации (соответственно, ДК –  $344,03 \pm 37,79$ ; ТК –  $121,46 \pm 10,46$ ; ОДК –  $212,13 \pm 23,6$  нмоль/л; ТЕТ –  $3,43 \pm 0,64$  ед.опт.пл.). Повышение концентрации изучаемых конъюгатов жирных кислот в

эритроцитах крыс с селеновым соединением ДВД-7 менее значительно - ДК приблизительно в 2 раза, ОДК, ТК и ТЕТ - в 3 раза.

Наши результаты свидетельствуют о наличии мембрано-модулирующего эффекта исследуемых селен-содержащих соединений в условиях кислород-переносящих клеток с участием полиненасыщенных жирных кислот их мембран и активных форм кислорода.

## ЛОКАЛИЗАЦИЯ ТРАНСДУЦИНОВ ВО ВКУСОВЫХ ПОЧКАХ МЫШИ

**Колесникова А.С., Кабанова Н.В., Кучин А.В., Быстрова М.Ф.**

ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия

*alisask@rambler.ru*

Рецепторы, сопряженные с G-белками, служат для детекции экстраклеточных стимулов во всех клетках. Гены из семейства GNAT кодируют альфа-субъединицы G-белков, которые на 80% гомологичны по аминокислотному составу. Семейство включает всего три представителя (GNAT1, GNAT2 и GNAT3), кодирующие, соответственно, трансдуцин палочек и трансдуцин колбочек сетчатки глаза и гастдуцин вкусовых клеток. В отличие от большинства известных G-белков, которые найдены практически во всех клеточных системах, паттерн экспрессии представителей семейства GNAT чрезвычайно узок. Гастдуцин является специфическим G-белком вкусовых клеток. Он найден в светлых клетках вкусового сосочка и в клетках щеточной каемки (brush cells) в некоторых эпителиях. И тем и другим приписывается хеморецепторная функция. Трансдуцин палочек и трансдуцин колбочек сетчатки являются фоторецепторными G-белками. В начале 90-х годов трансдуцин палочек (GNAT1) и трансдуцин колбочек (GNAT2) впервые были найдены вне сетчатки глаза, а именно во вкусовой ткани крысы, причем транскрипты GNAT2 были обнаружены в следовых количествах. Поэтому в настоящее время, когда упоминается трансдуцин в контексте вкусовой системы, то по умолчанию – это трансдуцин палочек GNAT1, однако, детальной информации о локализации трансдуцина во вкусовой ткани нет ни для одного вида животных.

Мы исследовали экспрессию трансдуцинов в желобоватом вкусовом сосочке языка мыши на уровне мРНК и белка с помощью обратнo-транскриптазной ПЦР и иммунофлуоресцентного анализа. ОТ-ПЦР с ген-специфическими праймерами показал, что транскрипты обоих трансдуцинов представлены во вкусовой ткани. Мы далее исследовали локализацию трансдуцинов на гистологических срезах желобоватого сосочка языка мыши с помощью иммунофлуоресцентного анализа и конфокальной микроскопии, специфических антител анти-GNAT1 и анти-GNAT2 и вторичных антител, конъюгированных с AlexaFluor 488.

Специфическая зеленая иммунофлуоресценция, соответствующая GNAT2, была обнаружена в отдельных клетках вкусовых почек на срезах желобоватого сосочка языка, и ее интенсивность не уступала интенсивности мажорного белка гастдуцина. При использовании анти-GNAT1 антител детектировалась слабая диффузно распределенная иммунофлуоресценция. Таким образом, мы впервые получили доказательства, что доминантным трансдуцином во вкусовых почках мыши является не GNAT1, а GNAT2.

Работа поддержана грантом РФФИ 16-34-01068.

## ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРЫ БЕЛКА VAPD ИЗ *XYLELLA FASTIDIOSA* И МЕХАНИЗМА ЕГО СВЯЗЫВАНИЯ С ДНК

**Кочнева М.В.<sup>1</sup>, Швецов А.В.<sup>1</sup>, Aparicio Ricardo<sup>2</sup>, Polikarpov Igor<sup>3</sup>, Голубев А.М.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ Курчатовский институт, Гатчина, Россия; <sup>2</sup>University of Campinas, Campinas, SP, Brazil; <sup>3</sup>São Carlos Institute of Physics, University of Sao Paulo, SP, Brazil

*polyakova.m.v@mail.ru*

*Xylella fastidiosa* — фитопатоген, заражающий ксилему растений, который является возбудителем тяжёлых заболеваний сельскохозяйственных культур, таких как пёстрый хлороз циструсовых у апельсинов, болезнь Пирса у винограда, заболевания листьев у сливы, миндаля и оливок. Эти заболевания широко распространены в Южной Америке, южных штатах США и на юге Европы. За сезон могут быть заражены более миллиона растений, а за 1-3 года – погибнуть вся плантация. Полное секвенирование генома бактерии *X.fastidiosa* было выполнено в 2000 г. в связи с ее опасностью для агрокультуры.

Вирулентно-ассоциированные белки (Var) обнаружены во многих патогенных микроорганизмах и, как показано, играют важную роль в процессе противодействия иммунной системе хозяина. В настоящее время структура и механизм действия VarD-белков подробно не выяснены.

Кристаллическую структуру белка VarD из *X.fastidiosa* удалось решить, несмотря на то, что все полученные кристаллы оказались идеальными двойниками. Раздвойникование кристаллографических данных было выполнено с использованием скрипта *detwin\_perf.inp* в пакете программ CNS. Структура была решена методом молекулярного замещения с использованием искусственной поисковой модели

построенной *ab initio* (программа ROSETTA) по известной последовательности длиной 139 аминокислотных остатков. Структура была уточнена при помощи программы REFMAC до кристаллографических  $R_{work}$ - и  $R_{free}$ - факторов равных 0,199 и 0,253, соответственно. Интерактивное уточнение в реальном пространстве выполнялось в программе COOT.

Структурное выравнивание полученной модели выявило гомологию с ДНК-связывающими белками. Для выяснения возможного механизма связывания VarD с ДНК был проведен докинг с несколькими вариантами молекул одонитовой и двунитовой ДНК. На основании Z-оценки в программе PTOOLS модель комплекса VarD-днДНК была выбрана как наиболее вероятная. Методами молекулярной динамики (программный пакет GROMACS) была доказана стабильность построенной модели комплекса и определена свободная энергия связи белок-ДНК. Модель комплекса позволила определить группы аминокислотных остатков белка, участвующих в связывании с большой и малой бороздками молекулы ДНК. Предложенный вариант взаимодействия является характерным для ДНК-связывающих белков.

## ДАРНИЯ МАГНА КАК ТЕСТ-СИСТЕМА ДЛЯ ОЦЕНКИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ЕСТЕСТВЕННЫХ И ИСКУССТВЕННЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ

**Крылов В.В., Осипова Е.А.**

Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, Борок, Россия

*kryloff@ibiw.yaroslavl.ru*

Репродуктивные показатели рачков *Daphnia magna* – параметр, чувствительный к слабым воздействиям. Предложен двухэтапный протокол, позволяющий оценить биологические эффекты магнитных полей (МП). Первый этап – действие фактора на *D. magna* в течение нескольких поколений. Параллельно ведется контрольная линия. Второй этап – оценка биологического эффекта. Рачков из контрольной и экспериментальной линий помещают по одному в стаканы. Стаканы с *D. magna* из экспериментальной линии разделяют на 2 части: одну оставляют под воздействием исследуемого фактора, другую перемещают в контрольные условия. Аналогичные действия производят с рачками из контрольной линии. В итоге, рассматривают 4 варианта: контроль; рачки, развивавшиеся в контроле и перенесённые в исследуемый фактор; рачки, экспонированные в факторе и перенесённые в контроль; рачки, пребывающие под воздействием фактора на протяжении всего эксперимента. На втором этапе у *D. magna* оценивают продолжительность жизни, день появления первого потомства, размеры самок, количество и размеры производимого потомства.

Метод позволяет оценить эффекты кратковременной и длительной экспозиции. С использованием данного подхода исследовано влияние следующих факторов.

1) Низкочастотное МП (240 Гц, 1.6  $\mu$ T) на протяжении 8 поколений. Рачки из контрольной линии производили крупное, жизнеспособное потомство в контрольных условиях и мелкое потомство с повышенной долей нежизнеспособных особей после перемещения в МП. Дафнии из экспериментальной линии производили крупное, жизнеспособное потомство в условиях действия МП и мелкое, если репродукция проходила в контрольных условиях. 2) Инвертированное геомагнитное поле (ИГМП) на протяжении 8 поколений. После культивирования дафний в ИГМП наблюдали снижение производимого потомства. Была выявлена тенденция к снижению размеров производимого потомства от выводка к выводку. Наблюдали снижение продолжительности жизни и размеров самок, а также задержку в появлении первого потомства. Эффектов обусловленных материнским эффектом не обнаружено. 3) Имитация геомагнитной активности (ИГМА) на протяжении 3, 5 и 8 поколений. Результаты оказались аналогичны полученным в эксперименте с низкочастотным МП. Рачки из контрольной линии производили крупное, жизнеспособное потомство в контрольных условиях и мелкое под воздействием ИГМА. Дафнии из экспериментальной линии производили крупное, жизнеспособное потомство под воздействием ИГМА и мелкое, если репродукция проходила в спокойном геомагнитном поле.

Обсуждаются механизмы проявления материнского эффекта у *D.magna* в ответ на магнитное воздействие.

## СОЗДАНИЕ НОВЫХ АНТИБИОТИКОВ, НАПРАВЛЕННЫХ НА ИНГИБИРОВАНИЕ Е-САЙТА РИБОСОМЫ БАКТЕРИЙ

**Лаптев Г.Ю.<sup>1</sup>, Манцызов А.Б.<sup>2</sup>, Польшаков В.И.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, Химический факультет, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Москва, Россия

*gennadylaptev@gmail.com*

Общеизвестной проблемой в лечении бактериальных заболеваний является развитие резистентности к антибиотикам в клетках патогена. На данный момент не разработано эффективных методов борьбы с бактериальными инфекциями, которые бы являлись достойной альтернативой

применению антибиотиков. Таким образом, разработка новых антибактериальных препаратов является актуальной задачей современной фармакологии.

Рибосома служит мишенью для большого количества антибиотиков. С помощью метода рентгеновской кристаллографии решены структуры эукариотической и бактериальной рибосом с высоким разрешением. Описаны соединения, связывающиеся в E-сайте малой субъединицы рибосомы как у эукариот, так и у бактерий. К числу таких соединений относится амикумацин. Важно отметить, что в E-сайте прокариотической и эукариотической рибосом имеются значимые структурные отличия, что делает этот участок привлекательной мишенью для поиска новых антибактериальных препаратов. На данный момент неизвестны соединения, связывающиеся селективно с бактериальной рибосомой в E-сайте, в том числе и в области связывания амикумацина. Целью данной работы является поиск новых лигандов, селективно ингибирующих E-участок бактериальной рибосомы.

В рамках данной работы проведен поиск потенциальных ингибиторов E-участка бактериальной рибосомы *in silico*. Подобрана оценочная функция и алгоритм докинга, позволяющие достоверно воспроизводить кристаллографические конформации лигандов, связанных в E-сайте как бактериальной и эукариотической рибосом. Создана библиотека из 150 лигандов – производных амикумацина. Проведен докинг соединений библиотеки в сайте связывания амикумацина в E-участке рибосомы. На основании полученных результатов предложены кандидаты для экспериментального исследования биологической активности.

### **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОРОВ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ БЫСТРОДЕЙСТВИЯ РАСЧЕТОВ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ**

**Лихачев И.В., Балабаев Н.К.**

ФГБУН ИМПБ РАН - филиал ИПМ им. М.В. Келдыша РАН, Пушкино, Россия

*ilya\_lihachev@mail.ru*

Метод моделирования молекулярной динамики широко применяется в научных исследованиях. Одним из основных ресурсов программы моделирования молекулярной динамики является время выполнения. Чем выше скорость работы программ, тем легче становится получить более точные результаты. В длительном эксперименте возможен сбор более точной статистики. Также становится возможным работать с более объемными моделями, содержащими сотни тысяч атомов.

Как правило, программы моделирования молекулярной динамики рассчитаны на суперкомпьютерные комплексы. Особое внимание уделяется разработке программ, использующие графические ускорители в качестве математических сопроцессоров.

Процесс моделирования заключается в интегрировании классических уравнений движения материальных частиц – атомов системы. Последние связаны между собой силами валентных и невалентных взаимодействий. Сложность вычисления невалентных взаимодействий в общем случае пропорциональна квадрату числа атомов в системе и занимает большую часть (>95-99%) машинного времени.

Для повышения скорости моделирования используются методы снижения вычислительной сложности расчета сил и энергий невалентных взаимодействий. Наиболее известные из них – алгоритм составления списков взаимодействующих атомов (метод Верле) и алгоритм сканирования по пространству. Оба метода основаны на том, что атомы взаимодействуют лишь с некоторым окружением, ограниченным радиусом взаимодействия (радиус обрезания).

Метод сканирования по пространству зарекомендовал себя как наиболее эффективный метод оптимизации вычислений благодаря малым накладным расходам и возможности быстрого перестроения вспомогательных структур. В методе Верле значимая часть машинного времени тратится на построение самих списков взаимодействующих атомов.

При реализации программы моделирования молекулярной динамики в гетерогенной вычислительной среде (1CPU-2GPU) метод сканирования по пространству оказался неэффективным ввиду медленного исполнения ветвлений графическими процессорами. Метод списков Верле, напротив, показал свою эффективность в исполнительской части. Однако перестроение самих списков отнимало значимую часть машинного времени.

Проведено улучшение метода составления списков взаимодействующих атомов за счет составления самих списков с использованием метода сканирования по пространству. Разработанное программное обеспечение использовалось для моделирования белка клеточной адгезии C-Cdherin (20355 атомов).

Работа выполнена с использованием ресурсов суперкомпьютерного комплекса Института физики высоких энергий и суперкомпьютерного комплекса МГУ имени М.В. Ломоносова.

## ИССЛЕДОВАНИЕ СОВМЕСТНОГО ДЕЙСТВИЯ МОДУЛИРОВАННЫХ АКУСТИЧЕСКИХ ВОЛН И ГЕНОТОКСИЧЕСКИХ АГЕНТОВ НА СТРУКТУРУ ХРОМАТИНА ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ МЫШИ

Лысенко Ю.Н.<sup>1,2</sup>, Пашовкин Т.Н.<sup>1</sup>, Гапеев А.Б.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия

*l.yura92@inbox.ru*

Современные методы лечения онкозаболеваний, основанные на применении химиотерапевтических препаратов, одновременно с уничтожением трансформированных клеток наносят огромный вред окружающим опухоль клеткам и всему организму в целом. Одной из главных задач является поиск способов снижения действующих концентраций этих веществ. В связи с этим исследование механизмов совместного действия ультразвука с заданными временными и энергетическими параметрами и препаратов для химиотерапии представляет большой интерес, как в биофизике, так и в медицине. Ранее мы показали, что ультразвуковые волны в диапазоне использованных частот модуляции, интенсивностей и длительностей экспозиции не вызывают прямых повреждений ДНК, выявляемых методом "комета-тест". Однако обнаружен эффект другой природы, проявляющийся в деконденсации хроматина лейкоцитов периферической крови мыши, что выражалось в обратимом изменении размеров нуклеоида, связанном с расплетением молекулы ДНК. Этот эффект делает хроматин менее защищенным от повреждающего действия различного рода генотоксикантов. Учитывая эти данные, появляется возможность усилить эффект подавления роста раковых клеток и одновременно снизить риск гибели организма от действия токсических веществ за счет снижения действующих концентраций.

Цель работы заключалась в исследовании совместного действия модулированных ультразвуковых волн терапевтического диапазона интенсивностей ( $0 - 2 \text{ Вт/см}^2$ ) и генотоксических агентов (перекись водорода и метилметансульфонат) на структуру хроматина лейкоцитов крови мыши. Эксперименты выполнены с использованием общей фракции лейкоцитов периферической крови мышей-самцов линии Kv:SHK. Клетки, иммобилизованные в агарозный гель, предварительно облучали ультразвуковым излучением (несущая частота 0.88 МГц, частота модуляции 80 Гц, интенсивность  $0.8 \text{ Вт/см}^2$ ) в течение 10 минут. Непосредственно после облучения клетки обрабатывались перекисью водорода в концентрации 20 мкМ или метилметансульфонатом в концентрации 2.5 мМ в течение 10 мин при 37°C. В качестве соответствующих контролей служили образцы, обработанные в аналогичных условиях перекисью водорода или метилметансульфонатом, но предварительно не озвученные ультразвуковыми волнами. Уровень повреждений ДНК оценивали с использованием щелочного варианта метода "комета-тест" по процентному содержанию ДНК в "хвосте кометы".

В результате проведенных исследований экспериментально установлено, что в образцах, предварительно облученных ультразвуковыми волнами и затем обработанных перекисью водорода или метилметансульфонатом, уровень повреждений ДНК значительно выше по сравнению с образцами, подвергнутыми одиночной обработке генотоксическими агентами. После совместного действия ультразвука и перекиси водорода уровень повреждений ДНК в лейкоцитах возрастает в среднем в два раза. Тогда как повреждения ДНК, вызванные совместным действием ультразвука и метилметансульфоната, превышают контрольные значения втрое. Основываясь на полученных результатах, можно сделать вывод о том, что предварительное облучение ультразвуком с заданными параметрами позволяет в несколько раз усилить генотоксическое действие химических агентов или, другими словами, получить определенный уровень повреждений ДНК при более низких действующих концентрациях генотоксикантов. Если подобные эффекты будут наблюдаться при сочетанном действии ультразвука и химиотерапевтических препаратов, это позволит значительно снизить их действующие концентрации.

## МЕТОДЫ И АЛГОРИТМЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ДЛЯ ПОСТРОЕНИЯ ОБЛАЧНОГО РЕСУРСА MATHBRAIN

Оплачко Е.С., Рыкунов С.Д., Устинин М.Н.

ФГБУН ИМПБ РАН - филиал ИПМ им. М.В. Келдыша РАН, Пушкино, Россия

*oplachkoe@gmail.com*

Разработан веб-ресурс для анализа данных энцефалографии, предоставляющий пользователям сервис по модели «Приложение как Сервис» (Software as a Service). Доступ к ресурсу можно получить по адресу mathbrain.ru. На текущий момент пользователю доступен следующий функционал:

1. аппроксимация спектра с задаваемыми параметрами промежутка частот, который будет анализироваться;



2. восстановление спектра с задаваемыми параметрами промежутка частот, которые будут анализироваться, частоты дискретизации и промежутков времени;
3. решение обратной задачи магнитной энцефалографии;
4. анализ энцефалограмм с помощью преобразования Карунена-Лоэва;
5. анализа независимых компонент;
6. количественный анализ энцефалограмм.

Для организации безопасного доступа к системе был разработан модуль авторизации и разграничения полномочий пользователей на основе логинов/паролей и сессий. Предусмотрен демонстрационный режим работы ресурса. В этом режиме предоставляется доступ к заранее сформированным входным данным, которыми можно воспользоваться для получения представления о функционале системы. Все расчеты в демонстрационном режиме производятся в режиме реального времени, что дает пользователю полное представление о ресурсе MathBrain.

К веб-ресурсу было предъявлено требование интерактивности получаемых графиков, что является ресурсоемкой задачей ввиду большого объема входных данных. Для выполнения этой задачи была использована библиотека с открытым кодом mpld3. Использование этой библиотеки предоставляет пользователю следующие возможности для интерактивной работы с графиками: изменение масштаба изображения, горизонтальная прокрутка изображения, получение данных под курсором. Модуль вычислительной части, реализованный с помощью скриптов Python, связан с внешним интерфейсом с использованием JSONRPC протокола, менеджера ресурсов SLURM и набора скриптов. Данная связка технологий позволяет распределять нагрузку между задачами, выполняемыми пользователями при использовании ресурса. При этом пользователь может посмотреть статус своей задачи, отменить или повторить ее выполнение.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ, проекты 16-07-01000, 16-07-00937, 14-07-00636, а также при поддержке Программы фундаментальных исследований Президиума РАН I.33П.

#### КЛАСТЕРНЫЙ АНАЛИЗ ПРОФИЛЕЙ ФИЗИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПРОМОТОРОВ *E. COLI*

**Орлов М.А., Темлякова Е.А., Рясик А.А., Сорокин А.А.**  
ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

*orlovmikhailanat@gmail.com*

Промоторные области бактериального генома расположены возле точки старта транскрипции (ТСТ) и регулируют транскрипцию за счет взаимодействия с РНК-полимеразой и транскрипционными факторами. Промоторы характеризуются наличием консенсусных гексануклеотидов в -10 и -35 областях, а также физическими свойствами, которыми они отличаются от непромоторных областей. Так, промоторы в целом сильнее изогнуты, меньше деформируются при взаимодействии с белками, менее термостабильны, больше подвержены вызванной суперспирализацией дестабилизации дуплекса ДНК (SIDD, Stress-Induced Duplex Destabilization) и т. д. (Wang, H.Q. and Benham, C.J., 2006). Такие физические свойства можно условно разделить на следующие группы:

1. определяющиеся протяженными участками ДНК и равномерно проявляющиеся на ее длине – *глобальные гладкие* (например, электростатический потенциал);
2. определяющиеся протяженными участками, но проявляющиеся локально – *глобальные спайковые* (например, профиль SIDD);
3. определяющиеся и проявляющиеся локально – *локальные гладкие* (например, изгибность (Bukner I. et al., 1995)).

В данной работе использованы последовательности экспериментально подтвержденных промоторов *E. coli* (штамм K12) из базы данных RegulonDB версии 8.5 (<http://regulondb.ccg.unam.mx/>). Для них были рассчитаны электростатический потенциал на интервале [-540 Å, 180 Å] и SIDD на интервале [-1000 п.о., 1000 п.о.] (координаты приведены относительно ТСТ). Полученные данные подвергли кластерному анализу (метод Уорда) с оценкой устойчивости методом совместной консенсусной кластеризации. Таким образом, в обоих случаях выделены наиболее устойчивые кластеры.

Профили трех из полученных для SIDD кластеров имеют выраженные пики в определенной части последовательности вблизи ТСТ. Из них два соответствуют участкам, которые не могут напрямую взаимодействовать с РНК-полимеразой. Кроме того, около половины профилей SIDD лишены пиков, соответствующих вероятности плавления больше 50%. По-видимому, данные участки играют роль “предохранительных клапанов”, предотвращающих распространение волн суперспирализации вдоль ДНК. Примечательно, что именно для этих 2 кластеров установлена статистически значимая обогащенность профилями с более высокими пиками.

Работа поддержана грантом РФФИ №16-37-00303 мол\_а.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ УЛЬТРАКОРОТКИХ ЛАЗЕРНЫХ ИМПУЛЬСОВ С МАТЕРИАЛОМ ЖИВОЙ КЛЕТКИ НА ПРИМЕРЕ GV ООЦИТОВ МЫШИ

Осыченко А.А.<sup>1</sup>, Залесский А.Д.<sup>1,2</sup>, Шахов А.М.<sup>1,2</sup>, Надточенко В.А.<sup>1,3,4</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт химической физики им. Н.Н.Семенова РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>ГОУ ВПО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия; <sup>3</sup>ФГБУН Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка, Россия; <sup>4</sup>ФГБОУ ВО МГУ имени М.В.Ломоносова, Химический факультет, Москва, Россия

*alina.chemphys@gmail.com*

Проведение микрохирургических операций на клетках и эмбрионах с использованием ультракоротких лазерных импульсов является актуальным направлением современной биофотоники.

Механизм поглощения фемтосекундного лазерного излучения веществом в настоящее время достаточно хорошо известен. Вода, как основное вещество, из которого состоят клетки, часто используется в качестве модельного объекта при изучении поглощения фемтосекундных импульсов. Однако существенные отличия живой клетки по химическому составу и свойствам ограничивают применимость данной модели.

Для данного исследования удобными объектами являлись преовуляционные ооциты мыши на стадии зародышевого пузырька, GV ооциты (GV – germinal vesicle). Они обладают достаточно большим размером (70-80 мкм), благодаря чему удобно работать индивидуально с каждой клеткой.

В настоящей работе с помощью острогофокусированного фемтосекундного лазерного импульса ближнего ИК диапазона производили разрез ЯПТ (ядрышко-подобного тельца), которое находится в ядре GV ооцита и имеет размер порядка 10 мкм. Порог повреждения материала ЯПТ составляет  $3 \cdot 10^{11}$  Вт/см<sup>2</sup>, что ниже порога пробоя воды примерно на полтора порядка. В случае применения энергии импульса вблизи порога достигается разрез материала ЯПТ с микронным или субмикронным разрешением. Из-за вязкоупругих свойств объекта время релаксации разреза составляет примерно 2 секунды.

При превышении энергии импульса над порогом более чем в 5 раз наблюдается деформация ЯПТ, имеющая явный анизотропный характер, и в отдельных случаях его разрыв. Это явление было зафиксировано при помощи быстрой камеры, характерное время наблюдения деформации – 1,25 мс после облучения лазером. Анизотропная деформация ЯПТ, возникающая при воздействии лазерным импульсом, позволяет предположить неомогенную структуру ЯПТ, вопреки общепринятым представлениям о его гомогенном строении.

Работа была выполнена в рамках проекта ПНИ Министерства Образования РФ Соглашение No. 14.604.21.0058 (уникальный идентификатор RFMEFI60414X0058).

## ОСОБЕННОСТИ КИСЛОРОДНОГО МЕТАБОЛИЗМА ИЗОЛИРОВАННОЙ ПЕРФУЗИРУЕМОЙ ПЕЧЕНИ КРЫСЫ ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ХЛОРИДА КОБАЛЬТА

Пахомова В.Г.

ФГБУН Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН, Красноярск, Россия

*vgpakhomova@mail.ru*

Организм млекопитающих в процессе жизнедеятельности подвержен различным стрессовым состояниям. Одним из таких состояний является гистотоксическая гипоксия, которая возникает из-за попадания в кровь химическим веществ, не позволяющих эффективно усваивать кислород, например соединения кобальта.

Цель работы – оценить особенности метаболизма кислорода в печени крысы после введения хлорида кобальта в разных концентрациях: 250 мг/кг и 25 мг/кг. В качестве объекта исследований выбрали изолированную перфузируемую печень крысы. Эксперименты проводили на крысах-самцах Wistar массой 200-250 г. Животные были разделены на 3 группы. Группа 1 (контрольная группа) – интактные животные. Группа 2 – животные, которым вводили хлоридом кобальта в концентрации 250 мг/кг за 5 минут до операции выделения. Группа 3 – животные, которым вводили хлоридом кобальта в концентрации 25 мг/кг за 5 минут до операции выделения. После проведения операции выделения печень подключали к установке Гомеостат-3М, входящую в УНУ «Комплекс оборудования для управляемого культивирования изолированных органов». Печень перфузировали раствором Кребса – Рингера с добавлением лактата (1,7 мМ), хлорида аммония (5 мМ) и аспарагиновой кислоты (0,2 мМ), оксигенированной газовой смесью состоящей из 95% кислорода и 5% углекислого газа.

Введение хлорида кобальта приводит к увеличению сопротивления сосудов печени. При предварительном введении хлорида кобальта в концентрации 25 мг/кг животным в процессе перфузии наблюдали спазм сосудов изолированной печени на 50 мин. При введении хлорида кобальта в концентрации 250 мг/кг у изолированной печени повышенное сопротивление сосудов наблюдали изначально, блок оттока

фиксируют на 100 мин. Несмотря на ухудшение микроциркуляции при введении хлорида кобальта изолированный перфузируемый орган потребляет большее количество кислорода, чем выделенный у интактного животного. При введении животному хлорида кобальта в концентрации 25 мг/кг повышенное потребление кислорода органом сохраняется на протяжении всей перфузии, а при концентрации 250 мг/кг к 40 мин перфузии становится равным потреблению у органов выделенных от интактных животных. Помимо этого, хлорид кобальта приводит к снижению общего количества выделяемого углекислого газа и к увеличению количества синтезированной мочевины изолированной перфузируемой печени крысы. Полученные результаты свидетельствуют о процессах разобщения в работе дыхательной цепи.

### **СИСТЕМНЫЙ АНАЛИЗ ПРОБЛЕМЫ ПРИМЕНЕНИЯ БИОИНЖЕНЕРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ЛЕЧЕНИИ УРОТЕЛИАЛЬНОГО РАКА: МЕДИЦИНСКИЕ, БИОЛОГИЧЕСКИЕ, ПРАВОВЫЕ И КИБЕРНЕТИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ**

**Перепечин Д.В.<sup>1</sup>, Перепечина И.О.<sup>2</sup>, Шевченко В.П.<sup>3</sup>, Смирнова Д.В.<sup>2</sup>, Игнашин Н.С.<sup>1</sup>, Сафин Р.Н.<sup>1</sup>**  
<sup>1</sup>НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина – филиал ФГБУ НМИРЦ Минздрава России, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО МГУ имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО Московский авиационный институт (национальный исследовательский университет), Москва, Россия

*medcraft@mail.ru*

Актуальность. Уротелиальный рак (рак мочевого пузыря, лоханки и мочеточника) представляет собой важную проблему современной медицины. Использование тканевой инженерии позволит решить проблему замещения органов мочевыводящей системы после оргауноносящих операций (радикальная цистэктомия, нефруретерэктомия) на принципиально другом уровне. Применение биоинженерных технологий требует комплексного подхода, участия широкого спектра специалистов (онкологи, биологи, юристы, организаторы здравоохранения). Внедрение данной технологии очень наукоемкая проблема, требует больших затрат человеческих, финансовых, временных ресурсов. Одной из методик, позволяющей наиболее продуктивно использовать данную технологию является системный анализ и методы интеллектуального анализа (data mining). Данные методы широко применяются в науке и технике, в том числе и в медицине.

Цель. Изучение проблемы применения биоинженерных технологий при уротелиальном раке с использованием системного анализа.

Материалы и методы. В основу данной работы легло изучение 742 научных публикации в отечественной и зарубежной литературе, посвященным уротелиальному раку и проблемам регенеративной медицины.

Результаты. Проведен системный анализ проблемы внедрения регенеративных технологий в лечение уротелиального рака. Разработан поэтапный план, рассмотрены проблемы, риски, необходимые силы и средства для внедрения данных технологий. Результаты анализа представлены в виде интеллектуальных схем.

Выводы. Системный анализ является методикой, позволяющей оптимизировать внедрение регенеративных технологий в лечение уротелиального рака в медицинской практике. При правильной организации внедрение технологии создания биоинженерного мочевого пузыря и комплекса почка-мочеточник в рутинную медицину является вопросом 10-15 лет.

### **БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ДЛИН ВОЛН 400 И 460 НМ ПРИ ОНКОГЕНЕЗЕ**

**Плеханова Е.С.<sup>1</sup>, Чернигина И.А.<sup>2</sup>, Щербатюк Т.Г.<sup>2</sup>, Чернов В.В.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия; <sup>2</sup>ГБОУ ВПО Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород, Россия; <sup>3</sup>ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики РАН, Нижний Новгород, Россия

*evgenya\_plekhanova@mail.ru*

Цель работы - оценить действие НИЛИ длин волн 400 и 460 нм на рост экспериментальной опухоли и окислительный гомеостаз организма лабораторных животных при онкогенезе.

Эксперименты выполнены на 20 самцах белых нелинейных крыс – здоровых и с перевитым альвеолярным раком печени РС-1, разделенных на группы: интактная, контрольная (крысы-опухоленосители без воздействия), опытная 1 (крысы-опухоленосители, которых облучали НИЛИ с длиной волны 400 нм) и опытная 2 (крысы-опухоленосители, которых облучали НИЛИ с длиной волны 460 нм). Воздействие осуществлялось в область растущей неоплазии и транскутанно на кровь по 1 минуте, при этом разовая доза воздействия составляла 0,312 и 0,216 Дж/см<sup>2</sup>, для 400 и 460 нм соответственно. Курс 10 дней.

Источниками излучения служили экспериментальные генераторы НИЛИ (ИПФ РАН, Нижний Новгород). Противоопухолевый эффект оценивали по коэффициенту абсолютного прироста опухоли. Оценку состояния свободнорадикального окисления проводили методом индуцированной перекисью водорода и сульфатом железа хемилюминисценции ( $I_{max}$ ,  $AOA=1/S$ ) (Кузьмина Е.И. и др., 1983), по содержанию малонового диальдегида (МДА) (Fletcher D.L. et al., 1973) и активности супероксиддисмутазы (СОД) (Nishirimi M., 1972). Обработка данных осуществлялась методами непараметрической статистики.

Исследования показали отсутствие влияния НИЛИ с длиной волны 400 нм на рост экспериментальной опухоли и торможение роста неоплазии на 69% ( $p=0,008$ ) при воздействии НИЛИ с длиной волны 460 нм. Установлено, что рост альвеолярного рака печени РС-1 вносит дисбаланс между про- и антиоксидантной системами. Так, у животных-опухоленосителей наблюдалось увеличение  $I_{max}$  плазмы на 13% ( $p=0,042$ ), повышением содержание МДА на 33% ( $p=0,009$ ) и активности СОД в 3,5 раза ( $p=0,009$ ) по сравнению со здоровыми животными. После воздействия НИЛИ наблюдалось снижение активности СОД до уровня интактных животных ( $p<0,05$ ), но только облучение излучением с длиной волны 460 нм привело к снижению  $I_{max}$  плазмы на 10% ( $p=0,042$ ) и содержания МДА на 19% ( $p=0,018$ ).

НИЛИ с длиной волны 400 нм не влияет на рост экспериментальной опухоли, но нормализует антиоксидантную систему защиты организма крыс-опухоленосителей. НИЛИ с длиной волны 460 нм обладает выраженным противоопухолевым эффектом и восстанавливает окислительный гомеостаз организма лабораторных животных при онкогенезе.

### **ВЛИЯНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ СРЕДЫ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАДИАЦИОННОЙ СТЕРИЛИЗАЦИИ**

**Полякова И.В., Козьмин Г.В., Кобялко В.О., Павлов А.Н.**

ФГБНУ Всероссийский НИИ Сельскохозяйственной радиологии и агроэкологии, Обнинск, Россия

*irinaamchenkina@mail.ru*

Во всем мире усиливается интерес к использованию радиационных технологий в агропромышленном производстве. Обработка ионизирующим излучением сельскохозяйственного сырья и пищевой продукции проводится с целью дезинсекции, обеспечения микробиологической безопасности и увеличения сроков хранения (Радиационные технологии в сельском хозяйстве и пищевой промышленности. под общей редакцией Г.В. Козьмина, С.А. Гераськина, Н.И.Санжаровой. Обнинск. 2015).

Зависимость инактивации одних и тех же групп микроорганизмов от величины поглощенной дозы специфична для каждого вида продукции. С одной стороны это обстоятельство можно объяснить различным таксономическим составом микроорганизмов. Другой причиной нестабильности зависимостей «доза-эффект» может явиться влияние на конечный радиобиологический эффект свойств среды обитания микроорганизмов (Agun Sharma et al., 2000), которая будет отличаться для каждого вида продуктов растительного или животного происхождения.

Многие растительные субстраты сами по себе обладают разной биологической, антимикробной и антиоксидантной активностью, что может являться причиной изменения дозовой зависимости. Антиокислительные свойства продуктов увеличивают стерилизующие дозы, т.к. антиоксиданты перехватывают свободные радикалы, образующиеся при обработке ионизирующим излучением, и тем самым снижают общий эффект от облучения.

Для инактивации *E. Coli* in vitro при облучении бактерий в суспензии  $D_{10}$  составили от 50 до 80 Гр в зависимости от мощности дозы. А при облучении в составе специй стерилизующие дозы  $D_{10}$  составили 100 Гр для кориандра и 140 Гр для лукового порошка. (Павлов, 2016).

### **ДИНАМИКА ФУНКЦИОНАЛЬНО ВАЖНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ МОЛЕКУЛЫ УРИДИНФОСФОРИЛАЗЫ ИЗ *VIBRIO CHOLERAE* ПО РЕЗУЛЬТАТАМ РЕНТГЕНОСТРУКТУРНОГО АНАЛИЗА ПРИ АТОМНОМ РАЗРЕШЕНИИ**

**Прокофьев И.И.<sup>1</sup>, Лашков А.А.<sup>1,2</sup>, Габдулхаков А.Г.<sup>1</sup>, Мионов А.С.<sup>2</sup>, Михайлов А.М.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГУП Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов, Москва, Россия

*alashkov83@gmail.com*

Уридинфосфорилазы - одни из важных ферментов эу- и прокариот, осуществляющих фосфорилиз пиримидиновых нуклеозидов. Изучения структурных основ функционирования фермента необходимо для синтеза новых лекарственных препаратов противоопухолевой и противопаразитарической направленности

Впервые проведены систематические исследования методом белковой кристаллографии структур уридинфосфорилазы из *Vibrio cholerae* с лигандами: 6-метилурацилом, ионом фосфата, тимидином, цитозином и тимином (ID PDB: 4K6O, 4IP0, 4LZW, 5EPU, 4OGL) при атомном разрешении (от 1.29 Å до

1.06Å). Обнаружено, что при частичной заселённости сайтов связывания нуклеозидом или азотистым основанием а.о. с 92 по 96 β5-стренда и а.о. 211-221 β8 стренда, находится в двойном положении. При связывании молекулы лиганда участок β5-стренда фермента сдвигается в сторону лиганда, тем самым одно из альтернативных положений соответствует лигандированному состоянию, а второе – апоформе. Сдвиг участка β5-стренда в сторону молекул азотистых оснований в отличие от нуклеозидов, обусловлен наличием молекул глицерола или TRIS в рибозосвязывающем сайте. Эти лиганды образуют, как и фуранозная компонента пиримидиновых нуклеозидов, водородные связи с Thr93.

Движение в сторону лиганда β5 приводит к смещению β8, следствием чего меняется конформация петли L11 (а.о. 222 – 230). L11 играет роль “шлагбаума” для субстратов и может находиться в разных функциональных состояниях: открытом, закрытом и промежуточных. В исследуемых структурах при наличии лигандов в нуклеозид- и (или) рибозо-связывающем сайтах присутствуют как закрытые, так и открытые конформации L11, в тоже время L11 всегда открыта в апоформе субъединиц фермента.

В случае связывания фосфат-аниона с а.о. активного центра L11 всегда закрыта. Стабилизация β5 и L11 в закрытом состоянии фосфат-анионом происходит за счёт одновременного связывания его как с Arg90 и Thr93 β5- так и с Gly25 β1-стренда. В отличие от фосфат-аниона рибозная компонента нуклеозидов, а также симулирующие её лиганды, связываются лишь с β5-стрендом.

Таким образом, именно фосфат-анион является вторым субстратом, входящим в активный центр в случае прямой реакции. При его связывании активным центром петля L11 фиксируется в закрытой конформации, тем самым доступ нуклеозидов в сайт связывания становится невозможен. Кроме того, при связывании фосфат-аниона, сужается область активного центра между стрендами β5 и β1, что способствует протеканию ферментативной реакции.

Работа выполнена за счёт базового бюджетного финансирования ИК РАН и при финансовой поддержке РФФИ (№14-04-00952а).

#### ВЛИЯНИЕ НИЗКО-ИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ УФ ДИАПАЗОНА НА ВОЗБУДИТЕЛЯ КОКЛЮША *BORDETELLA PERTUSSIS*

Раевская И.Н.<sup>1</sup>, Овсянникова Т.Н.<sup>1</sup>, Ромоданова Е.А.<sup>2</sup>, Левченко А.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, Харьков, Украина; <sup>2</sup>Национальный фармацевтический университет Украины, Харьков, Украина

raevskaya82@gmail.com

Изменение свойств патогенных микроорганизмов с помощью низкоинтенсивного электромагнитного излучения и изучение механизмов этого явления – перспективная область биофизики и биотехнологии. Цель исследования - определение влияния низко-интенсивного лазерного импульсного излучения УФ диапазона (НИЛИ УФ) на серологический состав и чувствительность к антибиотикам штаммов *Bordetella pertussis*. Объект исследования - 13 музейных и 9 циркулирующих штаммов возбудителя коклюша. Чувствительность к антибиотикам определяли методом диффузии в агар. Применяли антибиотики, эффективные при лечении коклюша - эритромицин, пенициллины (ампициллин, оксациллин), аминогликозиды (стрептомицин, гентамицин), цефалексин. Серологическое типирование проводили в реакциях агглютинации с диагностическими сыворотками к основным агглютиногенам 1,2,3 коклюшной бациллы. Облучали НИЛИ УФ в режиме 4 и 8 импульсов, поглощенная доза в импульсе 7-10 мВ.

Наибольшая чувствительность циркулирующих штаммов была к эритромицину и гентамицину. Зона задержки роста в среднем составляла 26,8 - 25,8 мм. Также эти штаммы были чувствительными к стрептомицину, оксациллину и цефатоксину (зона задержки роста 17,1 - 18,0). Музейные штаммы наиболее чувствительны к гентамицину ( $24,5 \pm 0,9$  мм) и оксациллину ( $18,9 \pm 1,7$  мм), умеренно чувствительны к эритромицину, стрептомицину, цефалексину ( $16,3-12,7$ ), и устойчивы к ампициллину ( $7,4 \pm 2,6$  мм). Облучение повышало чувствительность штаммов бактерий к большинству антибиотиков в среднем на 15-25%, а к ампициллину - в 1,5-2 раза. Показано, что клоны популяций неоднородны по чувствительности к антибиотикам по сравнению с исходными популяциями. Неоднородность серологического состава музейных штаммов после облучения проявлялась уже в первой генерации. Так у штамма 312 до экспозиции только 6% клонов были гетерогенными, а после - 14,8%, для штамма 2046 эти показатели были соответственно 2% и 12,2%. Штаммы, которые долгое время периодически пересеивали и хранили в лиофилизированном состоянии, имели от 41,7% до 45,4% гетерогенных колоний. Штаммы, которые облучали в режиме 8 импульсов, были гетерогенными (30,4 - 77,5%) в большей степени, чем после 4. Дальнейшее пассирование на питательных средах иногда приводило к определенным изменениям их серологической зависимости к типичным агглютиногенам *Bordetella pertussis*. Вероятно, под влиянием НИЛИ УФ происходят фенотипические изменения *Bordetella pertussis*, и в первую очередь возникают изменения именно в структуре агглютиногенов.

## НАХОЖДЕНИЕ ПАРЦИАЛЬНЫХ СПЕКТРОВ ОТДЕЛОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА ПО ДАННЫМ МАГНИТНОЙ ЭНЦЕФАЛОГРАФИИ

**Рыкунов С.Д., Сычев В.В., Устинин М.Н.**

Институт математических проблем биологии РАН, Пушкино, Россия

*stanislavrykunov@gmail.com*

Предложен метод выделения парциальных спектров активности отделов головного мозга человека по данным реконструкции функциональной структуры мозга человека на основе магнитоэнцефалографических измерений. Под парциальным спектром в данной работе понимается многоканальный спектр Фурье, порождаемый источниками, расположенными в определенной области мозга.

Технология включает в себя следующие этапы: - построение функциональной томограммы по данным магнитной энцефалографии; - сегментация магниторезонансной томограммы головы конкретного субъекта в полуавтоматическом режиме. - уточнение полученной сегментации в ручном режиме с использованием анатомических атласов головного мозга; - создание масок на основе сегментации и их наложение на функциональную томограмму.

Результатом применения данной технологии являются парциальные спектры активности головного мозга человека, соответствующие определенным анатомическим структурам.

Были получены парциальные спектры лобной, теменной, височной и затылочной долей, а также таламуса и мозжечка для 20 наборов экспериментальных данных. Парциальные спектры рассчитывались как для нормальной, так и для патологической активности.

Предложенная технология позволяет выявить спектральные особенности источников электромагнитных полей, расположенных в различных анатомических разделах головного мозга человека. Полученные атласы спектральных особенностей могут быть применены и к результатам электроэнцефалографических измерений в силу общей природы источников сигнала.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ, проекты 16-07-01000, 16-07-00937, 14-07-00636, а также при поддержке Программы фундаментальных исследований Президиума РАН I.33П.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДИНАМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ОТКРЫТЫХ СОСТОЯНИЙ ДНК ДЛЯ КЛАССИФИКАЦИИ ПРОМОТОРОВ *E. COLI*

**Рясик А.А., Орлов М.А., Темлякова Е.А., Сорокин А.А.**

ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия

*arc7an@gmail.com*

Поиск регуляторных элементов генома, как правило, осуществляется на основе анализа подобия между нуклеотидными последовательностями и уже охарактеризованными и экспериментально подтвержденными функциональными участками у таксономически близких организмов. Самым известным и проверенным инструментом для анализа сходства биологических текстов является BLAST. Однако такой подход малоэффективен в случае поиска регуляторных областей генома, таких как промоторы, которые взаимодействуют с белками напрямую, и нуклеотидный состав которых не несет осмысленной информации, а используется для кодирования различных физико-химических свойств молекулы ДНК, узнаваемых белками.

Одним из ключевых этапов транскрипции является процесс “расплетения” двойной спирали ДНК в промоторной области, во время которого под действием РНК-полимеразы разрываются водородные связи между комплементарными основаниями, при этом участок ДНК переходит в открытое состояние, в котором он становится пригодным для запуска синтеза молекулы РНК по одноцепочечному ДНК шаблону.

В данной работе мы использовали профили различных физических характеристик для классификации промоторов *E. coli*. Для этого мы взяли выборку экспериментально подтвержденных промоторов из базы данных Regulon DB, и рассчитали профили распределения энергии активации открытого состояния, его размера, скорости звука в ДНК и полупериоды затухания открытых состояний в окрестности точки старта транскрипции (ТСТ). Данные профили физических характеристик были рассчитаны с помощью мезоскопической модели ДНК, которая позволяет моделировать динамику открытых состояний ДНК и рассчитывать их динамические характеристики [Grinevich A.A. et al, 2015]. Используя полученные профили, был проведен их кластерный анализ по методу Уорда с оценкой устойчивости методом совместной консенсусной кластеризации.

Работа была поддержана грантом РФФИ №16-37-00303 мол\_а.

## ГОМОЛОГИЯ УЧАСТКА V ДОМЕНА 23S рРНК С УЧАСТКАМИ ГЕНОВ РАЗЛИЧНЫХ КОНСЕРВАТИВНЫХ БЕЛКОВ ПРОКАРИОТ

Скобников Н.Э.<sup>1</sup>, Саямов В.И.<sup>2</sup>, Зимин А.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Северо-Кавказский научно-исследовательский институт животноводства, Краснодар, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН  
Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им.Г.К.Скрябина РАН, Пушкино, Россия

skoblikow@yandex.ru

Работа основывалась на гипотезе, что нуклеотидная последовательность консервативного участка V домена рибосомной 23S рРНК, принимающей участие в формировании пептидил-трансферазного центра (ПТЦ) рибосомы, могла являться кодирующей молекулой (РНК-геном) для спектра консервативных белков на ранних этапах биологической эволюции. В качестве источника такой последовательности был выбран участок 23 S рРНК (участок А-сайта, включающий ветви Н92, Н90 и Н93 пептидил-трансферазного центра), характеризующийся высоким консерватизмом структуры и нуклеотидного состава у различных таксонов прокариот.

Рассчитав результат гипотетической трансляции одной и возможных рамок считывания, провели поиск полученной аминокислотной последовательности в белках с помощью программы protein BLAST с использованием алгоритма blastp. Выяснилось, что фрагменты этой последовательности (прежде всего – мотив IxhhxELGLE) обнаруживаются в структуре многих консервативных белков у прокариот различных таксонов. В числе белков, содержащих фрагменты этой последовательности: 6 аминоацил-тРНК-синтетаз обоих классов, 3 рибосомных белка, ДНК-полимераза III, НАД-зависимая ДНК-лигаза А, 5 ферментов метаболизма. Соответствующие участки генов этих белков демонстрировали гомологию с консенсусной последовательностью гена 23 S рРНК.

Мы полагаем, что такая последовательность РНК (auuaaagcgguacgagcuggguuuagaacgu) является одновременно двойной предковой формой: структурно – для ПТЦ, информационно – для спектра древних пептидов, и определяется нами как последний общий матрично-рибосомный м/рРНК-предшественник (Last Universal RiboNucleic Ancestor, LURNA).

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЗАВИСИМОСТИ ЧАСТОТЫ КОНТАКТОВ УЧАСТКОВ ХРОМОСОМ ОТ АКТИВНОСТИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ У *DROSOPHILA MELANOGASTER* И *HOMO SAPIENS*

Самборская М.Д.<sup>1</sup>, Храмева Е.Е.<sup>1,2,3</sup>, Гельфанд М.С.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО МГУ имени М.В. Ломоносова, факультет биоинженерии и биоинформатики МГУ, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт проблем передачи информации, РАН, Москва, Россия; <sup>3</sup>Сколковский институт науки и технологий, Сколково, Россия

margarita.samborskaya@gmail.com

Одним из наиболее прогрессивных методов изучения хромосомной организации эукариотической клетки является метод Hi-C. Этот метод позволяет создать карту частот контактов между участками хромосом. Результаты исследований показывают, что частота контактов между участками хромосом взаимосвязана с экспрессией генов и содержанием некоторых эпигенетических маркеров на этих участках. Цель данной работы — проверить гипотезу о том, что участки генома, демонстрирующие аномально высокую частоту контактов, находятся преимущественно в неактивном состоянии и содержат эпигенетические маркеры, свидетельствующие о низком уровне экспрессии генов.

В работе были использованы данные Hi-C по частоте контактов в *D.melanogaster* и *H. sapiens*, также были использованы данные о состояниях хроматина – определенных комбинациях модификаций гистонов и других эпигенетических маркеров, характеризующих паттерны экспрессии.

Для геномов *D.melanogaster* и *H. sapiens* были выявлены корреляции между состояниями хроматина и частотами контактов. Было обнаружено, что с ростом частоты контактов участков наблюдается рост процентного содержания активных регуляторных элементов и понижение содержания нетранскрибируемых областей, что противоречит исходной гипотезе. Эти результаты были также подтверждены с помощью построения Hi-C карты, совмещенной с графиком процентного содержания состояний. Было установлено, что с ростом длины хромосом их нормированная суммарная частота контактов уменьшается. Была установлена положительная корреляция между частотой контактов участков хромосом и процентным содержанием Г, Ц нуклеотидов.

Выявленные зависимости представляют интерес для дальнейшего изучения, следует проверить данные результаты для эпигенетических маркеров.

## ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ И НАНОЧАСТИЦ В ОТНОШЕНИИ *PARAMECIUM CAUDATUM* С ПОМОЩЬЮ УЛУЧШЕННОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ

**Свиридова И.А., Шевцова Ю.А.**

ФГАОУ ВО Волгоградский государственный университет, Волгоград, Россия

*10ira0396@mail.ru*

Различные гидробионты и почвенные эукариотические организмы широко используются в оценке экологической безопасности различных химических продуктов и материалов, которые могут поступать в окружающую среду в результате деятельности человека. Одним из широко используемых объектов являются инфузории *Paramecium caudatum*. Основными проблемами использования инфузорий являются сложности стандартизации метода и сложности в сравнении результатов тестирования по различным протоколам. Целью работы была разработка рабочего протокола теста на экотоксичность, доступного для рутинного использования практически в любой лаборатории и характеризующегося низкими трудоемкостью и стоимостью анализа в сочетании с улучшенной воспроизводимостью и робастностью.

В ходе работы был разработан и оптимизирован рабочий протокол, позволяющий оценивать токсичность химических соединений и материалов по отношению к *P. caudatum*. Анализ применим практически к любым химическим соединениям (органические и неорганические вещества, гидрофильные и липофильные соединения), а также к наночастицам. Метод отличается низкой стоимостью, не требует каких-либо специальных или дорогостоящих приборов и инструментов и может быть воспроизведен в любой минимально оборудованной лаборатории. Для оценки токсического воздействия использовали два различных показателя: подвижность инфузорий и их гибель. Анализ может быть адаптирован для оценки как острого, так и хронического (до нескольких суток) воздействия проверяемых соединений/наночастиц.

Разработанный протокол был апробирован с использованием различных химических соединений и металло-содержащих наночастиц. В частности, был проведен сравнительный анализ токсичности Ag<sup>+</sup> (в форме нитрата) и серебряных наночастиц (AgNPs), полученных различными способами. Показано, что AgNP обладают более слабой токсичностью, чем раствор нитрата серебра. В то же время, эффекты AgNP на подвижность и выживаемость инфузорий существенно отличаются в зависимости от использованного для их получения восстановителя, от соотношения концентраций восстановителя и Ag<sup>+</sup> и от размера частиц после фракционирования.

В результате работы разработан рабочий протокол доступного и недорогого теста на экотоксичность с использованием инфузорий и проверена его применимость на широком спектре вероятных токсикантов.

## АНАЛИЗ РОЛИ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА В ИНДУКЦИИ ВАРИАБЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА В ПРОРОСТКАХ ГОРОХА

**Семина М.М., Морозова Е.Н., Бушуева А.В., Воденев В.А.**

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

*mutoxohdpuya@yandex.ru*

Все живые организмы обладают свойством возбудимости. Растения в ответ на разнообразные внешние факторы способны генерировать электрические сигналы. Повреждающие воздействия вызывают в них генерацию переменного потенциала (ВП), механизм распространения которого неизвестен. ВП – это локальный электрический ответ, индуцированный распространением сигнала химической или гидравлической природы. В качестве кандидата на роль химического агента может быть рассмотрен пероксид водорода, так как он способен к быстрому распространению и к индукции электрических реакций. В работе проведен анализ роли этого соединения как индуктора ВП.

Объектом исследования служили двухнедельные проростки гороха. Методом внеклеточной регистрации осуществлялась запись электрической активности. ВП индуцировали ожогом кончика листа. Через определённый интервал времени после раздражения растение фиксировали жидким азотом, разделяли на фрагменты, в которых определяли содержание H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> флуориметрическим методом с помощью зонда AmplifluRed.

Локальное раздражение в виде ожога вызывает в проростках гороха распространение ВП, амплитуда и скорость которого снижались с увеличением расстояния от зоны повреждения.

При изучении распределения пероксида водорода в стебле проростков гороха выяснено, что концентрация H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в норме имеет тенденцию к снижению в базипетальном направлении. При действии локального повреждения происходит изменение концентрации пероксида водорода в нераздражённых участках. На расстоянии 3-6 см от зоны повреждения через 50с имеет место значительное превышение содержания H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> над контрольным уровнем, а через 100с и 150с такое увеличение наблюдается на участке



6-9 см от зоны повреждения. На участке 9-12 см наблюдается невыраженная тенденция к повышению концентрации  $H_2O_2$ .

Для изучения возможной роли  $H_2O_2$  в индукции ВП и расшифровки механизмов повышения его содержания проводили оценку влияния каталазы и DPI (ингибитора NADH-оксидазы) на распространение ВП. При действии данных соединений понижается амплитуда реакции, что говорит о необходимости повышения концентрации  $H_2O_2$  для распространения ВП. Вероятно, механизм повышения содержания  $H_2O_2$  связан с активацией NADH-оксидазы плазматических мембран.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (контракт №6.2050.2014/к).

### **ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ В РАЗВИТИИ ТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ИОНОВ АЛЮМИНИЯ НА КЛЕТКИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА**

**Скоробогатова А.С.**

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

*sas.alesya@gmail.com*

Алюминий не принадлежит к группе переходных металлов, однако известно, что он косвенно может воздействовать на окислительно-восстановительные процессы.

Нами обнаружено, что предварительная инкубация эритроцитов и лимфоцитов человека с хлоридом алюминия (3 ч 37°C,  $AlCl_3$ : 2,7 – 27 мг/л) *in vitro* приводит к дозозависимому накоплению клетками ионов алюминия. При этом эритроциты в большей степени и быстрее накапливают ионы металла. Нами было предположено, что накопление в клетках крови алюминия может стимулировать окислительные процессы, нарушая баланс «антиоксиданты/прооксиданты». С помощью флуоресцентного зонда 5-(и-6)-хлорметил-2',7'-дихлордигидрофлуоресцеин диацетата (CM- $H_2$ DCFDA) было изучено изменение уровня содержания АФК в эритроцитах и лимфоцитах человека *in vitro*. Обнаружено, что в используемых концентрациях  $AlCl_3$  вызывает увеличение уровня интенсивности флуоресценции зонда в эритроцитах в течение первых 20 мин на 50-80 % по сравнению с контролем. Аналогичный результат был получен и для лимфоцитов - добавление различных концентраций  $AlCl_3$  в среду инкубации лимфоцитов приводит к увеличению интенсивности флуоресценции зонда в течение 60 мин. Полученный эффект дозозависим и более выражен в суспензии эритроцитов, что может быть связано с высокой чувствительностью этих клеток к окислительному стрессу.

Показано, что 3-х часовая инкубация эритроцитов и лимфоцитов в среде, содержащей  $AlCl_3$ , приводит к возрастанию уровня в клетках малонового диальдегида (максимально на 40 % в эритроцитах и на 33-35 % в лимфоцитах), что отражает нарастание процессов перекисного окисления липидов в клетках.

Для выяснения вопроса о функционировании ферментов антиоксидантной системы в клетках, подвергшихся действию  $AlCl_3$ , нами изучены активности супероксиддисмутазы (СОД), каталазы и глутатионпероксидазы в эритроцитах до и после инкубации их в среде, содержащей хлорид алюминия. В эритроцитах, подвергшихся воздействию 20,25 – 27 мг/л  $AlCl_3$ , обнаружено снижение активности каталазы по сравнению с контролем, небольшое, но достоверное снижение активности СОД и глутатионпероксидазы при воздействии 27 мг/л хлорида алюминия.

Полученные результаты позволяют заключить, что, накапливаясь в клетках, ионы алюминия стимулируют запуск окислительных процессов, которые могут вызывать токсическое воздействие на клетки крови.

### **ИССЛЕДОВАНИЕ ОРГАНИЗАЦИИ ЯДРЫШКОПОДОБНОГО ТЕЛЬЦА И ХРОМАТИНА В ООЦИТАХ МЫШИ МЕТОДОМ ОПТИЧЕСКИХ ЛАЗЕРНЫХ ЛОВУШЕК**

**Сырчина М.С., Айбуш А.В., Залесский А.Д., Осыченко А.А., Шушин А.И., Надточенко В.А.**

ФГБУН Институт химической физики им. Н.Н. Семёнова РАН, Москва, Россия

*wrongclue@gmail.com*

Объектом исследования в настоящей работе являются преовуляторные ооциты антральных фолликулов половозрелых мышей линии СВА/С57В1. В процессе оогенеза зародышевый пузырёк (*GV – germinal vesicle*) претерпевает существенные структурные и функциональные изменения. Рост ооцита и его последующий переход в преовуляторную фазу сопровождается перестройкой хроматина, а также формированием «ядрышкоподобных телец» (ЯПТ), отличающихся по морфологии и составу от ядрышек типичных соматических клеток. Особенности взаимодействий между хроматином и ЯПТ могут свидетельствовать о степени зрелости ооцита и служить характеристикой для оценки готовности ооцита к оплодотворению и последующему эмбриональному развитию.

В задачи данного исследования входит разработка методики изучения организации хроматина, окружающего ЯПТ, а также установление характера связи между ними с использованием оптической

лазерной ловушки (оптического твизера). На данном этапе исследования выявлена динамика движения ЯПТ при воздействии твизера.

Разработана физическая модель, позволяющая охарактеризовать вязкостно-эластичные свойства хроматина, окружающего ЯПТ, посредством измерения скорости и траектории движущегося в нуклеоплазме ЯПТ.

### **Ca<sup>2+</sup>-АКТИВИРУЕМЫЕ K<sup>+</sup> КАНАЛЫ В МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА**

**Тарасов М.В., Котова П.Д., Рогачевская О.А., Колесникова А.С., Колесников С.С.**  
ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия

*tarasov-aspirant@yandex.ru*

Мезенхимные стромальные клетки (МСК) - это популяция клеток, в состав которой входят взрослые недифференцированные мультипотентные клетки, способные дифференцироваться в остеобласты, адипоциты и хондроциты. МСК участвуют в разнообразных физиологических процессах, включая регенерацию тканей, регуляцию иммунитета и кроветворения. На сегодняшний день мало что известно о роли ионных каналов в физиологии МСК. В ранее проведенных исследованиях в нашей и других лабораториях была обнаружена способность этих клеток генерировать спонтанные Ca<sup>2+</sup> осцилляции и отвечать мобилизацией внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> на агонисты различных гептаспиральных рецепторов. Эти Ca<sup>2+</sup> сигналы могут вызывать поляризацию цитоплазматической мембраны клеток путем активации Ca<sup>2+</sup>-чувствительных ионных каналов.

В проведенной нами работе было обнаружено, что в клетках, которые отвечали мобилизацией внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> на пуринергический агонист АТФ (10 мкМ) или генерировали спонтанные Ca<sup>2+</sup> осцилляции, увеличение концентрации цитозольного Ca<sup>2+</sup> сопровождалось гиперполяризацией. Это указывало на функционирование в МСК Ca<sup>2+</sup>-активируемых K<sup>+</sup> каналов. Экспрессионный анализ обнаружил транскрипты генов KCNMA1 (K<sub>Ca</sub>1.1) и KCNN4 (K<sub>Ca</sub>3.1), кодирующих Ca<sup>2+</sup>-активируемые K<sup>+</sup> каналы большой (ВК) и средней (ИК) проводимости, соответственно. Внутриклеточные Ca<sup>2+</sup> сигналы в ответ на Ca<sup>2+</sup> ионофор иономицин (1 – 10 мкМ) активировали K<sup>+</sup> проводимость практически во всех исследованных клетках (n=40). В 90% из них Ca<sup>2+</sup>-активируемые K<sup>+</sup> токи обладали сильной потенциал-зависимостью и полностью блокировались ибериотоксином (IbTX, 100 нМ), специфическим ингибитором ВК-каналов. В 10% исследованных клеток ибериотоксин уменьшал Ca<sup>2+</sup>-активируемый K<sup>+</sup> токи лишь частично, и оставшаяся компонента ингибировалась специфическим блокатором ИК-каналов TRAM 34 (1 мкМ). Следовательно, среди МСК было обнаружено две субпопуляции клеток, одна из которых экспрессировала только ВК каналы (90% клеток), а другая – и ИК, и ВК каналы (10% клеток).

Таким образом, в МСК ВК каналы являются доминантным типом Ca<sup>2+</sup>-активируемых K<sup>+</sup> каналов, которые могут играть роль эффекторных молекул в Ca<sup>2+</sup> сигнализации, опосредуемой гептаспиральными рецепторами.

Данная работа поддержана РФФИ (№ 14-04-01711а) и РНФ (№ 14-14-00687).

### **ВЛИЯНИЕ ДОДЕЦИЛ-ТРИФЕНИЛФОСФОНИЯ И ДЕКВАЛИНИУМА НА ПРОНИЦАЕМОСТЬ БИОЛОГИЧЕСКИХ И ИСКУССТВЕННЫХ МЕМБРАН**

**Теньков К.С.<sup>1,2</sup>, Белослудцева Н.В.<sup>2</sup>, Белослудцев К.Н.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Марийский государственный университет, Йошкар-Ола, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия

*tk95@mail.ru*

Основной функцией митохондрий в здоровой клетке является обеспечение ее энергией для поддержания нормальной жизнедеятельности. Однако, в последнее время стало очевидным, что митохондрии, интегрирующие множество внутриклеточных сигнальных путей, ведущих к клеточной гибели, играют центральную роль во многих патологических процессах. Поэтому созданию митохондриально-направленных молекул на сегодняшний день уделяется большое влияние. К числу таких молекул относятся и липофильные проникающие катионы. Их открытие в 60-ые годы прошлого века позволило подтвердить справедливость хемиосмотической теории окислительного фосфорилирования. Известно, что использование липофильных катионов с противораковыми препаратами повышало их эффективность. Также они применяются для конструирования митохондриально-направленных антиоксидантов. Механизмы взаимодействия липофильных катионов с биологическими и искусственными мембранами интенсивно изучаются.

В настоящей работе мы провели сравнение одно- и двух зарядных липофильных катионов (додецил-трифенилфосфония (C12TPP) и деквалиниума (DQA) как индукторов неспецифической проницаемости

биологических и искусственных мембран. В работе показано, что C12TPP уже в концентрации 5 мкМ индуцирует мощный выброс флуоресцентного зонда сульфородамина Б из однослойных лецитиновых липосом. В то же время DQA практически не пермеабиллизует мембрану липосом. На митохондриях печени крыс показано, что оба соединения индуцируют высокоамплитудное набухание органелл. 20 мкМ C12TPP индуцирует набухание митохондрий не чувствительное к циклоспорину-А. В то же время DQA уже в концентрации 2.5 мкМ индуцирует циклоспорин-чувствительное набухание митохондрий, то есть деквалиниум является индуктором МРТ поры.

Показано, что при добавлении 10 мкМ C12TPP и DQA к суспензии эритроцитов происходит значительное снижение количества клеток. Обсуждаются механизмы действия C12TPP и DQA на биологические и искусственные мембраны.

Работа поддержана грантами РФФИ 15-04-03081-а и РНФ 16-15-00157.

### **АНАЛИЗ КОЛЕБАНИЙ ЧИСЛЕННОСТИ ЛЕММИНГОВ С ПОМОЩЬЮ НАБОРА ВЗАИМОСВЯЗАННЫХ МОДЕЛЕЙ РАЗНОЙ СТЕПЕНИ ДЕТАЛИЗАЦИИ**

**Трапцев Р.В.<sup>1</sup>, Саранча Д.А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>Федеральный исследовательский центр Информатика и управление РАН, Москва, Россия

*tslav85@mail.ru*

Предложен метод комплексных исследований (КОИС) сложных биологических объектов при недостатке информации об их свойствах. Данный метод включает в себя полный набор операций: от отбора исходной биологической информации, построения набора взаимосвязанных моделей разного типа и разной степени детализации до формулирования гипотез об основных механизмах исследуемого биологического явления.

Этот метод был применен для исследования колебаний численности леммингов в различных регионах тундры, в том числе на п. Таймыр. Как отмечает известный исследователь Ф.Б. Чернявский (2002): «Лемминговые циклы — один из частных случаев общей экологической проблемы, которая уже несколько десятилетий служит предметом острых дискуссий». Основные трудности при изучении данного объекта состоят в том, что среди биологов нет единого мнения по поводу формирования колебаний численности леммингов. Сбор данных о численности леммингов в зимний период затруднен, поскольку прирост их численности, во многом, определяется подснежным размножением, в то время как продолжительность зимы в тундре составляет от 8 до 9 месяцев. Кроме того, даже в летний период численность популяции леммингов не поддается прямому измерению, по причине их высокой рождаемости и смертности (в том числе и от хищников).

На основе предложенной методики построена новая версия модели сообщества «растительность-лемминги-песцы», позволившая получить разностное уравнение описывающее динамику численности леммингов, в котором определены границы переходной зоны. Параметрический анализ этого уравнения показал, что существует сценарий изменения выделенного параметра, при котором последовательно возникают зоны с регулярными и нерегулярными колебаниями численности. Внутри зоны с регулярными колебаниями период циклов постоянный, при переходе от одной зоны к другой период изменяется в последовательности натурального ряда. Зоны с регулярными колебаниями отделены друг от друга переходными зонами с более сложной динамикой, которые соответствуют переходной зоне разностного уравнения. Что соответствует динамике численности леммингов, наблюдаемой в природе. Показано, что для циклов малого периода зоны с нерегулярными колебаниями численности леммингов значительно уже зон с регулярными колебаниями.

В ходе проведенных исследований удалось определить существенные параметры, от которых зависит формирование колебаний численности леммингов и, тем самым, приблизится к разгадке лемминговых циклов.

### **ИНСУЛИН АКТИВИРУЕТ ДВА РАЗЛИЧНЫХ ПУТИ КАЛЬЦИЕВОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ В БЕЛЫХ АДИПОЦИТАХ**

**Туровский Е.А., Туровская М.В., Долгачева Л.П.**

ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия

*turovsky.84@mail.ru*

Белая жировая ткань является не только пассивным депо триацилглицеролов и источником субстрата энергетики – свободных жирных кислот, но и активным ауто-, пара- и эндокринным, а также иммунным органом, секретирующий в кровь большое число гормонов – адипокинов. Белые адипоциты участвуют в регуляции энергетического баланса, действуют на глюкозный, аминокислотный и липидный метаболизм, стероидный обмен, гемостаз, на ренин/ангиотензиновую систему всего организма. Полипептидный гормон инсулин является важным контролером гомеостаза энергии и регулятором процесса

входа глюкозы в клетку. Поддержание гомеостаза глюкозы осуществляется такими периферическими тканями как скелетные мышцы и адипоциты. Также, инсулин – это ключевой регулятор адипогенеза и липогенеза, выполняющий эту функцию за счет активации секреции ангиотензина II.

В данной работе на дифференцированных первичных клеточных культурах белых адипоцитов установлена причастность ключевых молекул, реализующих метаболические эффекты инсулина, к  $Ca^{2+}$ -сигнализации адипоцитов. В физиологических (нанолярных) концентрациях инсулин вызывает генерацию кальциевых осцилляций в белых адипоцитах.  $Ca^{2+}$ -осцилляции в невозбудимых клетках базируются на периодических выбросах кальция из внутриклеточных пулов и возврате этого иона в эти пулы. В качестве главного внутриклеточного  $Ca^{2+}$ -пула рассматривается эндоплазматический ретикулум, и его  $Ca^{2+}$ -каналы-рецепторы: рианодиновый (RyR) и инозитол-3-фосфат чувствительный (IP<sub>3</sub>R). Под действием ингибитора RyR рецепторов  $Ca^{2+}$ -осцилляции полностью устранялись, а под действием ингибитора IP<sub>3</sub> рецепторов  $Ca^{2+}$ -осцилляции были более кратковременными в 63% клеток, в 37% – ответы отсутствовали. Таким образом, в генерации  $Ca^{2+}$ -осцилляций в адипоцитах участвуют RyR- и IP<sub>3</sub>-каналы. Одновременные измерения  $[Ca^{2+}]_i$  и накопления NO в клеточной культуре показали, что одновременно с  $Ca^{2+}$  осцилляциями инсулин активирует синтез NO. Причем, ингибитор eNOS синтазы полностью подавлял как продукцию NO адипоцитами, так и  $Ca^{2+}$ -осцилляции. К подобному подавлению сигналов приводило ингибирование фосфоинозитид-3-киназы. Таким образом, инсулин, инициирующий утилизацию глюкозы в клетках, активирует  $Ca^{2+}$ -сигнальный путь культивируемых адипоцитов через цепочку  $PI3K \rightarrow eNOS \rightarrow NO \rightarrow RyR \rightarrow [Ca^{2+}]_i$  и  $IP_3R \rightarrow [Ca^{2+}]_i$ .

Работа поддержана стипендией Президента РФ СП-1057.2015.4.

### **МЕХАНИЗМЫ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ АСТРОЦИТОВ МОЗГА К ГИПОКСИИ**

**Туровский Е.А., Туровская М.В.**

ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

*m\_turovskaya@mail.ru*

У наземных млекопитающих центральная нервная система крайне чувствительна к уменьшению парциального давления кислорода ( $P_{O_2}$ ) и функциональность нейрональных сетей нарушается в период даже кратковременной гипоксии. Различия в уровне активности нейронов на гипоксию в зависимости от отдела мозга, указывают на неспособность периферических (артериальных) хеморецепторов контролировать изменения  $P_{O_2}$  в различных отделах ЦНС. Исходя из этого, мы предположили необходимость существования функционального сенсора кислорода в мозге.

Наши исследования показали, что астроциты (наиболее многочисленный тип глиальных клеток мозга) чувствительны к физиологическим изменениям  $P_{O_2}$ . Уменьшение  $P_{O_2}$  на несколько миллиметров ртутного столба ниже нормального уровня вызывает увеличение концентрации цитозольного кальция ( $[Ca^{2+}]_i$ ) в астроцитах. В астроцитах сенсор  $P_{O_2}$  находится в митохондриях, которые являются основным потребителем кислорода. Физиологическое снижение  $P_{O_2}$  подавляет дыхание митохондрий астроглии, что приводит к их деполяризации, продукции свободных радикалов, окислению липидов, активации фосфолипазы C, IP<sub>3</sub>R и мобилизации  $Ca^{2+}$  из внутриклеточного депо. Вызванное гипоксией увеличение  $[Ca^{2+}]_i$  активирует слияние АТФ-содержащих везикул с плазматической мембраной и секрецию АТФ астроцитами. Подавление сигнализации астроцитов ствола мозга *in vivo* с помощью добавления разрушающих АТФ соединений или специфической экспрессии Tetanus toxin, подавляющего экзоцитоз нейротрансмиттеров, вызывает увеличение ритма дыхания в условиях гипоксии даже при подавлении периферических хеморецепторов.

Таким образом, наши результаты показывают, что астроциты являются функционально специализированными клетками-сенсорами и служат для быстрого определения физиологических изменений уровня кислорода в центральной нервной системе.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№ 16-34-00159 -а) и стипендии Президента РФ (SP-1057.2015.4).

### **ТРАНСГЕНЕРАЦИОННЫЕ НАРУШЕНИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ *DAPHNIA* *MAGNA* ПОСЛЕ НИЗКОДОЗОВОГО $\gamma$ -ОБЛУЧЕНИЯ В МАЛЫХ ДОЗАХ**

**Ускалова Д.В., Савина Н.Б., Сарапульцева Е.И.**

ФГБОУ ВПО Национальный исследовательский ядерный университет МИФИ (Обнинский институт атомной энергетики), Обнинск, Россия

*uskalovad@mail.ru*

Впервые в исследовании трансгенерационных механизмов низкодозового радиационного воздействия на ракообразных *Daphnia magna* использован МТТ-тест, традиционно применяемый *in vitro* для тестирования лекарственных препаратов на цитотоксичность. Метод основан на способности дегидрогеназ

активно пролиферирующих клеток восстанавливать неокрашенные формы 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразола (МТТ) до голубого фармазана. Показатель суммирует активность митохондриальных дегидрогеназ, в первую очередь сукцинатдегидрогеназы и других оксидаз, которые катализируют свободнорадикальные процессы в дыхательной цепи с образованием короткоживущего супероксид-анион радикала, а также широкого спектра долгоживущих активных форм кислорода, вызывающих окислительный стресс.

В модельных экспериментах 1-суточных рачков *D. magna* облучали  $\gamma$ -квантами в дозах 10, 100 и 1000 мГр (мощность дозы 2,8 – 96 сГр/мин). Дафний первого и второго пострадиационных поколений не облучали. МТТ-анализ проводили в образцах, содержащих по 50 особей из каждой контрольной и дозовой группы, в нескольких независимых сериях экспериментов. Результаты обработаны в программе STATISTICA. Значимость отличия от контроля оценена тестом Манна-Уитни.

Обнаружено, что  $\gamma$ -излучение в дозах 100 и 1000 мГр ( $LD_{50/30} = 50$  Гр) вызывает токсический эффект у непосредственно облученных ракообразных. Эффект сохраняется в первом поколении и нивелируется во втором пострадиационном поколении. Выявленный МТТ-тестом токсический эффект радиации коррелирует с радиационно-индуцированным снижением выживаемости, продолжительности жизни и плодовитости *Daphnia* в трех поколениях.

Сделан вывод, что одним из механизмов формирования отдаленных негативных последствий  $\gamma$ -облучения *D. magna* является изменение метаболических путей, связанных с нарушением активности митохондриальных дегидрогеназ, направленных на детоксикацию индуцированного радиацией повышенного уровня свободных радикалов у непосредственно облученных особей и их потомства первого необлученного поколения. Во втором поколении происходит нивелирование токсического эффекта радиации и восстановление жизнеспособности *D. magna*.

## ГИБРИДНЫЕ КВАНТОВО-МЕХАНИЧЕСКИЕ/МОЛЕКУЛЯРНО-ДИНАМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ФОТОСИСТЕМЫ II

**Фатхуллин Б.Ф., Габдулхаков А.Г.**  
ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия

*morgenstern100@mail.ru*

Исследуемый объект – фотосистема II, является едва ли не самым основным источником кислорода на Земле. Именно поэтому, он привлекает к себе внимание исследователей на протяжении последних лет. Основную роль в процессе, результатом которого является выделение кислорода, как побочного продукта, играет неорганическое соединение  $Mn_4CaO_5$  – марганцевый кластер. Понимание принципа работы фотосистемы II, и марганцевого кластера в частности, имеет фундаментальное и практическое значения. В данной работе, в качестве инструмента исследования, используется компьютерное моделирование, а в качестве метода – молекулярная динамика. Данный метод позволяет визуализировать модель работы такого сложного объекта, как фотосистема II.

В основу проводимых молекулярно-динамических исследований положена структура из PDB банка фотосистемы II (код: 3ARC), полученная методом рентгеноструктурного анализа. На данном этапе созданы топологии всех лигандов, включая марганцевый кластер, с использованием силового поля AMBER99. Моделирование проводится в программном пакете NWChem. Применяется гибридный подход к расчетам: квантовая механика / молекулярная механика (QM/MM), методом теории функционала плотности (DFT). В качестве квантово-механической области выбран активный центр фотосистемы II: марганцевый кластер и аминокислотные остатки непосредственно его связывающие. Моделирование проводится в водном окружении на временном промежутке в 20 пс.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы “Молекулярная и клеточная биология” Президиума РАН и Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 15-04-03041а).

## ФОТОПОВРЕЖДЕНИЕ КЛЕТОК ГЛАЗА

**Фахранурова Л.И., Храмов Р.Н.**

ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия

*LFakhranurova@gmail.com*

Нарушение функций клеток глаза в результате излучения неионизирующими электромагнитными спектром оптического диапазона возникает как под влиянием прямого и отраженного солнечного света, так и в результате воздействия созданных человеком светотехнических устройств, причем вызываемые последними повреждения по мере развития технического прогресса выдвигаются на первый план и приобретают все большее значение. Известно, что при длительном воздействии света на сетчатку формируются АФК, нарушающие процессы жизнедеятельности в клетках сетчатки, что приводит к их

гибели и потере зрения. Работы последнего времени показали, что фотоповреждение может приводить к дегенерации клеточных элементов сетчатки, в первую очередь ее рецепторов и клеток пигментного эпителия. Нами было исследовано влияние света в синей ( $\lambda_{\max}=470$  нм), фиолетовой части спектра ( $\lambda_{\max}=395$  нм), красной ( $\lambda_{\max}=625$  нм) и видимого света большой интенсивности на жизнеспособность клеток линии SIRC (роговицы кролика) и ARPE19 (пигментный эпителий сетчатки человека). Для исследования жизнеспособности был применен МТТ тест, показатели конфлюентности клеток и тест жив-мертв.

Облучение в разных участках спектра вызывало явное угнетение жизнеспособности клеток. В то время, как облучение красным светом не приводило к снижению показателей функционирования клеток, длительное высокоинтенсивное световое воздействие вызывало наиболее тяжелые последствия. Таким образом, мы показали, что фотоповреждение может приводить к дегенерации клеток.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ (14-44-0367214).

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ LASTZ ДЛЯ ПОИСКА КЛТ-ДНК В ГЕНОМАХ NICOTIANA

Хафизова Г.В., Добрынин П.В., Матвеева Т.В.

ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

galina.khafizova@gmail.com

Известно, что геномы некоторых растений содержат в себе последовательности, приобретенные путем горизонтального переноса от агробактерий. В геномах агробактерий (*A. tumefaciens*, *A. vitis*, *A. rhizogenes*) эти последовательности – Т-ДНК – находятся на Ti, либо на Ri плазмиде, и в ходе бактериальной инфекции переносятся в геном растения. В 1983 году White обнаружил в геноме растения *Nicotiana glauca*, не подвергавшегося инфекции, последовательность, гомологичную Т-ДНК. Позже подобные последовательности, названные клТ-ДНК (клеточная Т-ДНК), были найдены и у других представителей рода *Nicotiana*.

Показано, что вставка клТ-ДНК может представлять собой инвертированный повтор, и может включать в себя гены, полученные от разных штаммов агробактерий. У исследованных видов вставки различаются по длине, по составу генов, и по сайту локализации в растительном геноме, что осложняет их изучение. Задача данной работы – с помощью метода полногеномного выравнивания определить состав и копийность вставок клТ-ДНК в геномах видов *N. tabacum* (сорта K326, TN90) и *N. tomentosiformis*, являющегося одним из предковых видов для *N. tabacum*. Для выравнивания использовалась программа LASTZ. По результатам выравнивания последовательности плазмиды pRi1724 *A. rhizogenes* на геномы *N. tabacum* и *N. tomentosiformis* можно сказать, что состав вставок клТ-ДНК в этих видах схож, однако есть следующие различия: копийность генов RolA, RolB, Orf13 в геноме *N. tabacum* в 3 раза ниже, чем в геноме *N. tomentosiformis*, что согласуется с имеющимися данными (Chen et al., 2014). В ходе анализа в геноме *N. tomentosiformis* были обнаружены новые, ранее не показанные последовательности агробактериального происхождения Orf11 и Orf12, которых нет в геноме *N. tabacum*. Для генома *N. tabacum* мы обнаружили различия в копийности гена *mis* (ген микимопинсинтазы) между сортами - в геноме сорта TN90 копий гена в 2 раза меньше, чем в геноме сорта K326. Также мы выравнивали последовательность плазмиды pRi1724 на геном *N. sylvestris*, являющийся вторым предковым видом для *N. tabacum*. Последовательностей, гомологичных агробактериальным, выравнивание не выявило, что согласуется с имеющимися данными о том, что в геноме *N. sylvestris* клТ-ДНК отсутствует (Furner, 1986).

Таким образом, результаты исследования показывают, что применение алгоритма полногеномного выравнивания с использованием программы LASTZ позволяет получить больше информации и более точно оценить гомологичные последовательности по сравнению с методами локального выравнивания, основанными на использовании BLAST, что важно при изучении горизонтального переноса генов.

## НЕБИСЛОЙНЫЕ КОМПОНЕНТЫ МЕМБРАНЫ КЛЕТКИ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ИЗГИБНУЮ ЖЕСТКОСТЬ

Чекашкина К.В.<sup>1,2</sup>, Кузьмин П.И.<sup>1</sup>, Фролов В.А.<sup>3,4</sup>, Башкиров П.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт физической химии и электрохимии имени А.Н. Фрумкина РАН, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины ФМБА России,

Москва, Россия; <sup>3</sup>Biophysics Unit (CSIC, UPV/EHU) and Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of The Basque Country, Leioa, Spain; <sup>4</sup>ZIKERBASQUE, Basque Foundation for Science, Bilbao, Spain

ksenia.chekashkina@gmail.com

Липидный бислой, являющийся основой клеточной мембраны, обладает изгибной жесткостью, которая характеризуется его модулем изгиба. Деформация гомогенного однокомпонентного липидного бислоя приводит к деформации образующих его липидных молекул. Поэтому именно упругость молекул липида будет определять значение модуля изгиба такой мембраны. Для многокомпонентных мембран при наличии в их составе молекул липида с различной молекулярной геометрией (спонтанной кривизной)

изгибная деформация может дополнительно приводить к перераспределению этих компонентов в соответствии с их предпочтениями к геометрической кривизне.

В данной работе мы показали, что такое перераспределение липидов вносит дополнительный энтропийный отрицательный вклад в энергию деформации, что отражается в уменьшении эффективного модуля изгиба мембраны. Нами показано, что для физиологически значимого липидного состава энтропийный вклад может быть сравним с упругой составляющей. Кроме того, мы обнаружили, что перераспределение различных компонентов мембраны взаимосвязано - липиды, обладающие противоположной геометрией, взаимно усиливают эффект, оказываемый на модуль изгиба мембраны, и таким образом могут являться мощным средством регуляции изгибной жесткости мембраны.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 14-04-01780) и РНФ (грант № 15-14-00060).

### **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ И МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ТРАНСПОРТА КИСЛОРОДА ЧЕРЕЗ ПОВЕРХНОСТЬ ИЗОЛИРОВАННОЙ ПЕРФУЗИРУЕМОЙ ПЕЧЕНИ КРЫСЫ**

**Шадрин К.В.**<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГУН Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН, Красноярск, Россия; <sup>2</sup>ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф.Войно-Ясенецкого МЗ РФ, Красноярск, Россия

*kvsh\_buffon@mail.ru*

Доставка кислорода к клеткам изолированной перфузируемой печени может осуществляться как через сосудистое русло, так и через ее поверхность. Однако закономерности и возможные механизмы транспорта кислорода через поверхность не ясны. Целью исследования явилось определение особенностей транспорта кислорода через поверхность изолированной перфузируемой печени крысы.

Эксперименты проводили на изолированной перфузируемой печени крыс-самцов Wistar массой 200-250 г. После выделения печень помещали в герметичную камеру, где проводили нормотермическую перфузию. В воздушную среду камеры подавали газовую смесь O<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub> (95%:5%). Проведено две серии экспериментов с различной оксигенацией перфузионной среды: 1) O<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub> (95%:5%) - контроль; 2) O<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>-N<sub>2</sub> (14%:5%:81%).

В ходе экспериментов определяли удельные скорости потребления кислорода через кровяное русло и через поверхность, удельную скорость выделения углекислого газа в кровяное русло, удельные скорости потребления глюкозы, выделения лактата и мочевины. Эти параметры использовали в качестве ограничений при построении стехиометрической модели метаболизма печени с использованием метода Flux Balance Analysis.

Получено, что в контроле удельная скорость потребления кислорода через сосудистое русло стабильна на протяжении всей перфузии и составляет примерно 2.5 мкмоль•мин<sup>-1</sup>•г<sup>-1</sup>, а при снижении парциального давления кислорода в перфузионной среде снижена относительно контрольных значений в 2.5 раза. Удельная скорость потребления кислорода через поверхность в контроле равна 2 мкмоль•мин<sup>-1</sup>•г<sup>-1</sup>. В группе 2 до 20-й минуты перфузии она неотличима от контроля, но далее снижается и стабилизируется на значениях в 0.5 мкмоль•мин<sup>-1</sup>•г<sup>-1</sup>.

Предположили, что транспорт кислорода через поверхность печени может быть связан с затратами энергии, поскольку при снижении парциального давления кислорода в перфузионной среде скорость потребления кислорода через поверхность не увеличивалась относительно контрольных значений, что имело бы место при обыкновенной диффузии.

Стехиометрическое моделирование показало, что для поддержания транспорта кислорода через поверхность изолированной перфузируемой печени в условиях нормальной оксигенации перфузионной среды необходимо 2 молекулы АТФ, а при сниженной оксигенации перфузионной среды – 7.

Таким образом, на транспорт кислорода через поверхность изолированной перфузируемой печени влияет недостаток кислорода в перфузионной среде. При этом такой транспорт является не пассивным транспортом путем обыкновенной диффузии, а процессом, требующим затрат энергии.

### **ВЛИЯНИЕ ТРИКЛОЗАНА НА ПРОНИЦАЕМОСТЬ МЕМБРАН МИТОХОНДРИЙ И ЛИПОСОМ**

**Шарапов В.А.**<sup>1,2</sup>, **Дубинин М.В.**<sup>1</sup>, **Белослудцев К.Н.**<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Марийский государственный университет, Йошкар-Ола, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия

*slav.sharapov@yandex.ru*

Триклозан (5-хлор-2-(2,4-дихлорфенокси) фенол) является противомикробным препаратом широкого спектра, который содержится в большом количестве товаров бытового назначения. Механизм действия триклозана изучен достаточно хорошо. Считается, что он ингибирует бактериальный фермент

еноил-ацил редуктазу, что приводит к блокировке синтеза жирных кислот с последующим повреждением синтеза клеточных мембран бактерий. Несмотря на специфическое действие триклозана на бактериальные клетки, в последнее время стали накапливаться данные о его токсическом действии на эукариотические организмы. Так показано, что он индуцирует развитие окислительного стресса и стимулирует запуск программы апоптоза. Известно, что в основе апоптотической гибели клеток лежит выброс цитохрома *c* из митохондрий вследствие открытия митохондриальных пор.

Цель настоящей работы заключалась в том, чтобы оценить способность триклозана индуцировать премеабиллизацию липидных мембран. В работе установлено, что триклозан дозо-зависимо (2.5-20 мкг/мл) индуцировал набухание митохондрий печени крыс, нечувствительное к ингибитору митохондриальной МРТ поры циклоспорину А. В этом же диапазоне концентраций триклозан индуцировал выброс флуоресцентного красителя сульфородамина В из однослойных лецитиновых липосом. Интенсивность триклозан-чувствительного выхода красителя из липосом зависит от pH среды инкубации – при увеличении значения pH среды инкубации с 6.5 до 9.5 эффективность триклозана снижалась.

Показано, что триклозан не вызывает изменения размера липосом. Предположено, что в основе этих эффектов триклозана лежит образование липидных пор в биологических и искусственных мембранах.

Работа поддержана грантами РФФИ 15-04-03081-а и РФФ 16-15-00157.

### **ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ И НАНОЧАСТИЦ В ОТНОШЕНИИ *PARAMECIUM CAUDATUM* С ПОМОЩЬЮ УЛУЧШЕННОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ**

**Шевцова Ю.А., Свиридова И.А.**

ФГАОУ ВО Волгоградский государственный университет, Волгоград, Россия

*milliner2013@yandex.ru*

Различные гидробионты и почвенные эукариотические организмы широко используются в оценке экологической безопасности различных химических продуктов и материалов, которые могут поступать в окружающую среду в результате деятельности человека. Одним из широко используемых объектов являются инфузории *Paramecium caudatum*. Основными проблемами использования инфузорий являются сложности стандартизации метода и сложности в сравнении результатов тестирования по различными протоколам. Целью работы была разработка рабочего протокола теста на экотоксичность, доступного для рутинного использования практически в любой лаборатории и характеризующегося низкими трудоемкостью и стоимостью анализа в сочетании с улучшенной воспроизводимостью и робастностью.

В ходе работы был разработан и оптимизирован рабочий протокол, позволяющий оценивать токсичность химических соединений и материалов по отношению к *P. caudatum*. Анализ применим практически к любым химическим соединениям (органические и неорганические вещества, гидрофильные и липофильные соединения), а также к наночастицам. Метод отличается низкой стоимостью, не требует каких-либо специальных или дорогостоящих приборов и инструментов и может быть воспроизведен в любой минимально оборудованной лаборатории. Для оценки токсического воздействия использовали два различных показателя: подвижность инфузорий и их гибель. Анализ может быть адаптирован для оценки как острого, так и хронического (до нескольких суток) воздействия проверяемых соединений/наночастиц.

Разработанный протокол был апробирован с использованием различных химических соединений и металло-содержащих наночастиц. В частности, был проведен сравнительный анализ токсичности  $Ag^+$  (в форме нитрата) и серебряных наночастиц (AgNPs), полученных различными способами. Показано, что AgNP обладают более слабой токсичностью, чем раствор нитрата серебра. В то же время, эффекты AgNP на подвижность и выживаемость инфузорий существенно отличаются в зависимости от использованного для их получения восстановителя, от соотношения концентраций восстановителя и  $Ag^+$  и от размера частиц после фракционирования.

В результате работы разработан рабочий протокол доступного и недорогого теста на экотоксичность с использованием инфузорий и проверена его применимость на широком спектре вероятных токсикантов.

### **ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА КРЕМНИЯ С ЛИПИДНЫМ БИСЛОЕМ, ПРИВОДЯЩЕЕ К РАЗРУШЕНИЮ ИЛИ СТАБИЛИЗАЦИИ ЛИПИДНЫХ ВЕЗИКУЛ**

**Шибяев А.В.<sup>1</sup>, Швец П.В.<sup>2</sup>, Филиппова О.Е.<sup>1</sup>, Хохлов А.Р.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГАОУ ВПО Балтийский федеральный университет им. И.Канта, Калининград, Россия

*shibaev@polly.phys.msu.ru*

Исследование взаимодействия наноматериалов с липидными мембранами клеток и липосом вызывает все больший интерес. Например, наночастицы находят широкое применение в строительстве, производстве косметики, пищевой промышленности и т.д., однако их возможное влияние на клеточные



мембраны и метаболические пути в организме остаются слабо изученными. В частности, до настоящего момента не выявлены многие закономерности процесса проникновения наночастиц сквозь липидный бислой, а также факторы, определяющие механизм проникновения. При этом липосомы являются удобной моделью для изучения взаимодействия наночастиц с липидными мембранами. Поэтому целью настоящей работы является изучение ассоциации наночастиц диоксида кремния с моноламелярными липосомами фосфатидилхолина.

Методами электронной микроскопии и динамического светорассеяния было показано, что характер взаимодействия наночастиц с липосомами сильно зависит от количества наночастиц, приходящихся на одну липосому. При малых количествах наночастиц происходит их проникновение внутрь липосом путем эндоцитоза. При этом наночастицы оказываются «обернутыми» липидным бислоем. При увеличении количества наночастиц происходит разрушение липосом, поскольку весь бислой расходуется на покрытие липосом. Однако при еще больших концентрациях наночастиц наблюдается стабилизация липосом без разрушения липидного бислоя. Это происходит вследствие адсорбции большого количества наночастиц на поверхности липосомы, препятствующей искривлению бислоя и началу эндоцитоза, а также вызывающей сильное электростатическое отталкивание между липосомами, препятствующее их слиянию.

Ассоциация наночастиц с липидным бислоем была изучена при помощи компьютерного моделирования методом броуновской динамики частиц, и было показано, что характерное время диффузии наночастицы в растворе существенно больше, чем время, которое наночастица проводит вблизи липосомы, но значительно меньше, чем время ассоциации, то есть вероятность ассоциации за одно столкновение наночастицы с липосомой мала. Этот факт был объяснен наличием силы отталкивания между липосомой и наночастицей на относительно небольших расстояниях (~ 2-10 нм), сменяющейся силой притяжения на малых расстояниях, обусловленной адгезией липидного бислоя к наночастице.

Работа выполнена при поддержке Совета по грантам Президента РФ (стипендия СП-4910.2015.4).

#### **IN SILICO ИССЛЕДОВАНИЕ СВЯЗЫВАНИЯ АЛЬБУМИНОМ ДВУХОСНОВНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ НА ПРИМЕРЕ $\alpha,\omega$ -ГЕКСАДЕКАНДИОВОЙ КИСЛОТЫ**

**Щербаков К.А.<sup>1</sup>, Кондратьев М.С.<sup>2</sup>, Майоров С.А.<sup>3</sup>, Дубинин М.В.<sup>1</sup>, Самарцев В.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Марийский государственный университет, Йошкар-Ола, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия; <sup>3</sup>ГОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия

*Kirill.Soff@gmail.com*

Неразветвлённые двухосновные жирные кислоты являются известными метаболитами в организме человека и животных. Однако, при ряде патологий, например синдроме Рея, в сыворотке крови и тканевой жидкости многократно повышается уровень свободных жирных кислот (ЖК), до 55% от их общего количества составляют  $\alpha,\omega$ -диовые кислоты. Одним из главных белков, связывающих как одно-, так и двухосновные ЖК является сывороточный альбумин. При помощи процедуры молекулярного докинга нами были описаны сайты связывания  $\alpha,\omega$ -гексадекандиовой кислоты в альбумине. Для этого использовалась структура человеческого сывороточного альбумина 1E7H.pdb взятая из Protein Data Bank.

Вычисления производились в пакете Vina Autodock. Всего было найдено 6 сайтов связывания для двухосновных ЖК. Их анализ показал, что основную роль в связывании лигандов играют гидрофобные контакты между ацильными цепями ЖК и боковыми радикалами остатков гидрофобных аминокислот. Контакты же между карбоксильными группами ЖК и полярными и заряженными группами аминокислот выполняют лишь вспомогательную функцию. Подобная картина наблюдается и для одноосновных ЖК. Более того, сайты связывания обоих классов веществ пространственно располагаются в одних и тех же местах белковой молекулы. На основании этих данных можно заключить, что, вероятно, механизмы связывания альбумином, как одно-, так и двухосновных ЖК аналогичны.

В данный момент нами посредством молекулярной динамики (NAMD 2.10, CHARMM) проводится исследование конформационных изменений альбумина по мере последовательного заполнения обнаруженных нами сайтов молекулами двухосновных ЖК. Также выявляются значения микроскопических констант связывания с молекулой  $\alpha,\omega$ -гексадекандиовой кислоты для каждого конкретного сайта. Данная работа позволит пролить свет на общую аффинность сывороточного альбумина к двухосновным жирным кислотам.

## РАЗРАБОТКА МАТЕМАТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ КРОВОПОТЕРИ НА ОСНОВЕ ТЕСТА ТРОМБОДИНАМИКИ И ЕЕ ВАЛИДАЦИЯ ПО ХВОСТОВОМУ И НОГТЕВОМУ КРОВОТЕЧЕНИЮ У МЫШЕЙ

Якушева А.А.<sup>1</sup>, Пантелеев М.А.<sup>1,2</sup>, Колядко В.Н.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО МГУ им. М.В.Ломоносова, Физический факультет Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва, Россия

aa.yakusheva@physics.msu.ru

Лабораторная диагностика гемостаза крайне важна для правильного подбора терапии, однако диагностические методы часто страдают от низкой чувствительности и специфичности. Существующие скрининговые тесты не отражают процессы свертывания, происходящие в организме при поранении.

Цель данной работы состояла в оценке возможности предсказать тяжесть кровотечения у мышей *in vivo* по параметрам теста тромбодинамики в плазме мышей *ex vivo*.

1) Исследовались 2 типа кровотечения у мышей самцов C57BL/6, питомник г. Пушкино: а) Хвостовое кровотечение у 7 нормальных и 16 мышей с индуцированной гемофилией А (после отрезания кончика хвоста определяли общую кровопотерю за 15 минут); б) Ногтевое кровотечение у 3 нормальных мышей (оголяли ногтевое ложе на пальце задней лапы и ежеминутно измеряли кровопотерю до полной остановки). Объем крови определяли фотометрически. 2) Для исследования тромбодинамики производили забор крови из открытого сердца мыши и получали плазму без тромбоцитов, в которую добавляли ингибитор контактной активации, фосфолипидные везикулы и кальций. Рост сгустка активировали в кювете вставкой с тканевым фактором. На основе данных рассчитывались численные параметры пространственно-временной динамики роста сгустка.

Время остановки ногтевого кровотечения составляло 4 (3; 8) мин – медиана (25-я, 75-я процентиля), общая кровопотеря – 31,2 (8,5; 213,2) мкл. Время остановки хвостового кровотечения у нормальных мышей, против мышей с индуцированной гемофилией А, составляла 7 (3; 12) мин, против 12 (9, 14) мин; а общая кровопотеря – 5,3 (4,5; 11,3) мкл, против 43 (7,5 166) мкл. Увеличение тяжести кровотечения было отражено в показаниях теста тромбодинамики: размер сгустка на 30-й минуте составлял 906 (899; 1014) мкм у нормальных мышей, против 423 (388; 530) мкм у мышей с индуцированной гемофилией А. Стационарная скорость роста сгустка в плазме нормальных мышей: 20,1 (19,5; 22,6) мкм/мин была выше, чем в плазме мышей с гемофилией: 6 (4;10) мкм/мин. Уровень значимости  $p$  по критерию Манна-Уитни был менее 0,01. Увеличение длительности и скорости кровопотери при гемофилии А было описано моделью истечения крови из порванного сосуда, просвет которого уменьшается за счет роста сгустка фибрина. Такая модель описывала динамику кровотечения (корреляция с экспериментом  $r^2$  составила более 0,9).

Результатом работы является разработка метода ногтевого кровотечения, и математическая модель для предсказания тяжести кровотечения у мышей при нарушении гемостаза.

## **СЕКЦИЯ «МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ»**

### **A NEW RAPID VERSION OF COMET ASSAY FOR DETECTING FREE-RADICAL PATHOLOGIES**

**Chernigina I.A., Shcherbatyuk T.G.**

FSBEI HPE Nizhny Novgorod State Medical Academy, Nizhny Novgorod, Russian Federation

*ozone\_stg@mail.ru*

The free-radical pathologies (FRP), including cardiovascular diseases, diabetes and cancer, were the leading causes of population mortality in 2015 according to the WHO data. The grade of DNA damage in individual cells by measuring the diffusion of the tail of a comet (known as Comet assay) can be used as FRP indicator. At present the main bottleneck for wide application of this method in clinical study is the use of hi-tech equipment utilizing gamma radiation.

The use of ozone with concentration 200 to 1000  $\mu\text{g/l}$  in ozone-oxygen mixture presented in the paper is an alternative to gamma radiation. The level of the diffusion of the tails of a comets were about  $12.4 \pm 0.8\%$  when exposed to ozone at a concentration of 900  $\mu\text{g/l}$  for 10 minutes. It is comparable to the exposition to Co-60 gamma radiation at a dose of 3 Gy ( $12.1 \pm 0.8\%$ ). This fact makes this method the rapid tool for detection of activity of free-radical processes and, consequently, free-radical pathologies. It was also found in the experiment with rats carrying a tumor strain of cholangioma PC1 that the level of the diffusion of the tails of a comets of blood cells is  $3.7 \pm 0.3\%$  at early stage of tumor growth and  $11.8 \pm 1.3\%$  at a late stage.

Thereby we developed a new version of Comet assay for creating DNA damage and repair allowing its wide implementation in screening programs to detect risk groups with FRP. Rapid procedure and simplified requirements to the equipment and personnel allow using this method in personalized medicine.

### **CREATING MODEL SYSTEMS FOR TESTING THE BIOACTIVITY OF TYPE I AND II IFNS**

**Konyaeva E.P.<sup>1,2</sup>, Kulikova K.V.<sup>1,2,3</sup>, Gnuchev N.V.<sup>3</sup>, Georgiev G.P.<sup>3</sup>, Larin S.S.<sup>1,2,3</sup>**

<sup>1</sup>FSBEI HPE Moscow Institute of Physics and Technology (State University); <sup>2</sup>Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology name of Dmitry Rogachev, The Ministry of Health of the Russian Federation; <sup>3</sup>FSBIS Institute of Gene Biology RAS, Moscow, Russian Federation

*konyaeva@phystech.edu*

Interferons (IFNs) are crucial for the control of immune response. They belong to a group of signaling molecules. All IFNs have been classified into three groups: I, II and III types. IFN- $\gamma$  is IFN type II, which activates STAT-signaling pathway (Signal Transducer and Activator of Transcription) in the cell. The recruitment of IFN- $\gamma$  to its receptor causes phosphorylation of transcriptional factor STAT-1. Activated STAT-1 forms homodimers, which translocate to the nucleus and bind to GAS (Interferon Gamma Activated Site) sequences. IFN- $\alpha$  or IFN- $\beta$  (IFNs type I) binding to its receptors leads to phosphorylation of STAT-1 and STAT-2. STAT-1/2-heterodimers enter the nucleus and bind to ISRE (Interferon-Stimulated Response Element) sequences. Thus, IFN- $\gamma$  activates GAS-dependent genes and IFN- $\alpha$ /IFN- $\beta$  activates ISRE-dependent genes.

Currently, the major way to determine the bioactivity of the IFNs is to measure the interferon-induced inhibition of the viral cytopathic effect on indicator cells. The assay is quite complicated and requires special precautions. Therefore, there is a necessity to develop new approaches for determination of the bioactivity of the IFNs. The one possibility is to create a model system based on the ability of IFNs to activate STAT-signaling pathways.

To define the IFNs bioactivity two different model systems were established. The first model system is represented by a stable cell line with genome integrated GAS-reporter cassette. This reporter cassette includes six tandem repeats of GAS-element, minimal promoter and firefly luciferase gene (FFly). It allows to detect activity of IFN- $\gamma$ /STAT-1 signaling pathway. The second model system is designed for monitoring of activity of IFN- $\alpha$ (IFN- $\beta$ )/STAT-signaling pathway. It's a stable cell line with genome integrated reporter cassette consisting of a luciferase gene under control of ISRE-containing promoter.

For the both reporter systems the detectable IFNs concentration range was determined. Applicability of the model systems in the IFN antibodies testing was also demonstrated.

## DETECTION OF THE EGFR T790M MUTATION IN LUNG CANCER SAMPLES FROM RUSSIAN PATIENTS USING HIGHLY SENSITIVE PNA-MEDIATED REAL-TIME PCR CLAMPING TECHNOLOGY

Lavdovskaia E.<sup>1,2</sup>, Iyevleva A.<sup>2,3</sup>, Mitushkina N.<sup>2</sup>, Raskin G.<sup>4</sup>, Zaitcev I.<sup>5</sup>, Korzhenevskaya M.<sup>1</sup>, Imyaninov E.<sup>2,3</sup>  
<sup>1</sup>FSBEI HPE I.P. Pavlov First Saint Petersburg State University; <sup>2</sup>FSBI N.N. Petrov Institute of Oncology; <sup>3</sup> FSBEI HPE Saint Petersburg State Pediatric Medical University; <sup>4</sup>FSBI Russian Research Centre of Radiology and Surgical Technologies; <sup>5</sup> FSBEI HPE Saint Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology, Saint Petersburg, Russian Federation

*lavdovskaia@gmail.com*

Nowadays lung cancer (LC) is considered to be one of the most common malignancies worldwide. Nearly 40% of LC are adenocarcinomas, which are often associated with constitutive activation of the epidermal growth factor receptor (EGFR). EGFR activation may occur due to mutations in the *EGFR* gene. These mutations are important therapeutic targets for the personalized cancer treatment with tyrosine kinase inhibitors (TKIs). Despite tremendous progress in LC treatment achieved by introduction of TKIs, acquired resistance caused by the *T790M* mutation in *EGFR* exon 20 still represents one of the most significant challenges for cancer therapy.

However, the actual frequency of the *T790M* mutation remains to be investigated. For instance, the results of some studies that utilized highly selective methods of mutation detection suggest that more than a half of treatment-naïve LC may contain rare preexisting *T790M*-positive clones. Given that the *T790M* presence in tumor cells correlates with unfavorable prognosis for the patient during TKIs treatment, it is highly desirable to perform a systematic analysis of the *T790M* distribution in distinct patient categories, including Russian sample series.

We have estimated *EGFR T790M* frequency in LC formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) pre-treatment samples obtained from Russian patients with the use of highly sensitive PNA-mediated real-time PCR clamping technology. This method is based on selective suppression of PCR amplification of wild-type *EGFR* allele.

The analyzed collection contained 32 LC cases, each of the tumors was microdissected from one or more separate areas. All extracts were tested with and without PNA, amplification with PNA was done in duplicate, therefore, where possible, each sample was analyzed in quadruplicate. Our assay was previously estimated to detect 0.02% of mutant DNA. One of the 32 tumors was clearly positive for the mutation, one showed mutation-positive curves in half of replicates with PNA and therefore may contain low fraction of mutant DNA (approximately 1%) and other samples were considered wild-type.

Thus using highly sensitive PNA-mediated real-time PCR clamping technology we have shown that *T790M* was present in 6.25% of the pre-treatment LC samples. It should be noted that routine diagnostic technique (allele-specific PCR) considered these samples to be wild type for *T790M* mutation. While it is recognized that *T790M* determines resistance to *EGFR* TKIs it remains quite important to choose an appropriate diagnostic assay for the purpose of adequate cancer treatment selection.

## DEVELOPMENT OF NAM POPULATION IN COTTON FOR ANALYSIS AGRONOMICALLY IMPORTANT TRAITS

Turaev O., Kushanov F., Makamov A., Darmanov M., Tulanov A., Husenov N., Norbekov J., Buriev Z.,  
Abdurakhmanov I.

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

*ozod.turaev@genomics.uz*

In this paper, implied developing nested association mapping population (NAM) in cotton aim to investigate agronomical important traits.

The NAM design simultaneously exploits the advantages of both linkage analysis and association mapping. The NAM aims to produce an integrated mapping population specifically designed for a full genome scan with a high power for quantitative trait loci (QTL) with effects of different sizes. The NAM populations have been served to identify more QTLs in major crops such as maize, rice and soybean.

We developed the first cotton nested association mapping (NAM) population, by crossing of 19 diverse cotton varieties from cotton germplasm with one elite cotton cultivar Namangan77. In previous season, F<sub>4</sub> plants of all combinations were grown and self-pollinated to produce F<sub>5</sub> plants. Self-pollinated seeds from each 19 combinations of F<sub>4,5</sub> generations that were harvested from 2015 planting season would be sown in 2016 via SSD (Single Seed Descent) to receive RILs. Each population from 19 cotton NAM population includes approximately 200 lines which generated a total of 3466 RILs. Till now, parent lines were tested using approximately 500 SSR markers to identify polymorphic markers between these parent lines. First analyses of researches show that at least 10 % markers are highly polymorphic between Namangan77 and all of 19 diverse parental lines. Nowadays, we are doing PCR screening on the RILs with polymorphic primers between parental lines. In addition, every year we analyze fiber traits which include micronaire, strength, length and elongation. We also evaluate phenotypic traits

such as plants height, boll forms and numbers, branch types and branch forms, height of sympodia and monopodia of all genotypes. These data can be useful for nested association mapping.

In the future, these NAM developed populations with mosaic behaviors will be a resource for mapping QTLs controlling more traits including yield, maturity, drought tolerance, and disease resistance along with other economically important traits.

### THE EFFECTS OF GALECTIN-1 ON THE GENE EXPRESSION OF CD4<sup>+</sup> T LYMPHOCYTE DIFFERENTIATION TRANSCRIPTION FACTORS

Vasilyeva O.A.

FSBEI HPE Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

Vasiljeva-24@yandex.ru

Galectin-1 belongs to a family of endogenous b-galactosebinding proteins, and has a broad tissue distribution. In the immune system, it can be produced by thymic stromal cells, monocytes, macrophages, dendritic cells, mast cells and activated B and T cells. CD4<sup>+</sup> T cells orchestrate the immune response by differentiating into T helper (Th) or regulatory (Treg) cell subsets that secrete distinct sets of cytokines. They also play a critical role in the pathogenesis of autoimmunity, asthma, allergy and, likely, cancer. The mechanisms involved in the regulation of CD4<sup>+</sup> T cell homeostasis by galectin-1 remain poorly characterized. To investigate whether galectin-1 modulates the differentiation of CD4<sup>+</sup> T cells, the effects of galectin-1 on the mRNA expression levels of TBX21, GATA-3, FOXP3 and RORC in activated peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were examined. PBMC were obtained from the blood of ten healthy donors and isolated by centrifugation over a Ficoll–Hypaque gradient. Isolated PBMC (2x10<sup>6</sup> cells/ml) were activated with anti-CD3 (1.0 µg/ml) and anti-CD28 (2.0 µg/ml) antibodies and then treated with recombinant galectin-1 protein (1.0 µg/ml). Cells were incubated for 72 h under standard conditions at 37°C in a humidified atmosphere containing 5 % CO<sub>2</sub> and 95 % air. The isolation of RNA from mononuclear leukocytes was performed by sorbent-column method according to the manufacturer's instructions (RNeasy Plus Mini Kit, Qiagen, Germany). Using reverse transcriptase MMuLV-RT (Promega, United States), we synthesized cDNA of relevant mRNA. The cDNA fragment was then amplified by real-time PCR using intercalating fluorescent dye SYBR Green I (Medigen, Russia) on a Mini Opticon (Bio-Rad, United States) amplifier. To determine whether galectin-1 modulates the expression of CD4<sup>+</sup> T cell subset master transcription factor genes, qRT-PCR analysis was performed in cells activated and treated with 1.0 µg/ml galectin-1. Galectin-1 reduced the levels of TBX21 and RORC mRNA. Additionally, the levels of GATA-3 and FOXP3 mRNA increased significantly after treatment with 1.0 µg/ml galectin-1, increasing from 1.30 (0.10–3.61) and 0.32 (0.27–0.38) to 16.18 (15.06–18.40) and 0.98 (0.82–1.06), respectively. Our results suggest that galectin-1 shifts the CD4<sup>+</sup> T cell response towards the Th2 and Treg cell subsets. These effects of galectin-1 reveal its therapeutic potential because the *in vivo* induction of Treg cells, or the transfer of *in vitro* generated Treg cells, might provide a means to control autoreactive effector T cells.

### ВЛИЯНИЕ GFH-ФАКТОРОВ РАДИОУСТОЙЧИВОЙ БАКТЕРИИ *DEINOCOCCUS RADIODURANS* НА ИНИЦИАЦИЮ ТРАНСКРИПЦИИ

Агапов А.А.<sup>1,2</sup>, Есюнина Д.М.<sup>1</sup>, Кульбачинский А.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия

al.a.agapov@gmail.com

Инициация транскрипции – один из основных этапов регуляции экспрессии генов. Важной группой регуляторов являются белковые факторы, которые способны напрямую влиять на катализ в активном центре РНК-полимеразы (РНКП). К их числу относятся Gre-факторы бактерий, которые стимулируют эндонуклеазное расщепление РНК в активном центре фермента на стадии элонгации и способствуют инициации транскрипции. В составе Gre-факторов выделяют два домена: С-концевой связывается на поверхности РНКП, а N-концевой достигает активного центра и участвует в связывании каталитических ионов Mg<sup>2+</sup>. У экстремофильных бактерий филума *Deinococcus-Thermus* были обнаружены гомологичные Gre-факторам белки Gfh. В отличие от Gre-факторов, Gfh1-фактор термофильной бактерии *Thermus thermophilus* ингибирует как расщепление, так и синтез РНК, в том числе, на стадии инициации. Действие Gfh1 сильно зависит от кислотности среды: при пониженных значениях рН эффективность ингибирования РНКП возрастает. Было показано, что решающую роль в функциональных различиях данных факторов играют различия в структуре петли N-концевого домена, взаимодействующей с активным центром РНКП.

В геноме радиоустойчивой бактерии *Deinococcus radiodurans* закодированы два Gfh-фактора: Gfh1 и Gfh2. Последовательности петли N-концевого домена данных белков отличны как от Gre-факторов, так и от Gfh1-фактора *T. thermophilus*. Мы исследовали влияние Gfh-факторов *D. radiodurans* на активность РНКП *D. radiodurans* на стадии инициации в *in vitro* системе. Мы установили, что Gfh-факторы *D. radiodurans* ингибируют РНКП, но в отличие от Gfh1-фактора *T. thermophilus*, их действие

слабо зависит от pH. Анализ мутантных вариантов Gfh1-фактора *D. radiodurans* показал, что замена его активного центра на последовательность *T. thermophilus* не приводит к изменению его свойств, в то время как замены ключевых аминокислотных остатков на аланины ведут к потере ингибирующей активности. Нами показано, что оба Gfh-фактора *D. radiodurans* повышают значения констант Михаэлиса для инициаторных нуклеотидов, причем сильнее действуют на связывание 5'-концевого субстрата (хотя и находятся в активном центре РНКП ближе к 3'-концевому нуклеотиду). Полученные данные позволяют предполагать, что ингибирующий эффект исследуемых факторов определяется не непосредственным взаимодействием с субстратами реакции, а воздействием на конформацию активного центра РНКП и/или на связывание каталитических ионов металла.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 14-14-01074.

### ПОЛУЧЕНИЕ БЫЧЬЕГО ПРЕПРОХИМОЗИНА В КЛЕТКАХ *E. COLI*

**Акишев Ж.Д., Хасенов Б.Б.**

<sup>1</sup>РГП Национальный центр биотехнологии КН МОН РК, Астана, Казахстан

*zhigerakishev@gmail.com*

Бычий химозин является особым членом группы аспарагиновых протеаз, синтезируемых в четвертом желудке новорожденных телят. Этот фермент секретируется клетками слизистой оболочки желудка в виде зимогена, известный как препрохимозин. Химозин содержит два остатка аспарагиновой кислоты в активном центре, Asp32 и Asp215, которые катализируют селективное расщепление Phe105-Met106 пептидной связи в молекуле карра-казеина, которые в свою очередь стабилизируют мицеллы молока. Химозин используется в пищевой и медицинской промышленности. В последние годы в связи с недостатком сырья для получения сычужного фермента существует проблема поиска альтернативных источников химозина. Один из путей ее решения в использовании рекомбинантных форм фермента.

В качестве исходной нуклеотидной последовательности для гена прохимозина теленка были использованы данные GenBank (j00003.1). Сборка фрагментов гена проводилась методом ПЦР. Были использованы 19 олигонуклеотидов протяженностью 80 оснований, которые имели область перекрытия в 20 нуклеотидов. Синтез проходил в два раунда. На первом этапе замешивали все внутренние 80-мерные олигонуклеотиды, и проводилась ПЦР для их отжига друг на друга. Второй раунд состоял в ПЦР с использованием полученного ПЦР-продукта первого раунда в качестве матрицы и фланкирующих фрагмент праймеров. В результате была осуществлена сборка двух фрагментов гена I (602 п.о.) и II (564 п.о.) и осуществлено их клонирование в вектор pGEM-T. С использованием данных двух плазмид и фланкирующих олигонуклеотидов была осуществлена окончательная сборка гена *preprochymB*. Далее проводилось клонирование цельного гена (ПЦР-продукта) в плазмидный вектор pGEM-t. Было проведено секвенирование плазмидной ДНК клонов по M13 региону на правильность сборки и наличия мутаций. В результате анализа нуклеотидной последовательности выявлено 10 нуклеотидных мутаций, которые ведут к 7 аминокислотным мутациям. Устранение мутаций проводилось методом сайт-направленного мутагенеза по протоколу Quick Change. После окончательной сборки полноразмерного гена и удаления всех мутаций, ген препрохимозина B был клонирован в составе экспрессионного бактериального вектора pET-28c(+).

Вектором pET-28c(+)/prochymB были трансформированы компетентные клетки штаммов Rosetta(DE3). В результате был создан штамм, обеспечивающий внутриклеточное накопление рекомбинантного белка препрохимозина B в форме телец включения. Выделение рекомбинантного препрохимозина B проводилось путем растворения белка в 7 молярной мочеvine с последующей очисткой методами хроматографии.

### ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ОТДЕЛЬНЫХ ФРАКЦИЙ ФОСФОЛИПИДОВ ХРОМАТИНА КЛЕТОК ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС К *IN VIVO* ВОЗДЕЙСТВИЮ ЦИСПЛАТИНА

**Акопян Н.Р., Явроян Ж.В., Оганесян А.Г., Саркисян Э.Г., Геворкян Э.С.**

Ереванский Государственный Университет, Ереван, Армения

*nunehakobyan@rambler.ru*

В настоящее время считается доказанным, что примерно 10% ядерных липидов входит в состав хроматина. Известно, что хроматиновые липиды участвуют в регуляции важнейших функций ядра, как репликации и транскрипции. Регуляторная активность хроматиновых липидов имеет дозо-зависимый характер. Не исключено участие хроматиновых фосфолипидов в механизмах проявления противоопухолевых эффектов цисплатина (цис-диаминдихлорплатин), основной мишенью которого является молекула ДНК. Цисплатин может проявлять свои цитостатические, антинеопластические и проапоптотические эффекты путем количественных изменений содержания отдельных липидов внутриядерных структур.

Исследовано 24-часовое *in vivo* воздействие цисплатина на суммарное содержание фосфолипидов хроматина клеток головного мозга крыс. Полученные результаты свидетельствуют о том, что суммарное

содержание фосфолипидов хроматина клеток крыс снижается на 24%. после воздействия цисплатина. Известно, что цисплатин способен угнетать метаболизм липидов. По всей вероятности значительное сокращение суммарного содержания фосфолипидов хроматина обусловлено именно способностью цисплатина подавлять метаболизм липидов. Количественный анализ фракционированных методом микротонкослойной хроматографии. фосфолипидов хроматина клеток головного мозга крыс показал, что все пять фракции фосфолипидов проявляют высокую чувствительность к воздействию цисплатина. Так, зарегистрировано максимальное сокращение абсолютного количества фосфатидилэтаноламина на 34,4 %. Абсолютное количество кардиолипина по сравнению с контрольным вариантом уменьшается на 15%. Содержание остальных трех фосфолипидов - сфингомиелина, фосфатидилинозитола и фосфатидилхолина сокращается соответственно на 20,25%, 22,2% и 23,2%.

Результаты свидетельствуют о глубоких и разных трансформациях метаболизма липидов в ядре, и, в частности, в хроматине при *in vivo* воздействии противоопухолевого препарата. Обсуждается возможная роль количественных изменений фосфолипидов в механизмах проявления противоопухолевого эффекта цисплатина.

### **КАРТИРОВАНИЕ РАЙОНОВ ЯДРЫШКОВОГО ОРГАНИЗАТОРА И ТЕЛОМЕРНЫХ ПОВТОРОВ НА ХРОМОСОМАХ МОЛЛЮСКА *LITTORINA SAXATILIS* ИЗ КОМПЛЕКСА КРИПТИЧЕСКИХ ВИДОВ**

**Алешкина Д.Д., Галкина С.А., Михайлова Н.А.**

ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*alyoshkina\_darya@list.ru*

Существенные хромосомные перестройки могут приводить к постзиготической изоляции особей из отдельных популяций и служить маркером появления новых видов и, таким образом, играть важную роль в процессе эволюции. Одним из наиболее интересных примеров формирования комплекса близкородственных видов в процессе репродуктивной изоляции и конвергентной эволюции являются криптические виды. Как правило, эти виды морфологически сходны, однако отличаются структурой геномов.

Морские моллюски рода *Littorina* - один из ярких примеров комплекса криптических видов. Комплекс “*saxatilis*” включает в себя три близкородственных вида (*L. saxatilis*, *L. compressa* и *L. arcana*), среди которых два – *L. saxatilis* и *L. arcana* – виды-двойники. Идентификацию видов-двойников можно надежно проводить по морфологии гонады самок, поскольку *L. saxatilis* – вид живородящий, самки *L. arcana* откладывают кладки.

Для поиска цитогенетических различий в комплексе близкородственных видов проведен анализ кариотипа *L. saxatilis* с помощью картирования теломерных и центромерных районов хромосом, а также мест локализации ядрышкового организатора (18S рДНК) (ЯО). В работе использован метод флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH). Особи *L. saxatilis* были собраны из двух географически удаленных друг от друга популяций – побережье Шотландии и побережье Баренцева моря (пос. Дальние Зеленцы, Россия). Метафазные пластинки получены на препаратах из тканей эмбрионов моллюсков. Охарактеризовано 28 полных кариотипов *L. saxatilis*, каждый из которых содержит 17 пар хромосом (2n=34). Особи из разных географических популяций не различались по числу хромосом. Результаты FISH с зондом к теломерному повтору (TTAGGG)<sub>n</sub> показали, что теломерный повтор локализуется только на концах хромосом и не содержится в интерстициальных районах хромосом у особей из обеих популяций. FISH с зондами к 18S рДНК позволил локализовать район ядрышкового организатора (ЯОР). Мы обнаружили вариабельность в количестве ЯОР: идентифицированы от 2-х до 7-х пар ядрышкообразующих хромосом. FISH с зондами к центромерному повтору морского моллюска *Conus magus* не выявил флуоресцентного сигнала в перичентромерных и центромерных районах хромосом *L. saxatilis*. Полученные данные позволят провести сравнение кариотипов близкородственных видов группы “*saxatilis*” для выявления видоспецифичных различий на хромосомном уровне.

Работа выполнена с использованием приборной базы кафедры зоологии беспозвоночных и ресурсного центра “Хромас” СПбГУ (<http://chromas.spbu.ru/>), при поддержке гранта РФФИ 15-04-08210.

### **СОЧЕТАННОЕ АНТИПРОЛИФЕРАТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ РИБОНУКЛЕАЗЫ *BACILLUS PUMILUS* И ДОКСОРУБИЦИНА НА КЛЕТКИ КАРЦИНОМЫ ЛЕГКИХ ЧЕЛОВЕКА A549**

**Амутбаева А.И., Зеленихин П.В.**

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

*luntik051995@gmail.com*

В последние десятилетия частота возникновения злокачественных опухолей легких у людей значительно возросла, данный тип онкопатологий уверенно держит первое место среди причин смерти от раковых заболеваний. В связи с этим поиск новых методов и способов терапии малигнизированных опухолей легких чрезвычайно актуален. В качестве перспективных агентов противоопухолевой терапии

рассматривают рибонуклеазы (РНказы) различного происхождения, например, гуанилспецифическую РНказу *B. Pumilus* - биназу, для которой показано селективное цитотоксическое и апоптозиндуцирующее действие на злокачественные клетки различных типов. Особое внимание РНказам уделяют как компонентам разрабатываемой комбинированной (сочетанной) терапии опухолей, где они применяются в комплексе с другими препаратами, в том числе классическим цитостатиками.

Целью нашего исследования явилась оценка сочетанного действия биназы и доксорубицина на пролиферацию клеток карциномы легких человека А549.

Клетки А549 культивировали в 96-луночных планшетах среде RPMI-1640 с добавлением 10% фетальной сыворотки телят, 2 мМ глутамин, по 100 ед/мл пенициллина и стрептомицина в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. Начальная концентрация клеток составляла 10<sup>4</sup> клеток/лунку. Через сутки после посева заменяли среду в лунках на свежую с добавлением действующих веществ: биназы (100 мкг/мл и 300 мкг/мл), доксорубицина (5 мкг/мл, 7 мкг/мл и 10 мкг/мл), а также их сочетаний. Выживаемость клеток А549 оценивали через 24 ч инкубирования в присутствии тестируемых агентов при помощи WST-теста и выражали в % относительно варианта без обработки цитотоксикантами.

Биназа в концентрации 300 мкг/мл обладала незначительной цитотоксической активностью в отношении клеток А549. Выживаемость клеток в данном случае составляла 78±7% и достоверно отличалась от варианта без обработки агентами. Клетки А549 к доксорубину были более чувствительны, чем к биназе. Выживаемость клеток составила 54±4%, 52±3% и 50±3% для концентраций доксорубицина 5 мкг/мл, 7 мкг/мл и 10 мкг/мл, соответственно. Достоверное сочетанное действие биназы и доксорубицина проявилось лишь в варианте с использованием максимальных концентраций тестируемых агентов. Выживаемость клеток А549 в присутствии 300 мкг/мл биназы и 10 мкг/мл доксорубицина составила лишь 5±4%, что достоверно ниже, чем в вариантах с применением любых других комбинаций цитотоксикантов, а также агентов в варианте монообработки.

Таким образом, полученные результаты подтверждают возможность использования цитотоксических РНказ микробного происхождения как элементов комбинированной терапии злокачественных новообразований.

## КОНСТРУИРОВАНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ ПУТЕЙ МИГРЕНИ

**Анучина А.А., Кондратьева Н.С., Наумова Е.А.**

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

*arinate@mail.ru*

По данным ВОЗ мигрень является одной из ведущих причин потери трудоспособности (9 место, 3 место среди женщин). Распространённость мигрени в России превышает мировые показатели почти в 1,5-2 раза – 20.3%(в мире 10.2-14.7%), а ежегодные косвенные расходы (потеря дней трудоспособности) составляют 22.8 млрд долларов США (1.75% от ВВП России). Таким образом, мигрень является не только медицинской, но и значимой экономической проблемой. Между тем, диагноз «мигрень» является исключительно клиническим, и любые диагностические тесты направлены лишь на исключение других причин головной боли. Эффективных же лекарств до сих пор не найдено. Соответственно, изучение молекулярных основ патогенеза мигрени и поиск биомаркёров, подтверждающих данный диагноз, а не опровергающих другие, является ведущим вектором в данном научном направлении. Цели данной работы: 1) обработать имеющиеся в мировой литературе данные по вовлеченности генов и/или белков в патогенез мигрени; 2) построить схемы гипотетических сигнальных путей межмолекулярных взаимодействий, описывающие формирование приступа мигрени. Методы: программа PathwayStudio10® и реферативная база данных ResNet12® компании Elsevier (США). Результаты: 1) найдено 225 генов/белков, связанных с мигренью; 2) впервые построена модель сигнальных путей всех форм гемиплегической мигрени; новизна данной модели заключается в выявлении общей точки пересечения патологических молекулярных процессов – избытка глутамата в синаптической щели; 3) впервые построены схемы сигнальных путей, описывающие возможные механизмы реализации мигренозной атаки, а также сопутствующих симптомов.

## ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МИКРОРНК В КАЧЕСТВЕ ЛАБОРАТОРНОГО БИОМАРКЕРА КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

**Бацких А.А.**

ФГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

*nastya-backih@mail.ru*

**Введение.** Микро-РНК – некодирующие молекулы РНК, регулирующие множество процессов в клетке, такие как: метаболизм, апоптоз, пролиферацию, дифференцировку. Микро-РНК играют важную роль в посттранскрипционной регуляции экспрессии генов, в том числе определяющих патогенез опухолей. Во всем мире наблюдается высокая заболеваемость и смертность от колоректального рака (КРР), на данный



момент занимающего третье место среди всех злокачественных опухолей. Существует большая потребность в точных биомаркерах для ранней диагностики рака, прогнозирования и мониторинга рецидива. Выявлена корреляция между уровнями экспрессии определенных микро-РНК и опухолями различной локализации. Этот факт позволяет рассматривать микро-РНК как потенциальный опухолевый биомаркер.

**Цель.** По литературным данным оценить целесообразность определения уровня экспрессии микро-РНК у пациентов с КРР для ранней диагностики, прогноза и оценки эффективности лечения.

**Материалы и методы.** Проводился ретроспективный анализ 30 статей 1999-2016 года. Оценивались полученные результаты исследования экспрессии микро-РНК 21, 224, 182, 143 при КРР.

**Результаты.** У пациентов с КРР по сравнению со здоровыми людьми уровень экспрессии микро-РНК 143 значительно снижен. В то время как микро-РНК 21, 224, 182, напротив, - у больных людей значительно повышен. Также отмечалась прямая пропорциональная зависимость между уровнем экспрессии микро-РНК 21, 224 и степенью злокачественности опухоли, наличием метастазов. После оперативного вмешательства уровень экспрессии микро РНК 21 значительно снизился. При ингибировании экспрессии микро – РНК 224, а так же при восстановлении уровня микро - РНК 143 наблюдается значительное снижение роста колоний опухолевых клеток.

**Вывод.** Определение уровня экспрессии микро-РНК может служить дополнительным методом диагностики КРР, оценки эффективности лечения и прогноза. Детекция уровня экспрессии методом ПЦР-РВ может быть использована и востребована как наиболее доступный и эффективный способ лабораторной диагностики.

### **ПЕРВЫЙ ПРЕДСТАВИТЕЛЬ КЛАНА CYP74 ЦИТОХРОМОВ P450 У *TRICHOPLAX ADHAERENS***

**Бессолицына Е.К., Топоркова Я.Ю., Мухтарова Л.Ш., Гоголев Ю.В., Гречкин А.Н.**

ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, Казань, Россия

*bessolicina\_elen@mail.ru*

Ферменты уникального семейства CYP74 цитохромов P450 и липоксигеназы (ЛОГ), принадлежащие липоксигеназной сигнальной системе, широко распространены в растительном мире. Ферменты CYP74, включающие в себя алленоксидсинтазы (АОС), гидропероксидлиазы (ГПЛ), дивинилэфирсинтазы (ДЭС) и эпоксиалкогольсинтазы (ЭАС), превращают гидроперекиси жирных кислот в разнообразные продукты: окиси аллена, дивиниловые эфиры, полуацетали и эпокиспирты. Однако в последнее время ферменты CYP74 выявляются у организмов, принадлежащих разным таксонам: животных, грибов, бактерий, бурых и красных водорослей. Например, на основании сопоставления аминокислотных последовательностей были выявлены гены CYP74-подобных белков у *Methylobacterium nodulans*, *Acropora palmata* и *Branchiostoma floridae*. Они проявляют активности ГПЛ, АОС и ЭАС, соответственно. Кроме того, у некоторых представителей царства животных обнаружены комплексные белки ЛОГ-АОС, при этом АОС имеет сходную с мини-каталазами структуру. Подобный фермент обнаружен, например, у морского коралла плексауры (*Plexaura homomalla*). От растительных ферментов он также отличается субстратной специфичностью. У животных, также как и у растений, АОС катализирует реакцию образования окиси аллена. У растений эта реакция является первой в серии превращений, приводящих к образованию жасмоновой кислоты. У животных дальнейшие пути превращений окиси аллена не изучены.

Обнаруженный нами фермент *Trichoplax adhaerens* является алленоксидсинтазой. При этом, по результатам сопоставления аминокислотных последовательностей он входит в состав клана CYP74 цитохромов P450. Таким образом, подобные растительным алленоксидсинтазы выявлены у представителей двух разных типов в составе царства животных – тип Стрекающие и тип Пластинчатые.

Результаты биоинформационных и биохимических исследований показывают, что гены оксипинового биосинтеза присутствовали у последнего общего предка растений и животных. Дальнейшее подробное изучение ферментов CYP74 у представителей животных позволит воспроизвести последовательность эволюционных событий и место ферментов CYP74 царства животных на филогенетическом дереве.

### **РОЛЬ РЕГУЛЯТОРОВ САХАРНОГО МЕТАБОЛИЗМА CRP И EXUR В ТРАНСКРИПЦИИ ГЕНА *DPS E. COLI***

**Бессонова Т.А.<sup>1,2</sup>, Швырева У.С.<sup>2</sup>, Драпкина Е.С.<sup>3</sup>, Гарушянц С.К.<sup>4</sup>, Тутукина М.Н.<sup>2</sup>, Озолин О.Н.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВПО Уральский Федеральный Университет имени первого Президента России Б.Н.Ельцина, Екатеринбург, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВПО Южно-Уральский Государственный Медицинский Университет, Челябинск, Россия; <sup>4</sup>ФГБУН Институт проблем передачи информации им. Харкевича РАН, Москва, Россия

*tanyabessonova@gmail.com*

Кишечная палочка способна выжить при неблагоприятных условиях во многом благодаря белку Dps, который надежно защищает ее геном от повреждений. Этот белок не только конденсирует

бактериальную хромосому, но и предупреждает образование активных форм кислорода за счет окисления  $Fe^{2+}$  и разложения  $H_2O_2$ . В регуляторной области гена *dps* кроме основного промотора  $P_{dps}$  были обнаружены дополнительные промоторы  $P_1$ ,  $P_1'$ ,  $P_2$  и  $P_3$ . Результаты множественного выравнивания показали, что основной промотор  $P_{dps}$  и ближайший к нему дополнительный  $P_1$  присутствуют в геномах всех близкородственных *E. coli* бактерий. Однако область с более удалёнными промоторами имеют только штаммы *E. coli* и ее предковая форма *E. albertii*, а также *C. rodentium*. Дополнительные промоторы  $P_2$  и  $P_3$  высоко консервативны, а значит могут играть важную роль в регуляции экспрессии гена *dps*. Вблизи промоторов  $P_1'$  и  $P_3$  было предсказано два сайта связывания CRP – глобального регулятора углеводного метаболизма, а вблизи промотора  $P_3$  – потенциальный сайт связывания транскрипционного регулятора семейства GntR. Методом задержки в геле зарегистрирован комплекс белка CRP с фрагментом регуляторной области гена *dps*, содержащими промоторы  $P_3$  и  $P_2$ . Возможно, CRP обладает большим сродством к сайту, находящемуся на промоторе  $P_3$ , чем к сайту вблизи  $P_1'$ . Поэтому была оценена экспрессия гена *dps* при росте культуры на двух различных сахарах – D-глюкозе и D-глюкуроноате. Методом qRT-PCR с полного набора промоторов гена *dps* было показано, что при росте на глюкуроноате CRP и EcuR явно стимулируют транскрипцию, а на глюкозе EcuR выполняет ингибиторную функцию. CRP при этом всегда выступает активатором транскрипции. Значительных колебаний уровня транскрипции с промотора  $P_3$  не было зарегистрировано, хотя при росте на глюкуроноате в делеционных мутантах по гену *crp* наблюдалось небольшое ее угнетение. Это может быть связано с тем, что при росте на альтернативных источниках углерода переход к стационарной фазе роста происходит раньше, чем при росте на глюкозе, и в таком случае клеткам требуется активация экспрессии *dps*. Влияние регуляторов сахарного метаболизма на экспрессию генов белков нуклеоида не типично. В данном случае дополнительные промоторы, по-видимому, были приобретены *E. coli* в результате горизонтального переноса, хотя гомологии с какой-либо другой областью генома выявить не удалось. Тем не менее они были успешно ассимилированы *E. coli*, позволяя сопрягать метаболический статус клетки со структурно-функциональным состоянием генома.

Исследования поддержаны грантом РФФИ 16-34-01044 и Zimin Foundation.

#### ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ И ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ТЕСТИРОВАНИЯ ДНК-ПОЛИМЕРАЗНОЙ АКТИВНОСТИ НОВОГО ФЕРМЕНТА ЧЕЛОВЕКА ДНК-ПОЛИМЕРАЗЫ И ДНК-ПРАЙМАЗЫ PRIMPOL

Болдинова Е.О.<sup>1,2</sup>, Stojkovic G.<sup>3</sup>, Wanrooij S.<sup>3</sup>, Макарова А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Московский технологический университет, Москва, Россия; <sup>3</sup>Umea University, Umea, Sweden

*lizaboldinova@yandex.ru*

Фермент PrimPol человека, открытый в 2013 году, является специализированной ДНК-полимеразой, обладающей одновременно ДНК-полимеразной и ДНК/РНК-праймазной активностями. PrimPol играет важную роль в поддержании стабильности генома в ходе репликации, осуществляя синтез ДНК через повреждения, или ре-иницируя синтез после поврежденного участка.

Первые выделенные препараты рекомбинантной PrimPol человека, полученные разными группами исследователей из клеток-продуцентов *Escherichia coli*, проявляют слабую активность *in vitro*. При этом использование разных штаммов *E. coli*, экспрессия при низких температурах и коэкспрессия с шаперонами не увеличивают активности PrimPol. Поскольку слабая ферментативная активность может быть связана с низкой стабильностью PrimPol при выделении и хранении, мы исследовали стабильность PrimPol, выделенной из *E. coli*, при разных температурах и устойчивостью фермента к замораживанию-оттаиванию. С целью определения оптимальных условий для тестирования биохимической активности PrimPol нами также была изучена ДНК-полимеразная активность фермента при разных параметрах реакционной смеси (варьировали рН, ионную силу, типы буферных агентов, концентрации ионов-кофакторов  $Mg^{+2}$  и  $Mn^{+2}$ ).

Было показано, что фермент PrimPol устойчив к воздействию замораживания и стабилен при низких температурах, но быстро теряет биохимическую активность при повышенных температурах, в том числе значениях, близких к физиологическим. При выдерживании PrimPol при температуре 0°C падения активности фермента не происходит в течение 6-8 часов, затем наблюдается небольшое снижение активности, но в целом, фермент остается достаточно активным до 24 часов на льду. Однако при инкубации PrimPol при температуре 37 °C его активность падает в 2 раза уже через 10 минут теплового воздействия.

Тестирование различных буферов для проведения ДНК-полимеразной реакции показало, что вариантами, в которых PrimPol проявляет высокую активность, являются буфера HEPES и Bis-tris propane. Наибольшую активность фермент проявляет в диапазоне значений рН 7.0-7.4 и при концентрации NaCl 50-100 мМ. Было показано, что в присутствии ионов  $Mn^{+2}$  активность PrimPol в 10 раз выше, чем когда в реакционной смеси находятся ионы  $Mg^{+2}$ , однако наличие ионов  $Mg^{2+}$  более физиологично и соответствует условиям, аналогичным условиям *in vivo*.

Для дальнейшего тестирования биохимической активности фермента PrimPol нами были выбраны следующие условия реакции: буфер HEPES pH=7.1, 50 mM NaCl и 10 mM Mg<sup>2+</sup>. Рекомендованное время проведения биохимических реакций не должно превышать 10 минут.

### МОДЕЛИРОВАНИЕ ЭФФЕКТОВ АМИНОКИСЛОТНЫХ ЗАМЕН НА АМИЛОИЛОГЕННЫЕ СВОЙСТВА БЕЛКОВ, А ТАКЖЕ ИХ СТРУКТУРУ

**Бондарев С.А.<sup>1</sup>, Журавлева Г.А.<sup>1</sup>, Каява А.В.<sup>2,3,4</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГАОУ ВО Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия; <sup>3</sup>Центр исследований биохимии макромолекул, CNRS, Университет Монпелье, Монпелье, Франция; <sup>4</sup>Институт компьютерной биологии, Монпелье, Франция

*stanislavspbg@gmail.com*

Амилоиды и прионы были впервые охарактеризованы в связи с различными заболеваниями. Тем не менее сейчас активно накапливаются данные, свидетельствующие об их потенциальных физиологических функциях. Это способствует развитию интереса к исследованиям в этой области, где одним из нерешенных остается вопрос о способе идентификации структуры амилоидных агрегатов. Современные биофизические методы не позволяют быстро решить эту задачу. В такой ситуации потенциальным выходом из положения является развитие компьютерных моделей, позволяющих предсказывать возможные варианты структуры белка в составе амилоидных агрегатов. Недавно была разработана программа, названная ArchCandy, которая с высокой эффективностью предсказывает элементарные амилоидные структуры, называемые β-арками. В своей работе мы протестировали способность этой программы интерпретировать влияние замен в белке Sup35p на свойства его амилоидных агрегатов и приона [PSI<sup>+</sup>]. По полученным результатам ArchCandy успешно справилась с поставленной задачей (Bondarev et al., 2015, *Prion*).

Поскольку β-арка является элементарным структурным компонентом большинства амилоидов, мы также разработали алгоритм, позволяющий воссоздавать все возможные структуры из набора β-арок. Этот новый подход открывает целый ряд возможностей для исследований структурной организации амилоидов и прионов, части из которых будет представлена в рамках доклада.

Работы выполнены при поддержке грантов СПбГУ (1.37.291.2015 и 15.61.2218.2013), грантов РФФИ (16-04-00202, 16-34-00582, 15-04-06650), а также ресурсного центра «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ.

### ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ МЕТИЛЦИКЛОДЕКСТРИНА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ КАТАБОЛИЗМА СТЕРИНОВ

**Брагин Е.Ю.<sup>1</sup>, Штратникова В.Ю.<sup>2</sup>, Щелкунов М.И.<sup>3</sup>, Довбня Д.В.<sup>1</sup>, Донова М.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>НИИ Физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского МГУ, Москва, Россия; <sup>3</sup>ФГБУН Институт проблем передачи информации им. А. А. Харкевича РАН, Москва, Россия

*bragory@yandex.ru*

Метилированный β-циклодекстрин (МЦД) – циклический олигосахарид, способный образовывать растворимые комплексы с гидрофобными соединениями. МЦД применяется в биотехнологии и в научных исследованиях как агент, улучшающий биоконверсию стериннов актинобактериальными культурами и ускоряющий процессы индукции биохимической активности, в том числе, при изучении экспрессии генов стероидного катаболизма. Вместе с тем известно, что МЦД оказывает многообразные и до конца не изученные эффекты на физиологию бактериальной клетки.

В данной работе исследовали влияние МЦД на экспрессию генов катаболизма стериннов *Mycobacterium* sp. VKM Ac-1817D - продуцента 9α-гидроксиандрост-4-ен-3,17-диона (9-ГАД). Мы провели высокопроизводительное секвенирование и сравнительный биоинформатический анализ транскриптомов культур штамма 1817D, выращенных в присутствии β-ситостерина, МЦД, β-ситостерина и МЦД одновременно, а также без этих соединений. Секвенирование осуществляли на приборе HiSeq 2000 (Illumina). Установлено, что МЦД изменяет уровень экспрессии генов стероидного катаболизма в присутствии стериннов. При этом МЦД сам по себе не вызывает специфичной индукции какой-либо группы генов. Эффект, оказываемый МЦД на экспрессию генов катаболизма боковой цепи стериннов и колец А и В стероидного ядра незначителен, однако, обусловленная β-ситостерином индукция генов катаболизма колец С и D стероидного ядра в присутствии МЦД оказалась ослаблена, в среднем, в 3,3 раза. Результаты работы должны быть учтены при использовании МЦД в исследованиях экспрессии генов катаболизма стериннов.

Работа поддержана грантом РНФ (соглашение №14-24-00169).

## НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ТРАНСКРИПЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ПРОМОТОРНОГО ОСТРОВКА *APPY* В ГЕНОМЕ *E. COLI*

Быков А.А.<sup>1</sup>, Шавкунов К.С.<sup>2</sup>, Озолинь О.Н.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН  
Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия

*forrozinho\_cap@mail.ru*

Ранее в нашей лаборатории в геноме *E. coli* были обнаружены области с аномально высокой плотностью мест инициации транскрипции, но низкой эффективностью синтеза РНК, которые были названы *промоторными островками*. Было высказано предположение, что снижение эффективности транскрипции связано с возникающим стерическим конфликтом из-за связывания молекул РНК-полимеразы с перекрывающимися промоторами. Соответственно уменьшение плотности точек старта в *островке* должно привести к увеличению эффективности инициации транскрипции. В качестве объекта исследования был выбран фрагмент *промоторного островка appY*, который подвергали ПЦР-мутагенезу, после чего ампликоны лигировали в плазмиду рЕТ28b перед репортерным геном *gfp*, которую использовали для трансформации бактериальных клеток. Далее отбирали клон с наибольшим уровнем флуоресценции.

Всего было проведено 20 раундов ПЦР-мутагенеза в результате которых промоторная последовательность *appY* накопила 40 мутаций и 2 делеции, что привело к 6,21-кратной активации экспрессии с *островка*. Это сопровождалось снижением числа потенциальных точек инициации транскрипции с 191 до 81. Нами было замечено, что уровень флуоресценции отобранного клона снижается с течением времени при поддержании культуры на чашках Петри. Мы провели сравнение накопления РНК-продуктов с анализируемого локуса, используя препарат тотальной клеточной РНК из клеток отобранного клона, выделенной сразу после селекции и по прошествии трех недель. Нормировку проводили по количеству транскриптов плазмидного гена устойчивости к канамицину.

Оказалось, что при длительном сохранении клеток на агаризованной среде количество транскриптов исследуемого региона падало в 11,3 раза по сравнению с исходным уровнем. Данный факт, возможно, свидетельствует в пользу существования некоего эпигенетического механизма, в результате действия которого при длительном хранении в клетках подавляется транскрипция вставки на плазмиде. Не исключено, что в геноме *E. coli* уровень экспрессии с *промоторных островков* также нестабилен. Изучение регуляции транскрипции с *островковых* промоторов планируется продолжать в ближайшее время.

Исследования поддержаны грантом РФФИ 14-44-03601

## СОЗДАНИЕ ПРАЙМЕРОВ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ВИРУСОВ БАКТЕРИЙ РОДА *BACILLUS*

Варгас Э., Ульянова В.В., Шах М.Р., Ильинская О.Н.

ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань, Россия

*hernando2040@hotmail.com*

Бактериофаги привлекают большое внимание исследователей из-за их разнообразия, а также экологического и медицинского значения. Отсутствие консервативных генов у фагов затрудняет их идентификацию и таксономическую характеристику. Несмотря на это все же было выявлено некоторое геномное сходство и найдены общие гены у близкородственных фагов [1]. Целью данного исследования явился поиск общих последовательностей у бактериофагов бактерий рода *Bacillus* и разработка универсальных праймеров, необходимых для геномного скрининга и классификации фагов бацилл.

Фаги, инфицирующие бактерий рода *Bacillus*, полным геном которых представлен в базе данных NCBI, были разбиты на группы в соответствии с их таксономической классификацией по семействам *Podoviridae* (6 геномов), *Tectiviridae* (2 генома), *Caudoviridae* (3 генома), *Shiphoviridae* (25 геномов). Для каждой группы был проведен сравнительный анализ геномов с помощью программы «MAUVE» и выявлены общие последовательности, которые сравнивали с помощью алгоритма «MUSLCE». Основываясь на полученных результатах, мы сконструировали потенциальные пары праймеров для ПЦР анализа геномной ДНК вирусов бацилл. Кроме того праймеры были разработаны на основе последовательностей ортологичных генов [1] для семейств *Podoviridae* (*phi29* like) и *Spounavirinae* (*Spounalikevirus*). Всего было создано 8 пар праймеров, которые в дальнейшем будут протестированы в ПЦР анализе ДНК бактериофагов, выделенных нами из природных источников и реплицированных в клетках *Bacillus subtilis* и *Bacillus altitudinis*.

M. Kristensen, A.S. Waller, T. Yamada, P. Bork, A.R. Mushegian, E.V. Koonin. *J. Bacteriol*, 2013, **195**, 941–950.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЫ ЭНДОГЛЮКАНАЗЫ 2 МИЦЕЛИАЛЬНОГО ГРИБА *PENICILLIUM VERRUCULOSUM*

Вахрушева А.В.<sup>1,2</sup>, Кравченко О.В.<sup>1</sup>, Тищенко С.В.<sup>1</sup>, Габдулхаков А.Г.<sup>1</sup>, Кляшторный В.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия; ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино, Россия

*vakhrusheva.ann@yandex.ru*

В настоящее время использование ферментных препаратов в качестве кормовой добавки является ключевым условием для эффективного животноводства. Основой комбикормов являются злаковые культуры, клеточная стенка которых содержит в своём составе труднорасщепляемые некрахмальные полисахариды (НПС). НПС уменьшают скорость прохождения корма по пищеварительному тракту, снижают доступность эндогенных пищеварительных ферментов к корму и тем самым его переваримость и эффективность всасывания питательных веществ. Ключевыми ферментами, используемыми в качестве кормовой добавки для расщепления НПС, являются эндо-1,3(4)-β-глюкоказы (эндоглюканаза 2). В качестве промышленно важных продуцентов эндо-1,3(4)-β-глюкоказ являются грибы рода *Trichoderma* и *Penicillium*. Последние на сегодняшний день особенно важны благодаря своей продуктивности и способности синтезировать активный и сбалансированный по своему составу ферментный комплекс, а также высокой технологической стабильности индивидуальных компонентов этого комплекса.

Эндо-1,3(4)-β-глюканаза была выделена из *Penicillium verruculosum* и закристаллизована методом диффузии паров в висячей капле при использовании набора JBC Screen Nuc-Pro2. Кристаллы данного белка принадлежат к пространственной группе  $R4_12_12$  с параметрами ячейки  $a=b=83.8 \text{ \AA}$ ,  $c=89.0 \text{ \AA}$ ,  $\alpha=\beta=\gamma=90.0^\circ$ . Структура была определена методом молекулярного замещения и уточнена до  $R_{\text{crist}}=21.8\%$  и  $R_{\text{free}}=25.9\%$  при разрешении  $2.1 \text{ \AA}$ . Полученная модель удовлетворяет всем стереохимическим и рентгеноструктурным критериям. Координаты модели депонированы в банк белковых структур (PDB код 5I6S).

Эндоглюканаза 2 представляет собой однодоменный белок, имеющий укладку в виде α/β-бочонка. Финальная модель белка содержит 305 аминокислотных остатков, 2 молекулы N-ацетилглюкозамина, 1 молекулу маннозы, 133 молекулы воды.

Информация о структурных особенностях данного фермента должна стать основой для планирования дальнейших работ по сайт-направленному мутагенезу с целью придания ферменту нужных свойств (расширение pH- и температурного оптимума действия, модификация субстратной специфичности, степени гликозилирования и др.), а также увеличения его активности по отношению к НПС сельскохозяйственных кормов.

## ПОИСК АССОЦИИРОВАННЫХ С ВЗП ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ

Верховский Р.А.<sup>1</sup>, Тихомирова Е.В.<sup>2</sup>, Глинская Е.В.<sup>1</sup>, Зудина И.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, Москва, Россия

*r.a.verhovskiy@mail.ru*

По данным ВОЗ от воспалительных заболеваний пародонта (ВЗП) страдает до 80-100% населения мира, причем, тяжелая степень пародонтита, приводящая к расшатыванию и утрате здоровых зубов, выявляется у 15-20% людей среднего возраста (35-44 года). Считается, что в многофакторной этиологии ВЗП первостепенную роль играет супра- и субгингивальная пародонтальная микрофлора, которая обладает способностью преодолевать первую линию защиты слизистых оболочек рта и вызывать прогрессирующую деструкцию тканей десны и кости межзубных перегородок.

В настоящем исследовании предпринимается попытка выявить связь между риском развития ВЗП, в частности тяжелых форм пародонтита, и наличием точечных нуклеотидных замен (SNP) в генах, кодирующих последовательности β-дефензинов – конститутивных поликатионных белков, способных убивать широкий спектр бактерий (в том числе устойчивых к антибиотикам), грибков и вирусов, а также инактивировать бактериальные токсины, регулировать уровень воспалительной реакции и модулировать активность эффекторов врожденного и адаптивного иммунитета. Работа включает в себе три основных этапа: 1) конструирование праймеров для идентификации ряда SNP в генах DEF1 и DEF4A методом ПЦР; 2) изучение распределения аллельных вариантов генов β-дефензинов у больных ВЗП и выявление SNP, ассоциированных с пародонтитом среднетяжелой и тяжелой степени; 3) разработку ПЦР-тест-систем для оценки риска развития тяжелых форм пародонтита.

В настоящий момент сконструированы аллель-специфические праймеры для идентификации 9 SNP в 5'UTR-регионе гена DEFB1 и 10 SNP в пределах гена DEFB4A. Проведены первичные испытания праймеров с использованием ДНК ядерных клеток периферической крови 30 человек со здоровым пародонтом и 45 пациентов с ВЗП трех стоматологических клиник г.Москвы и г.Саратова. Детальный анализ распределения аллельных вариантов генов позволил выделить ряд SNP в группу потенциальных диагностических маркеров.

### **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОСВЕЧИВАЮЩЕЙ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ КОНТРОЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ЭКЗОСОМ**

**Внукова А.А.<sup>1</sup>, Багров Д.В.<sup>2</sup>, Хомякова Е.Б.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия;

<sup>3</sup>ФГБУ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины, Москва, Россия

*biochem.fan@ya.ru*

Экзосомы - окруженные мембраной пузырьки, которые выделяются клетками различных тканей во внеклеточное пространство и обеспечивают транспорт веществ между этими клетками. При онкологических заболеваниях экзосомы влияют на процессы метастазирования, пролиферацию клеток, устойчивость к лекарственным препаратам. Для исследования содержимого и молекулярных механизмов влияния экзосом их выделяют из физиологических жидкостей или среды культивирования клеток. Просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ) является одним из немногих методов, который позволяет контролировать выделение внеклеточных везикул, в том числе экзосом.

В данной работе исследовали экзосомы, выделенные методом дифференциального центрифугирования из среды культивирования клеток линии HT29. Экзосомы наносили на сетки и, чтобы увеличить контраст на получаемых изображениях, обрабатывали 1% уранилацетатом. Исследование проводили на просвечивающем электронном микроскопе JEM-1011 при ускоряющем напряжении 80 кВ.

На снимках, полученных методом ПЭМ, экзосомы имеют форму диска с темным центром и иногда с «вмятиной» на краю. Негативное контрастирование позволяет зарегистрировать экзосомы и построить их распределение по размерам. В исследованных нами образцах размер большинства экзосом лежит в диапазоне от 30 до 200 нм.

Для того чтобы достоверно отличить экзосомы от примесей, необходимо использовать иммуноочечнение коллоидным золотом. Это метод выявления белков, основанный на окрашивании образцов конъюгатами из частиц коллоидного золота с антителами. В частности, при работе с экзосомами можно использовать антитела против мембранных белков CD9, CD63 и CD81, которые являются специфическими маркерами экзосом, или же против мембранных белков, специфичных для определённой популяции экзосом.

В предварительных экспериментах готовили конъюгаты коллоидного золота с кроличьими антителами IgG против человеческого альбумина HSA. Для этого антитела смешивали с раствором коллоидного золота при разных значениях pH и инкубировали, чтобы обеспечить связывание антител с частицами. Для проверки связывания IgG с коллоидным золотом к смесям добавляли раствор NaCl. Конъюгаты были устойчивы к увеличению ионной силы, а не защищённые белком частицы коллоидного золота выпадали в осадок или агрегировали.

Просвечивающую электронную микроскопию планируется использовать для обнаружения экзосом среди белковых и прочих примесей с последующим измерением их размеров, а также для изучения представленности искомой популяции экзосом среди других внеклеточных везикул.

### **ВИДОСПЕЦИФИЧНОСТЬ И ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ПЛАСТИЧНОСТЬ ПРОТЕОМА В КОМПЛЕКСЕ КРИПТИЧЕСКИХ ВИДОВ**

**Воловик К.Ю., Мальцева А.Л., Гранович А.И., Михайлова Н.А.**

ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*Ksu\_volovik@mail.ru*

Криптические виды (виды-двойники) могут представлять собой результат недавней или неполностью завершившейся дивергенции и, следовательно, являются удобной моделью для изучения механизмов видообразования. Такой моделью является комплекс близкородственных видов моллюсков подрода *Neritrema* рода *Littorina*. Он представлен двумя группами видов: группа “*saxatilis*” (*L.saxatilis*, *L.arcana* и *L.compressa*) и группа “*obtusata*” (*L.obtusata* и *L.fabalis*). Эти виды населяют приливно-отливную зону морей Северной Атлантики. Они обитают на разных горизонтах литорали и, следовательно, подвергаются разному действию экологических факторов (режим осушки, температура). Сравнение этих

видов на протеомном уровне может выявить группы белков, которые дивергируют в первую очередь. Сравнение протеомов моллюсков, обитающих на разных горизонтах литорали, может позволить выявить белки, вовлеченные в адаптации к разным экологическим условиям, и оценить насколько эти механизмы схожи у близких видов.

С помощью двумерного дифференциального электрофореза были исследованы протеомы трех видов моллюсков (*L.saxatilis*, *L.arcana*, *L.compressa*), собранных на побережье Франции (Бретань, Канкаль) на разных горизонтах литорали. Для получения образцов были использованы разные органы (голова, нога, пенис), которые были проанализированы по-отдельности. Было выявлено, что протеом *L.compressa* достоверно отличается от протеомов *L.saxatilis* и *L.arcana*. Достоверных изменений в протеоме *L.compressa* в связи с горизонтом литорали выявить не удалось. В протеомах двух других видов выявленные изменения оказались сходными. Наибольшие различия вдоль вертикального градиента литорали демонстрируют белки энергетического обмена (фруктозо-1,6-бифосфат альдозазы), детоксификационные белки (глутатион-трансфераза), а также специфические пениальные белки. Эти группы белков с высокой долей вероятности вовлечены в экологические адаптации.

Чтобы оценить, насколько выявленные в бретонской популяции закономерности являются общими видовыми характеристиками, была выбрана удаленная популяция на побережье Норвегии (Persfjord) для аналогичного анализа. Помимо *L.saxatilis* и *L.arcana* в исследование был включен еще один вид - *L.obtusata*. Для приготовления образцов использованы ткани головы, пениса и жабры. На уровне качественных отличий схожесть протеомных изменений в связи с уровнем литорали у исследованных ранее *L.arcana* и *L.saxatilis* подтвердилась. В образцах *L.obtusata* с разных уровней литорали удалось выявить отличия, реализуемые за счет других белков. Необходимо проведение количественного анализа полученных протеомных данных.

### СБОРКА СПЕЙСЕРНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ЯДРЫШКОВОГО ОРГАНИЗАТОРА ПЕРЕПЕЛА ЯПОНСКОГО

Володькина В.А., Дёмин А.Г., Галкина С.А.

ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*leravolo94@gmail.com*

Кластеры рибосомных генов, формирующие ядрышкообразующие районы, являются важным элементом генома, обеспечивающим функционирование синтетического аппарата клетки. У животных кластер включает гены *18S*, *5.8S* и *28S pPHK*, а также разделяющие их транскрибируемые высоковариабельные спейсеры *5'ETS*, *ITS1*, *ITS2* и *3'ETS*. Несмотря на широкое применение спейсеров рДНК в молекулярной систематике животных, механизмы эволюции их последовательностей у амфибий, рептилий и птиц мало изучены. Это связано со сложностями амплификации этих фрагментов, отличающихся большой длиной и высоким содержанием GC пар, что также является причиной отсутствия достаточного количества их последовательностей в базах данных. Ранее нами была представлена в GenBank первая полная последовательность рибосомного кластера птиц, принадлежащая домашней курице (KT445934).

Для изучения особенностей эволюции транскрибируемых рибосомных спейсеров птиц была поставлена задача расшифровки полной последовательности рРНК-кластера у перепела *Coturnix c. japonica*, близкого к курице вида.

На основе сырых последовательностей полногеномного секвенирования *C. c. Japonica* из базы SRA (NCBI) DRX001706, DRX001708, DRX001709, DRX001718, нами была собрана *de novo* последовательность рРНК кластера длиной 7900 п.о. Сборка проводилась в программе Geneious 9.1.2. Всего было использовано 143573 ридов, среднее покрытие - 1871. Длина полной последовательности гена *18S pPHK* перепела составила 1823 п.о., гена *5.8S pPHK* - 157 п.о. Так же мы частично собрали последовательности 3'-конца *5'ETS* (397 п.о) и 5'-конца гена *28S pPHK* (3932 п.о.). Длина *ITS1* составила 2176 п.о, *ITS2* – 649 п.о. Содержание GC пар и CpG островков составило 78,1%/17,4% (для *ITS1*) и 78,9%/19,4% (для *ITS2*), соответственно, и оказалось сходным с таковым у курицы. Насыщенность повторами последовательностей *ITS1* перепела и курицы также сходна: 16,18% и 13,4%, соответственно. Напротив, встречаемость повторов в *ITS2* перепела оказалась заметно ниже, чем у курицы (6,78% против 24,3%). При этом повторы приурочены к низковариабельным областям, и изменение длины спейсеров у данных видов связано с делециями и инсерциями уникальных GC обогащенных регионов.

Полученные нами данные указывают, что дупликации повторов не являются основным механизмом эволюции транскрибируемых спейсеров рДНК у птиц.

Работа выполнена в рамках проекта РФФИ № 15-04-05684а.

## ТРАНСКРИПЦИЯ С МНОЖЕСТВЕННЫХ ПРОМОТОРОВ ГЕНА РЕГУЛЯТОРНОГО БЕЛКА YJJM НАХОДИТСЯ ПОД КОНТРОЛЕМ H-NS, DPS И CAMP-CRP.

Гагаринская Д.И.<sup>1,2</sup>, Швырева У.С.<sup>2</sup>, Тутукина М.Н.<sup>1,2</sup>, Озолин О.Н.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН  
Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия

DeanaW@yandex.ru

Источниками углерода для роста клеток в естественных условиях могут служить различные сахара, в частности, гексуроновые кислоты. Их метаболизм играет определяющую роль в подвижности бактерий и способности к колонизации. Транскрипционный фактор YjjM был предсказан как активатор генов, кодирующих ферменты метаболизма одного из гексуронатов — L-галактоната. YjjM относится к семейству GntR с N-концевым ДНК-связывающим доменом и C-концевым доменом, ответственным за олигомеризацию и (или) связывание лиганда. Было выявлено, что у гена *yjjM* есть несколько промоторов со стартовыми точками в позициях -85 (P6), -61 (P5), -15 (P4), -5 (P3), +11 (P2) и +27 (P1) от старт-кодона трансляции белка. P1 и P2 лежат внутри кодирующей области и служат для транскрипции мРНК, с которых транслируется укороченная на 36 аминокислот форма белка. Целью данной работы было изучение регуляции дифференцированного синтеза мРНК с промоторов гена *yjjM*.

С помощью ДНК-сэмплинга было установлено, что с регуляторной областью гена *yjjM* связываются белки Dps и H-NS. Белок нуклеоида Dps играет важную роль в компактизации хроматина и его защите от повреждений на стационарной фазе роста культуры, тогда как гистоноподобный белок H-NS выполняет сходную функцию во время экспоненциальной фазы. Dps в настоящее время не относят к классу регуляторов транскрипции, и его способность к специфическому взаимодействию с ДНК остается недоказанной. Способность H-NS и Dps регулировать транскрипцию *yjjM* была проверена в репортерной конструкции с геном *gfp*. Наибольшая флуоресценция наблюдалась у мутантов по гену *hns*, что свидетельствует о его репрессорной функции. Аналогичный эффект, но в меньшей степени, наблюдался в клетках, мутантных по гену *dps*. Это значит, что оба этих белка могут ингибировать транскрипцию *yjjM*, оказываясь вовлеченными в регуляцию углеводного метаболизма. Глобальный регулятор метаболизма углеводов cAMP-CRP, напротив, оказался активатором промоторов гена *yjjM* – при удалении его сайта связывания уровень транскрипции со всех промоторов гена падал до базового уровня, как и в клетках с делетированным геном *crp*. Активаторная роль CRP и репрессорная H-NS была полностью подтверждена с помощью ОТ-ПЦР в реальном времени. В тоже время, в клетках, мутантных по гену *dps*, наблюдалась только небольшая индукция транскрипции *yjjM*-мРНК. Иными словами, белок нуклеоида Dps оказывает минимальное влияние на транскрипцию *yjjM*, H-NS её ингибирует, а cAMP-CRP, по-видимому, является критическим активатором транскрипции *yjjM* II класса.

Исследования поддержаны грантами РФФИ №15-04-08716, №16-34-01044 и 14-44-03601.

## ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОГО ПЕРОКСИРЕДОКСИНА 6 НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ - МАРКЕРОВ СТРЕССА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Гончаров Р.Г., Шарпов М.Г.

ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия

sharapov.mg@yandex.ru

Впервые в нашей лаборатории был обнаружен радиозащитный эффект экзогенного пероксиредоксина 6 (Prx6) – представителя семейства пероксидаз, способных восстанавливать широкий спектр перекисных субстратов. ФИД Prx6 составляет 1,4. Возможно, Prx6 осуществляет радиозащитную функцию не только благодаря пероксидазной активности, но и благодаря передаче внутри- и межклеточных сигналов. Мы исследовали влияние ионизирующего излучения (1,5 Гр) и экзогенного Prx6 на экспрессию некоторых «стрессовых» генов в клетках костного мозга мыши. Выбраны гены изменяющие уровень экспрессии при развитии окислительного стресса (CAT, HO-1, SOD1-3, Prx1-6, NRF2, KEAP), воспалительного процесса (Nfkb, NKRF, TNFa, IL6, HSP70, HSP90), апоптоза (p53, Caspase3, AP-1), репарации ДНК (ATR, LigIV, ATM, XRCC4, XRCC5) и регенерации (ki67). Были исследованы 4 группы животных: №1 - необлученные, №2 - необлученные + введение Prx6, №3 - облученные (1,5 Гр), №4 – введение Prx6 + облучение (1,5 Гр). Извлечение костного мозга проводили спустя: 1, 15 и 30 суток после облучения.

В контрольной группе №1 уровень экспрессии генов во всех 3-х временных точках практически не менялся.

В группе №2 спустя 1 сутки после облучения наблюдается незначительный рост уровня экспрессии HSP90, SOD1, Prx5 (2-4); падение уровня экспрессии Prx1, Prx2, Prx6, caspase 3 (1,5-3 раз); остальные гены соответствуют уровню экспрессии в контрольной группе №1. Спустя 15 суток в группе №2 значительный рост экспрессии наблюдается для Prx6 (17 раз). На 30 сутки остается повышенным уровень экспрессии только гена Prx6 (6 раз).



В группе №3 спустя 1 сутки после облучения наблюдается значительный рост NFκB и Nkrf (25 раз), SOD3 (24 раза), Prx2 (8 раз), Prx6 (18 раз), XRCC4 и ATR (2-4 раза). Спустя 15 суток значительный уровень экспрессии только для Nkrf (27 раз). На 30 сутки значительный рост уровня экспрессии наблюдается для NFκB (40 раз), SOD2 (57 раз), SOD3 (85 раз), Prx6 (7 раз), XRCC4 (18 раз), XRCC5 (32 раза), LigIV (26 раз), AP-1 (23 раза), IL-6 (4 раза).

В группе №4 на первые сутки после облучения наблюдается рост экспрессии NFκB, SOD3 (4 - 5 раз), Prx6, XRCC4 (3-4 раза). На 15 сутки уровень экспрессии всех генов приближен к контрольной группе №1. На 30 сутки наблюдается рост экспрессии NFκB (6 раз), SOD2 и SOD3 (12 раз), XRCC5 (20 раз), Lig IV (16 раз), TNFα (4-5 раз), AP-1 (8 раз), IL-6 (5 раз). Наблюдается компенсаторный эффект от введения экзогенного Prx6.

### **ФИЛОГЕНИЯ И СИСТЕМАТИКА ЛЕСНОЙ СОНИ *DRYOMYS NITEDULA* (GLIRIDAE, RODENTIA) РУССКОЙ РАВНИНЫ И КАВКАЗА**

**Григорьева О.О.**

ФГБУН Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия

*grig\_forever@mail.ru*

Изучен полиморфизм популяций лесной соны *Dryomys nitedula* (Pallas, 1779) Русской равнины и Кавказа на основании генов *cytb*, 12S и IRBP. Изучено 60 образцов из 16 пунктов Русской равнины и Кавказа, в том числе 7 пунктов в бассейне Кубани, Владикавказа, Махачкалы и Тбилиси. Для каждого гена подобраны специфичные праймеры. Филогенетический анализ основывался на методах NJ, MP, ML и BI. Для обработки данных использовали программное обеспечение MEGA, PHYL, JMODELTEST, MRBAYES, FIGTREE, MRBAYES.

Было установлено, что образцы популяций Русской равнины входят в единую «Восточноевропейскую» филогруппу, географически изолированную от филогрупп Кавказского региона: «Западнокавказской», «Восточнокавказской» и «Закавказской». Популяции «Западнокавказской» филогруппы распространены в бассейне Кубани, а «Восточнокавказской» – по всей остальной исследованной области Северного Кавказа. Обе филогруппы парапатрически контактируют в восточной части бассейна Кубани, Закавказская часть ареала лесной соны географически изолирована.

Наблюдаемый уровень генетической дивергенции между «Восточноевропейской» филогруппой и филогруппами Кавказа, «Западнокавказской» (8,3% по *cytb*) и «Восточнокавказской» (9,4% по *cytb*) соответствует уровню, характерному для биологических видов (Baker, Bradley, 2006). Показаны краниометрические различия «Восточноевропейской» и «Западнокавказской» филогрупп на уровне подвидовых (Григорьева и др., 2014). Генетическая дистанция между филогруппами «Западнокавказской» и «Восточнокавказской» оказалась меньше (5,7% по *cytb*), также как между «Западнокавказской» и «Закавказской» (6,5% по *cytb*). Образцы из Закавказья образовали сестринскую филогруппу с «Восточнокавказской» (дистанция 5,6% по *cytb*) и не отличаются по ядерному гену IRBP.

Очевидно, популяции лесных сонь Кавказа разошлись в плейстоцене, изоляция популяций Русской равнины и Кавказа возникла раньше, в плиоцене.

Старший синоним в «Восточноевропейской» филогруппе - *D. nitedula* (Pallas, 1779). Видовым названием популяций Западного Кавказа может быть *D. n. heptneri* Orlov, Balakirev, Stakheev, 2014 (место типа - Адыгея, верховья р. Белой) (Григорьева и др., 2014). В качестве видового названия популяций Центрального и Восточного Кавказа можно использовать *D. n. caucasicus* Ogn. et Turov, 1935 (место типа - Владикавказ) или *D. n. ognevi* Heptner et Formosov, 1928 (место типа, долина реки Самур, не исследовано). Для популяций Закавказья пригоден старший синоним *D. n. tichomirovi* Sat., 1920 (место типа - Тбилиси).

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 15-04-05263) и гранта Президента МК-3755.2014.4.

### **АНАЛИЗ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕЖДУ ДРОЖЖЕВЫМИ ПРИОННЫМИ БЕЛКАМИ С РАЗНЫМ УРОВНЕМ ГОМОЛОГИИ**

**Гризель А.В.<sup>1</sup>, Рубель А.А.<sup>1</sup>, Бондарев С.А.<sup>1</sup>, Чернов Ю.О.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>School of Biology, Georgia Institute of Technology, Atlanta, Georgia, USA

*avgrizel@gmail.com*

Некоторые растворимые белки могут менять свою конформацию и полимеризоваться, образуя нерастворимые агрегаты (амилоиды). Накопление амилоидов может приводить к болезням. В особую группу амилоидов выделяют прионы – инфекционные амилоиды, которые могут распространяться как между особями одного, так и разных видов. Прионы связаны с развитием трансмиссивных губчатых энцефалопатий у млекопитающих (включая человека) и с поддержанием наследуемых признаков у дрожжей. Эти заболевания распространяются посредством патогенной изоформы белка PrP, которая

конвертирует растворимый белок PrP в прионную агрегированную изоформу. Передача прионного заболевания коров («коровьего бешенства») человеку является большой проблемой для животноводства и здравоохранения и продолжает вызывать беспокойство ввиду того, что механизм межвидовой передачи прионов до сих пор до конца не ясен.

У дрожжей прионы передаются через цитоплазму. Мы использовали дрожжевую модельную систему Sup35/[PSI<sup>+</sup>] для изучения прионного межвидового барьера. [PSI<sup>+</sup>] является прионной формой белка Sup35. Мы исследовали взаимодействие пар прионных белков Sup35 из четырех видов дрожжей различной степени родства (*Sacharomyces cerevisiae*, *S. paradoxus*, *S. uvarum* и *Lachancea kluyveri*), у которых процент идентичности аминокислотных последовательностей в прионном домене белка Sup35 составляет от 90 до 60%.

С помощью программы ArchCandy мы выявили потенциальные прионогенные участки дивергентных белков Sup35 и предсказали аминокислотные замены, влияющие на межвидовой барьер.

Используя методы флуоресцентной микроскопии мы подтвердили что все четыре белка Sup35 формируют агрегаты и колокализуются в клетках *S. cerevisiae*. Методом ферстеровского переноса энергии (FRET) мы показали, что между колокализующимися гетерологичными белками происходит физическое взаимодействие, наиболее эффективное в комбинации самых близкородственных белков (*S. cerevisiae* и *S. paradoxus*) но наблюдающееся и в других комбинациях. Поскольку барьер в передаче прионного состояния наблюдается в слабой форме в комбинации *S. cerevisiae* и *S. paradoxus*, и в сильной форме в других комбинациях, эти данные показывают что физического взаимодействия между гетерологичными белками недостаточно для передачи приона.

Данная работа поддержана грантом СПбГУ 1.50.1038.2014, РФФИ 15-04-06650 и грантом фонда «Династия». Авторы благодарят ресурсные центры СПбГУ «Хромас» и «Молекулярные и клеточные технологии» за техническую поддержку.

#### ВЛИЯНИЕ ЗАМЕН QA(33-34)КК В БЕЛКЕ SUP35 НА СТАБИЛЬНОСТЬ ПРИОНА [PSI<sup>+</sup>] ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Данилов Л.Г., Белоусов М.В., Полещук О.И., Бондарев С.А., Журавлёва Г.А.  
ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*lavrentydanilov@gmail.com*

Прионы – это инфекционные или наследуемые факторы белковой природы. На сегодняшний день известен ряд заболеваний, вызываемых прионами, например, болезнь Крейтцфельдта-Якоба, Куру и др. Однако в последнее время появилось множество данных о том, что амилоиды могут выполнять специфические функции в организме. Так, белок СРЕВ *Aplysia californica* участвует в процессе формирования долговременной памяти. Присутствие приона в организме обычно сопровождается агрегацией определённого белка. Эти комплексы обладают инфекционными свойствами, поскольку индуцируют изменение конформации гомологичных им нормальных белков в себе подобные. Последующая фрагментация этих агрегатов позволяет приону распространяться.

[PSI<sup>+</sup>] – это прионная изоформа белка Sup35 (фактора терминации трансляции дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*). При прионизации и, как следствие, агрегации Sup35р снижается точность терминации трансляции, что приводит к нонсенс-супрессии, т.е. прочтению стоп-кодонов. В использованной нами модельной системе это событие можно легко детектировать по способности клеток расти на определенных средах. Данная работа посвящена созданию и исследованию мутантной аллели *sup35-M0*, кодирующей белок с заменами двух незаряженных аминокислот, глутамина (Q) и аланина (A), на заряженные остатки лизина (КК) в 33 и 34 положениях. Согласно теоретическим предпосылкам, заряженные остатки лизина будут дестабилизировать структуры прионных агрегатов. Следовательно, такая аллель должна приводить к изгнанию из клеток фактора [PSI<sup>+</sup>].

В ходе нашей работы мы подтвердили, что *sup35-M0* приводит к потере фактора [PSI<sup>+</sup>], причём по эффективности элиминации приона эта аллель значительно превосходит другие мутации в гене *SUP35*, изгоняющие прион (Bondarev et al., 2013). Стоит отметить, что такой сильный эффект не связан с потерей белком Sup35-M0 прионогенных свойств. В системе *in vitro* он активно формирует агрегаты, которые обладают инфекционными свойствами.

Работа выполнена при поддержке НИР СПбГУ (1.37.291.2015, 1.50.1041.2014 и 15.61.2218.2013), грантов РФФИ (16-04-00202, 16-34-00582, 15-04-06650), а также ресурсного центра «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ.

## ВЛИЯНИЕ N- И C-КОНЦЕВЫХ УЧАСТКОВ ДРОЖЖЕВОГО mtIF3 НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ФАКТОРА *IN VIVO*

Дербикова К.С., Кузьменко А.В., Климонтова М.В., Каменский П.А.

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

*k.derbikova@gmail.com*

Согласно эндосимбиотической теории, митохондрии произошли от древних свободноживущих  $\alpha$ -протеобактерий. В ходе эволюционного процесса большинство генов органеллы переместилась в ядро, однако небольшая часть сохранилась в митохондриальном геноме. Трансляция закодированных в ДНК органеллы белков осуществляется собственным трансляционным аппаратом. Митохондриальная система трансляции сходна с прокариотической, однако, имеет ряд отличительных особенностей. Так, стадия инициации трансляции у бактерий проходит с участием трех белковых факторов: IF1, IF2 и IF3. В митохондриях различных организмов найдены гомологи фактора инициации трансляции 2 (mtIF2), тогда как фактор 1 до настоящего времени не обнаружен ни в одном из изученных организмов. Особый интерес представляет митохондриальный фактор инициации трансляции 3 (mtIF3).

mtIF3 состоит из двух доменов, соединенных линкером, а также содержит дополнительные N- и C- концевые участки, отсутствующие у бактериального фактора. Исследуя человеческий mtIF3 *in vitro*, Линда Шпремулли с соавторами показала, что удаление концевых участков приводит к повышению сродства фактора к большой субъединице рибосомы, что способствует формированию некорректных инициаторных комплексов.

Мы впервые исследовали влияние концевых участков на активность mtIF3 *in vivo*. Сотрудниками нашей лаборатории был найден mtIF3 в митохондриях пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* – белок Aim23p. Анализ характера роста *S. cerevisiae*, несущего различные варианты мутантного гена AIM23, лишённого одного или обоих хвостовых участков, показал, что для нормального функционирования митохондрий необходимо наличие хотя бы одного из концевых участков фактора. Эксперименты по комплементации в *E. coli* показали способность Aim23p частично функционально заменять бактериальный IF3. При этом в клетках бактерий лучше работал белок, лишённый обоих хвостовых участков.

Полученные экспериментальные данные позволяют нам предположить, что хвостовые удлинения митохондриального фактора возникли в ходе эволюционного процесса как результат адаптации к изменениям трансляционной системы в митохондриях.

Работа поддержана грантом РФФИ 15-34-20124 и грантом Президента России для молодых кандидатов наук МК-5334.2016.4.

## КОАКТИВАТОРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ, РЕМОДЕЛИРУЮЩИЕ ХРОМАТИН, УЧАСТВУЮТ В РАЗЛИЧНЫХ ЭТАПАХ ТРАНСКРИПЦИИ ГЕНА *HSP70 DROSOPHILA MELANOGASTER*

Деревянко П.К., Воробьева Н.Е., Мазина М.Ю.

ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

*derevyanko.polina.k@gmail.com*

ДНК эукариотических организмов за счет взаимодействия с белками образует сложную структуру, называемую хроматином. Основой данной структуры является нуклеосома, образованная комплексом из 8 гистонов и охватывающих их петли ДНК. Упаковка ДНК в нуклеосомы затрудняет процессы транскрипции и репликации, протекающие в ядре. Поэтому изменение структуры хроматина является важным регуляторным механизмом, используемым клеткой для активации/репрессии соответствующих процессов. Достаточно давно было обнаружено, что промоторы активных генов представляют собой области генома, свободные от нуклеосом. Было показано, что белковые комплексы, ремоделирующие хроматин, привлекаются к промоторным областям генов, приводя к освобождению соответствующих участков от занимаемых ими нуклеосом, и активации транскрипции. Ранее нами было обнаружено, что SWI/SNF комплекс, ремоделирующий хроматин, привлекается не только на промотор активно работающих генов, но и на их кодирующую область. Мы также продемонстрировали участие SWI/SNF комплекса в процессе перехода комплекса РНК полимеразы II из инициации в стадию элонгации транскрипции. Настоящая работа была направлена на выявление других участников процесса элонгации транскрипции среди белковых комплексов, ремоделирующих хроматин, в системе индукцибельного гена *hsp70*, активируемого тепловым шоком. Мы обнаружили, что только CHD1 и INO80 коактиваторные комплексы (среди исследованных нами) присутствуют на промоторе гена *hsp70* в его неактивном состоянии. Активация транскрипции данного гена тепловым шоком приводила к росту уровня связывания CHD1 с промотором, а также к привлечению в данную область коактиваторов NURF, Mi-2 и Kismet. Уровень связывания всех исследованных нами коактиваторов, ремоделирующих хроматин, возрастал в кодирующей области гена вследствие активации его транскрипции. Мы полагаем, что все изученные нами коактиваторные комплексы

(NURF, CHD1, Kismet, Mi-2 и INO80) связываются с промотором активно работающего гена *hsp70* и мигрируют в кодирующую область гена вместе с элонгирующей РНК полимеразой II. Можно предположить, что некоторые из данных коактиваторных комплексов играют важную роль в стимуляции процесса перехода комплекса РНК-полимеразы II из стадии инициации в элонгацию.

Данная работа была поддержана грантом Российского научного фонда №14-14-01032.

### **ЛЕНТИВИРУСНАЯ СИСТЕМА ЭКСПРЕССИИ GFP ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИБЛИОТЕК ГЕНОМНЫХ АКТИВАТОРОВ ТРАНСКРИПЦИИ**

**Дидыч Д.А.**

ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и  
Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

*dmitrydid@gmail.com*

Исследование активности и клеточной специфичности геномных активаторов транскрипции вне их геномного окружения является основой для создания искусственных систем экспрессии генов с заданной клеточной специфичностью. Начальной стадией создания таких систем является получение библиотек фрагментов генома, обогащенных геномными активаторами транскрипции. Для отбора геномных активаторов транскрипции мы планируем использовать массивированный параллельный функциональный анализ фрагментов ДНК, основанный на способности активаторов усиливать экспрессию репортерного гена зеленого флуоресцентного белка (GFP). Нами был сконструирован базовый лентивирусный вектор, содержащий ген GFP под контролем минимального промотора цитомегаловируса, а также кассету с геном устойчивости к пуромицину под контролем промотора *mPgc-1*, предназначенную для селекции трансдуцированных клеток. В прилегающую к 5-концу минимального промотора область была введена последовательность, предназначенная для клонирования анализируемых фрагментов ДНК и содержащая набор уникальных сайтов рестрикции, фланкированный участками отжига специфичных праймеров. Встраивание в вектор активатора будет приводить к усилению экспрессии гена GFP в трансдуцированных клетках, которые будут подвергаться отбору с помощью FACS-сортировщика. На основе базового вектора был получен контрольный вектор, содержащий энхансер цитомегаловируса. Функциональность базовой и контрольной конструкций была подтверждена экспериментально. Для этого были получены вирусные частицы и проведена трансдукция клеток эпидермоидной карциномы A-431. После селекции на пуромицине трансдуцированные популяции клеток анализировали с использованием проточного цитофлуориметра. Показано, что в области верхних значений интенсивности флуоресценции, где детектируется 95 процентов GFP-позитивных клеток контрольной популяции, находится не более 1,3 процентов GFP-позитивных клеток популяции, трансдуцированной базовым вектором. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-04-01752 а.

### **IGF2BP1 – ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ РЕГУЛЯТОР ЭКСПРЕССИИ YB-1**

**Доронин А.Н., Лябин Д.Н., Овчинников Л.П.**

ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия

*venom-13@yandex.ru*

YB-1 (Y-box binding protein 1, Y-бокс связывающий белок 1) – многофункциональный ДНК/РНК связывающий белок, принимающий участие в транскрипции, сплайсинге, репарации, трансляции, упаковке мРНК в мРНК комплексы. Количество YB-1 в клетке критично для ее нормального развития и функционирования. Повышенный уровень YB-1 характерен для многих типов злокачественных опухолей, ассоциирован с множественной лекарственной устойчивостью и является плохим прогностическим признаком. Количество мРНК *YB-1* в различных типах клеток не коррелирует с количеством кодируемого ей белка, что свидетельствует о наличии системы регуляции экспрессии гена *YB-1* на посттранскрипционном уровне. Однако, на этом уровне механизмы регуляции синтеза YB-1 в клетке изучены плохо.

Обычно регуляция трансляции осуществляется через специфичное связывание белков-регуляторов с 3'НТО (3' нетранслируемой областью) мРНК. Мы идентифицировали 18 белков – потенциальных регуляторов экспрессии гена *YB-1*, при помощи аффинной хроматографии лизатов различных клеток млекопитающих с иммобилизованной на смоле РНК, содержащей 3'НТО мРНК *YB-1*, и последующей идентификацией связавшихся с РНК белков методом масс-спектрометрии. Согласно литературным данным, один из идентифицированных белков, IGF2BP1 (Insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 1; белок 1, связывающий мРНК инсулин подобного фактора роста 2), регулирует уровень экспрессии ряда генов при взаимодействии с 3'НТО их мРНК. С помощью описанного выше метода аффинной хроматографии и последующего иммуноблоттинга мы подтвердили взаимодействие IGF2BP1 с 3'НТО мРНК *YB-1* в лизатах клеточных линий HeLa и HEK293T. С помощью рекомбинантного IGF2BP1, выделенного из *E.coli*, мы

определили, что IGF2BP1 взаимодействует с 3'НТО мРНК *УВ-1* независимо от других белков. Попытка определить участок 3'НТО мРНК *УВ-1*, с которым взаимодействует IGF2BP1, показала, что взаимодействие обусловлено в большей степени структурой, а не последовательностью РНК.

Исследование выполняется при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-34-00104 мол\_а.

### ТРАНСКРИПЦИОННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ГЕНА 1-АМИНОЦИКЛОПРОПАН-1-КАРБОКСИЛАТДЕЗАМИНАЗЫ У *METHYLOBACTERIUM RADIOTOLERANS* JCM2831

Екимова Г.А.<sup>1,2</sup>, Панкратова К.М.<sup>3</sup>, Федоров Д.Н.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушино, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов РАН, Пушино, Россия; <sup>3</sup>ФГАОУ ВПО Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

*ekimova\_g@mail.ru*

Одним из способов воздействия бактерий на растения является повышение их устойчивости к неблагоприятным факторам путем снижения уровня стрессового гормона этилена, посредством деградации его предшественника 1-аминоциклопропан-1-карбоновой кислоты (АЦК). Фермент АЦК-дезаминаза катализирует гидролиз АЦК до неактивных  $\alpha$ -кетобутирата и ионов аммония. Ген АЦК-дезаминазы (*acdS*) и активность фермента обнаружены у многих бактерий различного таксономического положения, ассоциированных с растениями, в том числе у *Methylobacterium radiotolerans*, розовоокрашенного факультативного метилотрофа. Нами обнаружено, что выше структурного гена *acdS* дивергентно располагается ген *acdR*, кодирующий предположительный транскрипционный регулятор из LRP- семейства.

В настоящее время изучены гены и охарактеризованы АЦК-дезаминазы нескольких микроорганизмов, а регуляция транскрипции гена *acdS* исследована только у *Pseudomonas putida* UW4, поэтому целью нашей работы стало изучение транскрипционной регуляции гена *acdS*, кодирующего АЦК-дезаминазу у *M. radiotolerans* JCM 2831.

<sup>32</sup>P-меченый ПЦР-фрагмент, содержащий промоторно-операторный участок гена *acdS*, и очищенный рекомбинантный белок AcdR использовали в экспериментах по образованию комплексов AcdR-ДНК в присутствии АЦК. Установлено, что добавление рекомбинантного белка AcdR приводит к уменьшению электрофоретической подвижности специфического ПЦР-фрагмента в присутствии гетерологичной ДНК и АЦК. Показано, что АЦК служит низкомолекулярным эффектором белка-регулятора. Выявлено, что при низких концентрациях АЦК связывание происходит с кооперативным эффектом, свидетельствующим о том, что AcdR является мультимерным белком. Комплекс ДНК-AcdR-АЦК характеризовался довольно высокой стабильностью, поскольку он не разрушался в течение 30 минут, а время полураспада составило 1 час.

Для подтверждения участия AcdR в регуляции *acdS* получены делеционные и комплементированные мутанты по этим генам, которые были протестированы на наличие АЦК-дезаминазной активности. Активность фермента у делеционных мутантов по обоим генам не обнаружена, как и у штаммов, комплементированных исходной плазмидой. В случае комплементации плазмидами, несущими соответствующие гены, активность фермента восстановилась.

Таким образом, впервые показано, что белок AcdR является активатором транскрипции гена *acdS* у *M. radiotolerans* JCM2831 в присутствии эффектора АЦК.

Работа поддержана грантом №2765 в рамках базовой части ГЗ в сфере научной деятельности по заданию №2014/281.

### ВЛИЯНИЕ РНК ИНТЕРФЕРЕНЦИИ ГЕНОВ НЕЙРОПЕПТИДОВ НА СКОРОСТЬ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЛАНАРИЙ *SCHMIDTEA MEDITERRANEA*

Крещенко Н.Д.<sup>1</sup>, Ермаков А.М.<sup>2</sup>, Бондаренко С.М.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пушино, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушино, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВПО Томский национальный исследовательский государственный университет, Томск, Россия

*ao\_ermakovy@rambler.ru*

Исследовали эффекты РНК интерференции генов нейропептидов семейства NPY/NPF-подобных на регенерацию головного конца тела планарий. мРНК выделяли, используя набор на магнитных частицах (Sileks, Russia). кДНК синтезировали и использовали в качестве матрицы для ПЦР в реальном времени. Ген-специфические праймеры подбирали с помощью программы Primer Express (Applied Biosystems, USA). Синтез дцРНК осуществляли с помощью ДНК-зависимой РНК-полимеразы фага T7 (Fermentas, США). Полученную дцРНК смешивали с красителем – феноловым красным (Sigma, США) и вводили микроинъектором Nanoject II Auto-Nanoliter (Drummond, США) в предглоточную область тела планарии в объеме 3х32нл, двумя раундами один раз в день, в течение трех дней. Животным контрольной группы

производили инъекции красителя в том же объеме, концентрации и том же режиме. Через 2 дня от последней инъекции планарий декапитировали и оставляли для регенерации. На третий день регенерации измеряли площадь головной бластемы и определяли индекс регенерации  $R=s/S$ , где  $s$  - площадь бластемы,  $S$  - площадь тела. Результаты усреднялись по трем экспериментам, по 30 животных в каждом. Эффективность РНКи оценивали по изменению уровня экспрессии исследуемых генов с помощью ПЦР в реальном времени. Для верификации значимости наблюдаемых различий использовали дисперсионный однофакторный анализ ANOVA.

Введение дцРНК к генам нейропептидов NPY4 и NPY9 приводило к существенному уменьшению площади головной регенерационной бластемы на 3 сут после декапитации планарий. Величина эффектов составила  $21\pm 6,7\%$  РНКи NPY4 и  $27,5\pm 6,6\%$  в случае с РНКи NPY9 ( $p<0,001$ ). Напротив, РНКи гена нейропептида NPY10 и суммарная интерференция всех 4-х исследуемых генов у планарий приводила к формированию увеличенной бластемы на  $30,4\pm 6,9\%$  и  $18,8\pm 8,4\%$  соответственно, по сравнению с величиной регенерационной бластемы в контроле.

Итак, возможность интерференции генов исследуемых нейропептидов и факт влияния их интерференции на регенерацию планарий, может указывать на важную роль данных пептидов в регуляции процессов регенерации. (Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 15-04-05948а).

### **АНАЛИЗ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ВСТАВКИ LIS-1 У РАСТЕНИЙ «ЛОЖНЫХ ТРАНСФОРМАНТОВ» ЛЬНА-ДОЛГУНЦА**

**Железнякова Е.В., Мазур О.Ч.**

ГНУ Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Белоруссия

*alena.zh.v@yandex.ru*

При адаптации к определенным стрессовым факторам окружающей среды в некоторых линиях и сортах льна-долгунца происходят наследуемые изменения генома, которые связаны с появлением вставки LIS-1. Существуют пластичные линии и сорта льна, в которых присутствует и стабильно наследуется данная вставка, однако механизм наследования на сегодняшний день малоизучен. При воздействии стрессовых условий вставка «собирается» из коротких нуклеотидных последовательностей, рассредоточенных по геному. Фрагмент LIS-1 имеет размер 5,7 kb и встраивается в определенную целевую последовательность генома единичной копией. В LIS-1 не найдено больших открытых рамок считывания и гомологии с транспозонами или другими мобильными элементами.

В качестве материала для исследований использовали две линии «ложных трансформантов» EsV-1 и EsB-1 полученные ранее в ходе проводимых экспериментов по генетической трансформации сортов льна-долгунца белорусской селекции Белита и Василек. Трансформация льна с последующей регенерацией проводилась в условиях *in vitro*. Побочным эффектом трансгенеза стало появление растений, выросших на селективной среде, но не несущих в своем геноме трансгенной вставки, и называемых «ложные трансформанты» (англ. «escapes»).

В ходе исследования был проведен молекулярно-генетический анализ растений линий «ложных трансформантов» EsV-1 и EsB-1. Получен положительный результат амплификации с праймерами к 5'-концу вставки LIS-1. Продукт амплификации размером 416 п.н. был проанализирован с помощью секвенирования. Полученные последовательности сравнили с последовательностью фрагмента встройки по базе данных NCBI. Анализ показал 98 – 100% совпадение полученных нами последовательностей с нуклеотидными последовательностями по базе GeneBank NCBI с номерами AF 300797.1 (DEFINITION *Linum usitatissimum* LIS-1 5' insertion-site flanking sequence), AF 104351.1 (*Linum usitatissimum* LIS-1 insertion sequence) и AF 104352.1. (*Linum usitatissimum* progenitor LIS-1 insertion-site flanking sequence).

LIS-1 является одним из наиболее эффективных молекулярных маркеров для выявления форм льна-долгунца с высокой пластичностью генома и повышенной адаптационной способностью. Генотипы, имеющие вставку LIS-1, заслуживают особого внимания при дальнейших исследованиях механизмов адаптации льна к неблагоприятным факторам внешней среды.

### **ГЕНЕТИЧЕСКОЕ КАРТИРОВАНИЕ СИМБИОТИЧЕСКИХ ГЕНОВ ГОРОХА (*PISUM SATIVUM* L.) ПРИ ПОМОЩИ ГЕН-СПЕЦИФИЧНЫХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ**

**Жернаков А.И., Жуков В.А., Клюкова М.С., Сулима А.С., Крюков А.А., Ахтемова Г.А.,  
Борисов А.Ю., Тихонович И.А.**

ФГБУН Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии,  
Санкт-Петербург, Россия

*lab9site@gmail.com*

Горох посевной (*Pisum sativum* L.) образует азотфиксирующий симбиоз (АФС) с клубеньковыми бактериями (ризобиями). Мутационный анализ позволил выявить у гороха более 40 регуляторных генов, необходимых для развития АФС. Необходимым этапом в работе по идентификации последовательностей

генов гороха посевного, затронутых мутациями, является генетическое картирование этих генов. Использование для картирования генов гороха ген-специфичных молекулярных маркеров позволяет проводить сопоставление полученных карт с физической картой секвенирования генома близкородственного бобового растения люцерны слабоусеченной (*Medicago truncatula* Gaertn.) для последующего поиска генов-кандидатов и идентификации последовательностей изучаемых генов.

В работе проведено точное картирование генов *Sym25*, *Sym26* и *Sym42* на выборках поколения F<sub>2</sub>. Для создания ген-специфичных молекулярных маркеров была использована информация о последовательностях транскриптов клубеньков гороха линий Finale, Frisson (исходные линии для мутантов RisFixV (*sym42*) и P61 (*sym25*), P63(*sym26*)) и NGB1238 (партнер для скрещивания), полученная при помощи секвенирования «следующего поколения». Поскольку приблизительная локализация генов интереса в геноме была известна, для точной локализации были выбраны ген-специфичные маркеры из IV, V и VI групп сцепления гороха. Транскрипты, гомологичные этим маркерам, были найдены в транскриптомах клубеньков указанных линий, охарактеризованных ранее в лаборатории Генетики растительно-микробных взаимодействий ФГБНУ ВНИИСХМ, и в их последовательностях были идентифицированы сайты однонуклеотидного полиморфизма. Эти сайты были конвертированы в маркеры типа CAPS – cleaved amplified polymorphic sequences, – которые и были использованы для точного картирования генов *Sym25*, *Sym26* и *Sym42*.

На текущий момент создано 14 ген-специфичных молекулярных маркеров, использованных для точного генетического картирования симбиотических генов *Sym25*, *Sym26* и *Sym42* гороха посевного. В результате изучаемые гены локализованы в пределах районов протяженностью 1-2 сМ, что позволяет проводить поиск генов-кандидатов в геноме люцерны слабоусеченной.

Исследование поддержано грантами РФФ (14-24-00135 и 16-16-00118) и РФФИ (14-04-01442, 15-29-02737 и 16-04-01859).

#### ДВЕ ПОЛИМЕРАЗЫ ОДНОГО ФАГА: ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ВРНКП РНКЗ

Живкоплас Э.К.<sup>1</sup>, Артамонова Т.О.<sup>2</sup>, Якунина М.В.<sup>2</sup>, Северинов К.В.<sup>2,3,4</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО

Санкт-Петербургский государственный политехнический университет им. Петра Великого,

Санкт-Петербург, Россия; <sup>3</sup>АНОО ВПО Сколковский институт науки и технологий, Сколково, Россия;

<sup>4</sup>The Waksman Institute of Microbiology, Rutgers University, New Jersey, USA

*e.zhivkoplas@spbu.ru*

Бактериофаг phiKZ, являющийся дцДНК вирусом бактерий вида *Pseudomonas aeruginosa*, обладает особенным, нехарактерным для вирусов данной группы способом транскрипции. Ранее было установлено, что транскрипция собственных генов phiKZ осуществляется без участия полимеразы клетки-хозяина на всех стадиях развития инфекции. В геноме данного фага закодированы две собственные мультисубъединичные неканонические ДНК-зависимые РНК-полимеразы (РНКП): вирионная (вРНКП) и невирионная (нвРНКП), которые, вероятно, и осуществляют транскрипцию генов фага на всех стадиях развития инфекции. В нашей лаборатории была выделена и частично охарактеризована нвРНКП, отвечающая за синтез поздних генов. Задачей представленной работы стало изучение вРНКП.

Методами биоинформатики были предсказаны 4 субъединицы вРНКП, которые являются частичными гомологами β и β' субъединиц бактериальной РНКП, так же как и 4 субъединицы нвРНКП. Однако степень родства фаговых РНКП оказывается весьма низкой. Ранее было предположено, что, по-видимому, вРНКП поступает внутрь клетки вместе с ДНК фага из вирионов и отвечает за транскрипцию ранних генов. Для исследования динамики количества вРНКП в ходе инфекции были получены антитела против одной из ее субъединиц. Также был проведен полуколичественный анализ содержания вРНКП в вирионе и на разных стадиях инфекции. Было показано, что вРНКП появляется сразу в начале инфекции, и ее количество остается неизменным на ранней стадии, после чего начинается синтез новых субъединиц для последующей упаковки в фаговые частицы. Полученные антитела также были использованы для проведения опытов по ко-иммунопреципитации вРНКП-комплекса на разных стадиях инфекции.

#### ТРАНСКРИПТОМИКА АЗОТФИКСИРУЮЩИХ КЛУБЕНЬКОВ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM* L.)

Жуков В.А., Жернаков А.И., Кулаева О.А., Борисов А.Ю., Тихонович И.А.

ФГБУН Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии,  
Санкт-Петербург, Россия

*zhukoff01@yahoo.com*

Азотфиксирующий симбиоз, образуемый бобовыми растениями, является примером очень специфичных симбиотических взаимоотношений, в ходе которых наблюдается тесная генетическая и метаболическая интеграция партнеров. На корнях растений формируются специализированные органы

(клубеньки), которые заселяются симбиотическими бактериями, фиксирующими атмосферный азот. Этот процесс протекает под строгим контролем со стороны растения.

Горох посевной (*P. sativum* L.), являющийся ценной сельскохозяйственной культурой, обладает сложноорганизованным геномом, секвенирование которого пока не осуществлено. Однако, технологии секвенирования следующего поколения (Next-generation sequencing, NGS) предоставляют возможность изучения тотальной экспрессии генов даже у видов с недостаточной информацией о геномной организации. Использование РНК-секвенирования для тотального анализа экспрессии генов позволяет изучить генетические основы азотфиксирующего симбиоза у гороха.

В данной работе были исследованы транскрипционные профили симбиотических клубеньков серии мутантов гороха с нарушениями последовательных стадий развития клубеньков при помощи секвенирования транскриптома на приборе Illumina HiSeq2000 с использованием технологии MACE (MASSive Analysis of cDNA Ends). Технология состоит в секвенировании небольшого фрагмента, соответствующего каждой молекуле мРНК, и является более чувствительной, чем обычное РНК-секвенирование. Профили дифференциальной экспрессии были проанализированы в комбинациях «дикий тип - мутант», а также в сравнении некоторых мутантов друг с другом. В результате были идентифицированы биологические процессы, нарушенные у различных мутантов, что проясняет детальную роль симбиотических генов, затронутых мутациями, в развитии и функционировании клубеньков.

Исследование поддержано грантами РФФ (14-24-00135 и 16-16-00118) и РФФИ (14-04-01442, 15-29-02737 и 16-04-01859).

### **ВЛИЯНИЕ ДНК-ИНСЕКТИЦИДОВ НА АКТИВНОСТЬ ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ И КОНЦЕНТРАЦИЮ ГЛЮКОЗЫ В ЛИСТЯХ *QUERCUS ROBUR* И ПРОРОСТКАХ *MALUS DOMESTICA***

**Зайцев А.С., Ниадар П.М., Оберемок В.В.**

ФГАОУ ВО Таврическая академия Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского, Симферополь, Россия

*zaycevf@mail.ru*

Наши исследования в области разработки ДНК-инсектицидов показывают, что примененные наружно 18-нуклеотидные одноцепочечные фрагменты ДНК доменов BIR (baculoviral IAP repeat, бакуловирусный антиапоптозный повтор) и RING (really interesting new gene, по-настоящему интересный новый ген) антиапоптозного гена IAP-3 вируса ядерного полиэдроса, приводят к гибели его хозяина – гусениц непарного шелкопряда (*Lymantria dispar* L.) на 3-14 день после обработки при использовании в среднем 3 нг ДНК на 1 мг массы гусеницы. Проведённые нами эксперименты указывают на то, что гибель насекомого возникает в результате блокировки механизмов посттранскрипционной экспрессии антиапоптозных генов насекомого. Тонкие детали механизма действия ДНК-инсектицидов изучаются нами в настоящее время. Особенно актуально стоит вопрос безопасности ДНК-инсектицидов для нецелевых насекомых и растений. Мы обнаружили, что в группе «RING» через 24 часа после обработки листьев дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) и проростков яблони домашней (*Malus domestica* Borkh.) ДНК-фрагментами в концентрации 5 пмоль/см<sup>2</sup> листа возникает достоверное снижение концентрации глюкозы ( $p < 0,01$ ) в листьях дуба и достоверное снижение активности щелочной фосфатазы ( $p < 0,05$ ) в листьях проростков яблони по сравнению с контролем. На седьмой день эксперимента достоверных различий между экспериментальными группами и контрольными значениями не было обнаружено. Данные результаты указывают на вызванный ДНК-инсектицидами кратковременный побочный эффект на исследованные растения, который исчезает на седьмой день. Обладая высокой избирательностью, быстродействием и относительной доступностью ДНК-инсектициды имеют большой потенциал в будущем заменить химические инсектициды.

### **ПОИСК АМИЛОИДОГЕННЫХ БЕЛКОВ ЧЕЛОВЕКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОДЕЛИ ДРОЖЖЕЙ**

**Зелинский А.А.<sup>1</sup>, Романова Н.В.<sup>1</sup>, Бондарев С.А.<sup>1</sup>, Декнер З.<sup>2</sup>, Каява А.В.<sup>3</sup>, Рубель А.А.<sup>1</sup>, Чернов Ю.О.<sup>1,2</sup>**  
<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>Georgia Institute of Technology, Atlanta, USA; <sup>3</sup>Université Montpellier, Montpellier, France

*andrew\_zelinsky@mail.ru*

Целый ряд неизлечимых нейродегенеративных заболеваний человека (болезни Альцгеймера, Паркинсона, Хантингтона и др.) связаны с накоплением токсичных самособирающихся высоко структурированных белковых агрегатов – амилоидов. На сегодня известно около 50 амилоидных заболеваний, причём растёт число амилоидов, для которых показаны прионовые свойства, то есть



способность передаваться между клетками или даже организмами. Не все амилоиды и амилоидоподобные полимеры патогенны: для ряда из них показано участие в различных адаптивных биологических процессах, в частности, в долговременной памяти. Поиск новых амилоидогенных белков позволяет пролить свет на механизмы образования и передачи амилоидогенной конформации, а также биологическую роль амилоидогенности.

В экспериментах *in vitro* многие белки проявляют амилоидогенные свойства. Однако изучение и поиск новых амилоидов у человека *in vivo* затруднен в связи со сложной организацией человеческого организма. В нашей работе для поиска новых амилоидогенных белков человека мы используем модель дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, у которых есть эндогенные прионы с легко детектируемым фенотипом. Ранее мы показали, что сверхпродукция химерного белка, состоящего из амилоидогенного белка человека и прионного домена дрожжевого белка Sup35, приводит к нуклеации эндогенного Sup35 и появлению прионного состояния в клетках дрожжей в отсутствие предсуществующих прионов. Мы используем эту систему для поиска новых амилоидогенных белков человека, а также применяем обширный арсенал фенотипических и биохимических методов анализа амилоидогенных состояний, разработанных ранее для прионной формы белка дрожжей Sup35, для последующей характеристики этих белков. В данной работе, мы приводим результаты экспериментального анализа амилоидогенности некоторых белков человека, предсказанных биоинформатическим алгоритмом ArchCandy.

(Работа поддержана грантом РФФИ 15-04-08159 и грантом РНФ 14-50-00069. Авторы выражают благодарность ресурсным центрам СПбГУ «Хромас» и «Молекулярные и клеточные технологии» за техническую поддержку).

### **РНК-ШАПЕРОННАЯ АКТИВНОСТЬ БЕЛКОВ С ДОМЕНОМ ХОЛОДОВОГО ШОКА ИЗ РАСТЕНИЯ *EUTREMA SALSUGINEUM***

**Злобин Н.Е.<sup>1</sup>, Таранов В.В.<sup>1</sup>, Евлаков К.И.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия; <sup>2</sup>ЗАО "Синтол", Москва, Россия

*orbddd@yandex.ru*

Приобретение клеточными РНК нативных функциональных конформаций – сложный процесс, требующий участия большого количества различных белков, относящихся к группе так называемых РНК-шаперонов. РНК-шапероны дестабилизируют промежуточные вторичные структуры, образующихся в процессе фолдинга РНК, способствуя принятию молекулами РНК наиболее термодинамически устойчивых конформаций, которые как правило и являются функционально активными. Характерными функциональными особенностями РНК-шаперонных белков являются низкая специфичность взаимодействия с РНК, а также отсутствие необходимости в присоединенном белке после того, как фолдинг молекулы РНК завершен. Наличие РНК-шаперонной активности показано для большого количества белков, обнаруженных в различных организмах и принадлежащих к эволюционно неродственным белковым семействам.

Существующие методы определения РНК-шаперонной активности отличаются достаточно высокой сложностью, что ограничивает их применение. Нами была разработана простая методика с использованием искусственно синтезированных флуоресцентно меченых олигонуклеотидов, позволяющая количественно характеризовать РНК-шаперонную активность белков *in vitro*. С помощью этой методики была исследована РНК-шаперонная активность белков с доменом холодового шока *EsCSDP1*, *EsCSDP2*, *EsCSDP3* растения *Eutrema salsugineum*. Эти белки состоят из высококонсервативного домена холодового шока в N-концевой части и протяженного С-концевого участка, содержащего несколько (от 2 до 7) мотивов «цинковый палец» ССНС-типа. Было установлено, что все три белка обладают РНК-шаперонной активностью, которая проявлялась в отношении олигонуклеотидов с различной последовательностью и структурой. Кроме того, путем обработки реакционной смеси протеазой было доказано, что наличие белков необходимо только на этапе приобретения олигонуклеотидами определенных конформаций и не требуется для их поддержания. Дальнейший анализ с использованием делеционных (укороченных) вариантов этих белков показал, что проявление РНК-шаперонной активности в большей степени определяется С-концевой частью этих белков и зависит от количества мотивов «цинковый палец». На основании полученных экспериментальных данных была построена модель, описывающая взаимодействие между белками с доменом холодового шока и вторичными структурами в нуклеиновых кислотах.

Работа поддержана грантом РФФИ №14-04-00816

## ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ ФАКТОР FRA1 В РЕГУЛЯЦИИ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ И МИГРАЦИИ КЕРАТИНОЦИТОВ ПРИ ВОСПАЛЕНИИ

Золотаренко А.Д.<sup>1</sup>, Сорокина К.С.<sup>2</sup>, Мезенцев А.В.<sup>1</sup>, Брускин С.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И.Вавилова РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет - МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия

*zalenkainbox@gmail.com*

Кожа человека – важный барьерный орган, который защищает организм от инвазии патогенов, химических и физических повреждений, и в целом помогает поддерживать гомеостаз организма. Основным типом клеток в коже являются кератиноциты, которые, постепенно созревая, формируют плотный защитный слой – роговой слой эпидермиса. Кроме того, они активно участвуют в иммунной защите, продуцируя широкий спектр цитокинов, хемокинов и ростовых факторов. Нарушения пролиферации и дифференцировки кератиноцитов приводят к развитию различных заболеваний – опухолей, воспалительных заболеваний кожи (таких, как псориаз), а также к нарушению заживления ран и общей барьерной функции кожи.

Одним из регуляторов пролиферации и дифференцировки кератиноцитов является суперсемейство транскрипционных факторов AP-1. Ранее мы показали изменения экспрессии некоторых членов семейства (*JUN*, *C-Fos*, *FRA1*) в коже при псориазе, а также при помощи полногеномного секвенирования транскриптома и биоинформатического анализа идентифицировали сигнальные каскады, обогащенные дифференциально экспрессированными при псориазе генами, которые регулируются транскрипционным фактором FRA1.

В данной работе с использованием сверхэкспрессии и ингибирования экспрессии гена *FRA1* при помощи РНК-интерференции в кератиноцитах линии HaCaT были выявлены гены-мишени данного транскрипционного фактора, которые играют важную роль в нарушенных при псориазе процессах дифференцировки, пролиферации и миграции кератиноцитов. Выявлено, что FRA1 в кератиноцитах регулирует экспрессию генов циклинов, генов матриксных металлопротеаз, а также участвует в регуляции процесса эпителиально-мезенхимального перехода, который обуславливает эпителиально-мезенхимальную пластичность эпителиальных клеток. Помимо важной роли данного процесса в заживлении ран, эпителиально-мезенхимальный переход является ключевым в опухолевой прогрессии и метастазировании.

Таким образом, в данной работе идентифицированы гены-мишени FRA1, которые участвуют в образовании характерных повреждений кожи при псориазе. Активация FRA1, наблюдаемая при псориазе, приводит к повышению экспрессии матриксных металлопротеаз, интенсивно ремоделирующих внеклеточный матрикс, к гиперпролиферации кератиноцитов, а также к активации программы эпителиально-мезенхимального перехода, при которой кератиноциты начинают экспрессировать мезенхимальные маркеры, что приводит к более активной миграции данных клеток.

## JUN - НЕГАТИВНЫЙ РЕГУЛЯТОР NFE2L2 И ЕГО ГЕНОВ-МИШЕНЕЙ CBR3, FTH1, SQSTM1 В КЛЕТКАХ HELA

Золотухин П.В.<sup>1</sup>, Беланова А.А.<sup>1</sup>, Хренкова В.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГАОУ ВПО Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия

*p.zolotukhin@icloud.com*

Композитный каскад NFE2L2/AP-1 контролирует экспрессию многих важнейших ферментов антиоксидантной и детоксификационной защиты клетки. Из-за чрезвычайно выраженных различий в регуляции AP-1- и NFE2L2-центрической ветвей этого каскада, эти ветви иногда рассматриваются как отдельные каскады. Однако транскрипционные факторы этих двух каскадов - близкородственные белки, часто образующие различные гетеродимеры внутри своего семейства, а также гетеро- и олигодимеры с другими белками. Кроме того, AP-1 и NFE2L2 связываются с очень похожими сайтами связывания транскрипционных факторов - TRE и ARE, соответственно, причем TRE часто входит в более длинный и вариативный ARE. По этим причинам гены-мишени NFE2L2 могут одновременно с высокой вероятностью являться мишенями AP-1.

В связи с этим сегодня актуальным становится вопрос о том, зависим ли от AP-1 контроль классических мишеней NFE2L2, особенно в случаях, когда функциональный ARE таких генов содержит TRE.

Целью настоящего исследования стало установление перекрестной активности каскадов AP-1 и NFE2L2 в условиях смещения окислительного статуса в клетках человека.

Исследование выполнено на клетках HeLa, обработанных перекисью водорода в конечной концентрации 400 мкМ в течение 24 ч. Анализ эффективности генетического нокада и экспрессии

исследуемых генов проводился методом обратнo-транскрипционной количественной ПЦР. Статистическая обработка результатов проводилась в SPSS 22.

По результатам проведенного исследования было установлено, что разработанные нами РНК-интерференционные дуплексы в концентрации 10 нМ снижают экспрессию JUN на 60-70%. Генетический нокдаун JUN этими siRNA приводит к повышению на 100-400 % экспрессии NFE2L2-зависимых генов CBR3, FTH1 и транскрипт-варианта 1 SQSTM1. Нокдаун JUN в клетках HeLa в условиях воздействия перекисью водорода 400 мкМ также приводит к повышению экспрессии NFE2L2. Таким образом, в результате проведенных исследований выявлено, что работа нескольких классических генов-мишеней NFE2L2 зависима от JUN-компонента активаторного белка 1: генетический нокдаун JUN повышал экспрессию CBR3, FTH1, транскрипта 1 SQSTM1. JUN также оказался негативным регулятором NFE2L2 в исследуемой клеточной модели. Эти данные проливают свет на фундаментальные закономерности работы композитного каскада NFE2L2/AP-1, интерактомные уровни разобщения ветвей этого каскада и негативную зависимость конкретных мишеней NFE2L2 от JUN. В свою очередь эта информация в дальнейшем будет использована для разработки и совершенствования интерактомных технологий диагностики, фармакологии и персонализированной медицины.

### **АНАЛИЗ ГАПЛОТИПОВ ХРОМОСОМЫ 13 С МАЖОРНЫМИ МУТАЦИЯМИ (p.W172C, IVS1+1G>A, c.235delC) ГЕНА GJB2 У КОРЕННОГО НАСЕЛЕНИЯ ЮЖНОЙ СИБИРИ (ТУВИНЦЫ И АЛТАЙЦЫ)**

**Зыцарь М.В.<sup>1</sup>, Бады-Хоо М.С.<sup>1,2</sup>, Михальская В.Ю.<sup>1</sup>, Бондарь А.А.<sup>3</sup>, Морозов И.В.<sup>4,3</sup>, Барашков Н.А.<sup>5,6</sup>, Посух О.Л.<sup>1,4</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия; <sup>2</sup>ГБУЗ РТ Перинатальный центр Республики Тыва, Кызыл, Россия; <sup>3</sup>ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия; <sup>4</sup>ФГБОУ ВПО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия; <sup>5</sup>ФГБНУ Якутский научный центр комплексных медицинских проблем, Якутск, Россия; <sup>6</sup>ФГАОУ ВПО Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, Якутск, Россия

Zytzar@bionet.nsc.ru

Различные регионы мира отличаются спецификой мутационного спектра гена *GJB2* (Cx26, 13q11-q12), мутации которого вносят наибольший вклад в этиологию наследственной потери слуха. Выявление наиболее часто встречающихся (мажорных) мутаций гена *GJB2* и оценка их частоты в популяциях различного этнического происхождения важно как для медико-генетических исследований, так и для реконструкции эволюционной истории этих популяций. Исследования в Тыве и на Алтае показали, что мажорными для коренного населения этих регионов Южной Сибири (тувинцев и алтайцев) являются три рецессивные мутации гена *GJB2*: p.W172C, IVS1+1G>A и c.235delC. В предположении ключевой роли эффекта основателя в их распространенности в изолированных, но территориально близких, популяциях тувинцев и алтайцев, была проведена реконструкция предковых гаплотипов, включающих эти мутации. Для реконструкции гаплотипов использовалась информативная панель из 7 STR-маркёров, фланкирующих на разном расстоянии ген *GJB2*, и 9 SNP-маркёров, внутригенных и фланкирующих *GJB2*. Генотипирование маркеров проведено у индивидуумов, гомозиготных по мажорным *GJB2*-мутациям (n=28), и в контрольных выборках тувинцев (n=62) и алтайцев (n=60), не имеющих эти мутации, что позволило выявить разнообразие аллелей используемых генетических маркеров и определить специфические гаплотипы, включающие мажорные мутации гена *GJB2*, у тувинцев и алтайцев.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №15-04-04860 и проекта №0324-2015-0031 Комплексной программы Сибирского отделения РАН II.2.

### **АННОТИРОВАНИЕ ПОЛНОРАЗМЕРНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ПЛАЗМИДЫ 135K BP BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI 110**

**Иевлев Р.С.<sup>1</sup>, Савченко С.С.<sup>1,2</sup>, Шпак И.М.<sup>1,2</sup>, Леденёва М.Л.<sup>2</sup>, Антонов В.А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия; <sup>2</sup>ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Волгоград, Россия

derkategorischeimperativ@mail.ru

*Burkholderia pseudomallei* – это вид грамотрицательных подвижных палочковидных бактерий рода *Burkholderia*. Патогенен для человека и животных, вызывает мелиоидоз, потенциально опасное для жизни заболевание. Геном *B. pseudomallei* представлен двумя хромосомами, большой и малой с разницей в около 1 млн. п.н. На сегодняшний день аннотированные геномы *B. pseudomallei* представлены хромосомными

репликонами, в то время как плазмидных нуклеотидных последовательностей *Burkholderia* в целом и конкретно возбудителя мелиоидоза в генетической базе данных NCBI GenBank опубликовано крайне мало.

Таким образом, целью данной работы является аннотировать полноразмерную последовательность плазмиды *B. pseudomallei* 110, обнаруженной при массовом параллельном секвенировании.

Объектом исследования является нуклеотидная последовательность contig 0001, полученная ранее в результате массового параллельного секвенирования штамма *B. pseudomallei* 110 и идентифицированная с использованием программы BLAST как последовательность, на 89% гомологичная последовательности *Burkholderia* sp. TSV202 plasmid 1. Аннотирование последовательности выполнялось с помощью on-line сервиса RAST.

В программу RAST был загружен контиг в формате FASTA и получен доступ к аннотированным геномам. Аннотация генома производилась путём сравнения с генами, уже имеющимися в базе данных службы RAST. При аннотации плазмиды также было произведено автоматическое исправление ошибок, построена модель метаболизма и удалены ненужные пробелы. В ходе анализа загрузка генома и проверка качества была завершена успешно. Было выявлено 168 функциональных и 4 нефункциональных генов. Редакция качества не потребовалась. Вычисление пар близких гомологов и сходства генома с другими организмами было успешно завершено. При просмотре аннотированного контига бактерии *B. pseudomallei* были выявлены: размер генома: 135627; количество контигов: 1; число подсистем: 7; количество кодирующих последовательностей: 168; количество РНК: 0. В программе SEEDVIEWER была составлена визуализация статистического анализа нуклеотидной последовательности.

В результате проведённого анализа установлено, что большинство генов, найденных в плазмиде возбудителя, отвечают за мембранный транспорт; чуть меньше генов отвечают за деление клеток и клеточный цикл. Также есть гены, отвечающие за запрограммированную клеточную смерть, ДНК метаболизм, метаболизм ароматических соединений и структуру цитоскелета.

#### АНАЛИЗ УЧАСТИЯ АТФ- ЗАВИСИМЫХ ФАКТОРОВ СБОРКИ ХРОМАТИНА В РЕПАРАЦИИ ДНК НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ РАЗВИТИЯ ДРОЗОФИЛЫ

**Ильина Ю.А., Орлянская О.С., Голубев А.М., Конев А.Ю.**

ФГБУ Петербургский институт ядерной физики НИЦ Курчатовский институт, Гатчина, Россия

*ilyina@omrb.pnpi.spb.ru, poltoradnya@inbox.ru*

Ключевым процессом обеспечения стабильности генетического материала является исправление повреждений в молекуле ДНК. Для работы репарационным комплексам необходимо получить доступ непосредственно к молекуле ДНК, что влечет реорганизацию хроматина: "распаковку" в районе повреждения и "сборку" по завершению репарации. Для сборки хроматиновой структуры необходимы энергетические затраты и осуществляется она АТФ-зависимыми хроматин-ассемблирующими факторами (ХАФ) и гистоновыми шаперонами. Показано, что *in vitro* сборка протяженных нуклеосомных последовательностей требует гистоновых шаперонов и/или АТФ-зависимых белки семейств *ISWI* или *CHD1*. Организации геномов как про-, так и эукариот присуща избыточность, которая начинается с кодировки аминокислот и прослеживается до генного уровня. Существует множество комплексов с перекрывающимися функциями. И на сегодняшний день перед исследователями стоит задача по определению времени и места работы каждого из них. Например, у дрозофилы семейство *ISWI*-содержащих факторов представлено 5 комплексами: *NURF*, *CHRAC*, *ACF*, *ToRC* и *dNoRC*, и роль их в репарации полностью еще не изучена. Для изучения их роли в контексте развития сложного многоклеточного организмы мы использовали дрозофилу.

В работу были включены мутанты по генам *Acf1*, *Rsf1* и *toutatis*, кодирующих компоненты *ISWI*-содержащих комплексов, а также *CHD1*. Мы детально проанализировали зависимость "доза-эффект" от 0,5 до 6-часовых эмбрионов с нарушенной функцией *Acf1* после воздействия рентгеновских лучей. Интересно, что на стадиях деления-дробления, т. е. в самом раннем эмбриогенезе, у них была обнаружена крайне высокая радиочувствительность. Полученные нами данные указывают на необходимость фактора *ACF* при репарации двунитевых разрывов (ДР) ДНК в эмбриогенезе дрозофилы. Изучая вовлеченность в репарацию фактора *RSF*, сначала мы оценили УФ-чувствительность эмбрионов и получили достоверное отличие от дикого типа. Сейчас мы анализируем радиочувствительность *Rsf1*-мутантов. Радиочувствительность эмбрионов *tou*-мутантов указывает на то, что он, вероятно, вовлечен в репарацию ДР ДНК по механизму гомологичной рекомбинации, т.е. после 4-часового развития и не привлекается на стадиях деления-дробления. В соответствии с профилями экспрессии генов для личиночной стадии развития дрозофилы была исследована гамма-чувствительность *Chd1*-, *Rsf1*- и *toutatis*-мутантов и получено значимое снижение жизнеспособности только у *Chd1*-мутантов. Из вышесказанного мы заключаем, что участие АТФ-зависимых факторов сборки хроматина в процессах репарации ДНК у дрозофилы зависит от стадии развития организма.

## СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕГУЛЯТОРНОГО Р-II ПОДОБНОГО БЕЛКА GlnK ИЗ *LACTOBACILLUS BREVIS* SUBS. *GRAVESENSIS*

Исхакова З.И., Тарасов Н.В., Каюмов А.Р.

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

*zalinunya@mail.ru*

Несмотря на широкое применение молочнокислых бактерий *Lactobacillus* в производстве молочнокислых продуктов, квашении и силосовании, на сегодняшний день их азотный метаболизм практически не исследован. Поэтому изучение молекулярных механизмов регуляции азотного метаболизма в клетках лактобацилл является актуальной задачей. Предварительный анализ геномов *Lactobacillus brevis* и *Lactobacillus buchneri* выявил наличие гена белка GlnK, гомолог которого в клетках бактерий представляет собой небольшой регуляторный белок, принадлежащий к семейству Р-II белков, участвующих в регуляции азотного метаболизма. Семейство Р-II белков - это семейство сигнальных белков обнаруженные в клетках многих бактерий. Р-II белки распознают метаболические сигналы азотного обмена и передают их на другие белки участвующие в регуляции азотного метаболизма.

Целью работы являлось клонирование, очистка и структурно-функциональная характеристика регуляторного Р-II подобного белка GlnK из *Lactobacillus brevis subsp. gravesensis* ATCC 27305.

Для этого синтезировали ген *glnK* из *L. brevis*. и клонировали в экспрессионный вектор pASK-IBA3. Затем полученную генетическую конструкцию трансформировали в штамм *E.coli* BL21 для гиперпродукции рекомбинантного белка LbrGlnK. В результате очистки на Strep-tactin сефарозе нами было получено 20 мг белка в электрофоретически гомогенном состоянии. Далее исследовали способность белка LbrGlnK к тримеризации методом гель-фильтрации. На хроматограмме идентифицировались три белковых пика, рассчитанные по калибровочному графику молекулярные массы, которых составляли 40.3, 23.5 и 13 кДа, что соответствует три-ди- и мономерному состоянию белка. Также представляло интерес выявить возможные белки-партнеры белка LbrGlnK из *L. brevis*. Для этого проводили PullDown анализ на Strep-tactin сефарозе. В качестве контроля на неспецифическое взаимодействие использовали клеточный экстракт и белок LbrGlnK по отдельности. Как показали результаты анализа, некоторые белковые бэнды в опытной пробе не соответствовали белковым полосам, полученным в контрольных пробах. Следовательно, можно ожидать что белок GlnK из *L.brevis* способен взаимодействовать с отдельными клеточными белками. Следующие исследования будут посвящены идентификации белков-партнеров для взаимодействия с белком LbrGlnK.

## ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ СЫВОРОТКИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПОСЛЕ ТРАВМАТИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА КРЫСЫ

Кадырова Г.А.<sup>1</sup>, Масгутова Г.А.<sup>1</sup>, Масгутов Р.Ф.<sup>2</sup>, Мухаметова Л.Р.<sup>1</sup>, Ризванов А.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия; <sup>2</sup>ГАУЗ Республиканская клиническая больница МЗ РТ, Казань, Россия

*angel199601@inbox.ru*

Соотношение между противовоспалительными и провоспалительными цитокинами – важный момент в регуляции возникновения и развития воспалительного процесса. Цитокины управляют развитием и гомеостазом иммунной системы, осуществляют контроль за ростом и дифференцировкой клеток крови и принимают участие в неспецифических защитных реакциях организма, оказывая влияние на воспалительные процессы, принимают участие в регуляции роста, дифференцировки и продолжительности жизни клеток, а также в управлении апоптозом. В работе, на модели перерезки седалищного нерва крысы изучена реакция цитокинов сыворотки периферической крови.

Материалы и методы: Эксперимент проведен на белых крысах линии Vistar (n=20). Животным под хлоралгидратом (400 мг/кг in 6,4 % NaCl) на уровне середины бедра, производили рассечение седалищного нерва с последующим сшиванием конец в конец. Забор венозной крови (0,5-0,7 мл) производили путем катетеризирования хвостовой вены до операции, через 24 часа, а также через 3, 7 и 14 суток после травмы. Оценку производили с помощью панели цитокинов (xMAP, Luminex).

Результаты: В группе с перерезкой седалищного нерва нами обнаружены изменения по показателям MIP1, IL1-a, IL1b, L12p75, VEGF, Leptin, EGF, IL5, Fraktalkine, LIX.

Таким образом, перерезка седалищного нерва является индуктором про- и противовоспалительных цитокинов которые, возможно, влияют на процессы заживления и посттравматическую регенерацию.

## **ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА ЭНДОНУКЛЕАЗЫ СИСТЕМЫ РЕСТРИКЦИИ-МОДИФИКАЦИИ Cfr9I НЕГАТИВНО РЕГУЛИРУЕТСЯ ВТОРИЧНОЙ СТРУКТУРОЙ мРНК В ОБЛАСТИ ИНИЦИАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ**

**Казанцева О.А., Нагорных М.О.**

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

*olesia-alis@rambler.ru*

Система рестрикции-модификации II типа (СРМ) – это особая ферментативная система бактерий, основной функцией которой является защита бактериальной клетки от чужеродного генетического материала. СРМ состоит из двух генов, кодирующих два фермента: эндонуклеазу рестрикции (R) и метилтрансферазу (M). Оба фермента узнают одинаковую последовательность ДНК, но имеют разное действие – R вносит двухцепочечный разрыв в немодифицированной ДНК, а M защищает хозяйскую ДНК от действия R, путем метилирования основания ДНК в сайте узнавания.

Кроме того, эти системы, располагаясь на мобильных генетических элементах (плазмидах), участвуют в процессах горизонтального переноса генов. Поэтому во избежание расщеления хозяйской ДНК нового бактериального хозяина, а также для стабильного поддержания этих систем в клетках – СРМ типа II должны иметь точную и четкую регуляцию.

Исследуемая Cfr9I является одним из представителей СРМ типа II.

Система Cfr9I – это линейно-ориентированный оперон, состоящий из двух конвергентно расположенных генов. Стартовый кодон гена R и последний кодон гена M перекрываются. Ранее экспериментально были обнаружены и охарактеризованы два промотора: метилазный промотор, с которого транскрибируется бицистронная мРНК и рестриктазный промотор, с которого синтезируется моноцистронная мРНК. При сравнительном анализе найденных промоторов, было установлено, что промотор гена M сильнее промотора гена R. Кроме того, ранее в этой СРМ биоинформатически было обнаружено, что ДНК в районе последовательности Шайн-Дальгарно гена R имеет комплементарный повтор и кодирует устойчивую вторичную структуру на мРНК - шпильку (A. Lubys, A. Janulaitis).

Для дальнейшего исследования молекулярных механизмов регуляции генов СРМ Cfr9I нами был получен ряд плазмидных конструкций, несущих репортерный ген *lacZ* трансляционно слитый с разными фрагментами ДНК СРМ Cfr9I. Сравнительный анализ активности репортерного гена в полученных конструкциях показал, что ДНК последовательность, которая определяет вторичную структуру мРНК, снижает экспрессию гена R рестрикции в 4 раза. Разрушение этой структуры мРНК с помощью делеции приводит к восстановлению экспрессии. Анализ уровня транскриптов измеренный при помощи ПЦР с детекцией продуктов в режиме реального времени показывает, что ингибиторная вторичная структура мРНК снижает количество мРНК в клетке еще более значительно. По-видимому, это происходит из-за деградации мРНК за счет структуры шпильки как таковой, а также по причине ареста трансляции на этой мРНК. Проведен биоинформационный анализ этой вторичной структуры мРНК с помощью приложения RNAfold. В результате формирования устойчивой вторичной структуры мРНК оба важных элемента инициации трансляции – область Шайн-Дальгарно и стартовый кодон гена R попадают в структуру шпильки. Мы предполагаем, что это является ключевым фактором негативной регуляции гена R в СРМ Cfr9I.

## **ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ БИНАЗЫ В ОТНОШЕНИИ КЛЕТОК РАКА КИШЕЧНИКА**

**Камалова Я.Н., Зеленихин П.В.**

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

*yazgulen@mail.ru*

Рак кишечника - второй по распространенности инвазивный рак в мире, отличающийся разнообразием форм, что обуславливает необходимость выбора корректной терапии в зависимости от типа и происхождения опухолевых клеток. Способность экзогенных РНКаз селективно ингибировать рост и вызывать апоптоз опухолевых клеток позволяет рассматривать данные ферменты в качестве селективных агентов для терапии ряда типов злокачественных опухолей.

Нами была исследована противораковая активность биназы (гуанилспецифичная секретлируемая РНКазы *Bacillus pumilus* дикого типа). В эксперименте использовали клеточные линии аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека (HuTu 80), карциномы сигмовидной кишки (Colo 320), аденокарциномы прямой кишки (SW 837).

Клетки культивировали на средах RPMI 1640 (Colo 320, SW 837) и DMEM (HuTu 80), содержащих 10% эмбриональной сыворотки телят, 2мМ глутамина и 100 ед./мл пенициллина и стрептомицина, при 37°C во влажной атмосфере с 5% CO<sub>2</sub>. По достижении монослоем клеток 60% конфлюэнтности заменяли среду в лунках на свежую с добавлением биназы в концентрациях 100 мкг/мл и 300 мкг/мл и культивировали в

течение 24 и 48 часов. Апоптотические изменения клеток фиксировали с помощью проточного цитофлуориметра FACSCanto II (BD, США) с использованием красителя мероцианина-540.

Установлено, что клетки аденокарциномы прямой кишки SW 837 являются устойчивыми к влиянию биназы, в то время как клеточные линии HuTu 80 и Colo 320 проявляют различную чувствительность к апоптоз-индуцирующему действию фермента.

Наиболее чувствительной к действию биназы оказалась клеточная линия HuTu 80. После 24 ч инкубирования с ферментом доля клеток в состоянии апоптоза составляла 10% и 24,7% для концентраций биназы 100 мкг/мл и 300 мкг/мл, соответственно, в то время как в варианте без добавления фермента значение данного показателя не превышало 2,8%. После 48 ч инкубирования с ферментом доля апоптотических клеток увеличилась до 74,6% и 95,2% для соответствующих концентраций фермента, при негативном контроле - 18,9%.

Доля клеток в апоптозе в аналогичном эксперименте с линией карциномы сигмовидной кишки Colo 320 при 24 ч инкубирования с ферментом составила 21,9% и 30,5% (вариант без добавления фермента - 13,4%), а после 48 ч инкубирования – 31,1% и 54,2% (негативный контроль - 5,8%).

Таким образом, биназа способна индуцировать апоптоз клеток ряда типов рака кишечника, что подтверждает возможность использования данного фермента в терапии злокачественных новообразований.

### **ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АМИЛОИДОВ В ДРОЖЖАХ SACCHAROMYCES CEREVISIAE**

**Качкин Д.В.<sup>1</sup>, Рубель А.А.<sup>1</sup>, Чернов Ю.О.<sup>2</sup>**

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

<sup>2</sup>Технологический институт Джорджии, Атланта, США

*pspdaniel@mail.ru*

Целый ряд заболеваний человека связан с накоплением и агрегацией аномально уложенных белков – амилоидов. К таким заболеваниям относятся широко известные расстройства, такие как болезни Альцгеймера, Паркинсона, диабет второго типа и многие другие. В настоящее время все амилоидозы являются неизлечимыми. В связи с этим исследование механизмов образования и взаимодействия амилоидов весьма актуальны.

Дрожжи *S. cerevisiae* являются удобной моделью для исследования амилоидов и прионов. Многие амилоидозы изучаются с применением дрожжей сахаромикетов, так как амилоидные белки агрегируют в дрожжах также как и в клетках млекопитающих. С помощью дрожжей, было показано, что агрегаты белков PrP и A $\beta$  способны физически взаимодействовать между собой и были выявлены конкретные участки PrP, отвечающие за это взаимодействие, что свидетельствует о связи различных нейродегенеративных заболеваний

В ходе нашей работы, мы исследовали возможность взаимодействия агрегатов PrP и A $\beta$  с другими амилоидами, как например хорошо изученный прион дрожжей [PSI<sup>+</sup>]. Были получены дрожжевые штаммы, продуцирующие прионообразующий домен дрожжевого белка Sup35, а также один из белков PrP или A $\beta$ , слитые с флуоресцентными белками. Анализ взаимодействия агрегатов амилоидных белков проводили методами конфокальной микроскопии.

Также, с помощью дрожжей *S. cerevisiae*, мы изучаем другие амилоиды млекопитающих и их возможные взаимодействия. Например, IAPP – белок продуцирующийся в  $\beta$ -клетках островков Лангерганса и вызывающий диабет второго типа.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 15-04-08159. Для выполнения исследований использовалась приборная база ресурсных центров «ЦКП ХРОМАС» и «МиКТ» научного парка СПбГУ.

### **КЛОНИРОВАНИЕ, ЭКСПРЕССИЯ И БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕКОМБИНАТНОЙ ФИТАЗЫ APPA, ПОЛУЧЕННОЙ В ДРОЖЖАХ PICHIA PASTORIS**

**Кириллов С.О., Абельденов С.К., Хасенов Б.Б.**

РГП Национальный центр биотехнологии КН МОН РК, Астана, Казахстан

*kirillovsaveliy@gmail.com*

Одной из приоритетных задач для развития животноводства и птицеводства является повышение биологической эффективности и биодоступности сельскохозяйственных кормов. Фитаты, являющиеся солями фитиновой кислоты, являются преобладающей формой накопления фосфора в зерне, семенах масличных и бобовых. Желудочно-кишечный тракт моногастричных животных не способен разрушать межклеточные стенки зерновых компонентов и усваивать достаточное количество фосфатов из-за отсутствия в их организме необходимых ферментов. Фитазы катализируют гидролиз моноэфиров фосфорной кислоты с образованием легко усваиваемого свободного фосфата, что приводит к увеличению коэффициента использования фосфора из растительного сырья и, как следствие, снижению количества

использования неорганического фосфора в кормах. В связи с чем возникает актуальность внедрения в практику и применение экзогенных препаратов на основе фермента фитазы.

В результате проведенной работы кодон-оптимизированная нуклеотидная последовательность гена фитазы *appA* из *Escherichia coli* была клонирована в интегративном векторе pPICZαA вместе с сигнальной последовательностью α-фактора из *Saccharomyces cerevisiae*, позволяющей секретировать целевой белок в культуральную жидкость. Полученная генно-инженерная конструкция была линейаризована при помощи рестриктазы *PmeI* и электропорацией компетентных клеток *P. pastoris* штамма X-33 ген *appA* был интегрирован в АОХ1 регион ДНК дрожжей под контроль алкогольоксидазного промотора. Первичный отбор трансформантов осуществляли на твердой питательной среде YPDS, содержащей антибиотик зеоцин. Проверку интеграции экспрессионной кассеты, несущей ген бактериальной фитазы *appA* в геном дрожжей проводили методом ПЦР по АОХ1 локусу.

Секрецию рекомбинантной фитазы AppA подтвердили с помощью белкового электрофореза в полиакриламидном геле и биохимического теста на ферментативную активность белка в отношении фитата натрия. Специфическая фитазная активность культуральной жидкости, содержащей секретиремый белок AppA, составила 1100 ед/мл после 120 часов инкубации в комплексной питательной среде ВММУ с добавлением метанола в конечной концентрации 1,5%.

Изучение активности показало, что AppA имеет максимальную фитазную активность при +50°C и при рН в диапазоне 4,5 - 5,5. Высокая степень продукции белка AppA указывает на возможность перспективного использования полученного рекомбинантного штамма *P. pastoris* X-33/*appA* в качестве промышленного продуцента рекомбинантной фитазы.

### ГИГАНТСКИЙ ТАНДЕМНЫЙ ПОВТОР ЦЕНТРОМЕРЫ ЛУКОВЫХ

**Киров И.В.**

ФГБОУ ВО Российский Государственный Аграрный Университет - МСХА им. К.А. Тимирязева,  
Москва, Россия

*kirovez@gmail.com*

Центромера обеспечивает правильное расхождение генетического материала в дочерние клетки при клеточном делении. Если функция центромеры консервативна от дрожжей до человека, то ДНК центромера, состоящая из повторяющихся элементов, крайне вариабельна и может отличаться даже между хромосомами одного кариотипа. Такое биологическое "противоречие" ставит вопрос о механизмах функционирования центромеры в ряд самых интригующих вопросов современной геномики и молекулярной биологии. Секвенирование ДНК центромерной области большого числа организмов и поиск новых модельных объектов позволят приблизиться к пониманию организации и функционирования центромеры.

Нами было проведено клонирование и секвенирование tandemного повтора *Allium fistulosum*, удобного цитологического объекта с крупными хромосомами (7-15 мкм). Для этого мы использовали данные, полученные ранее (Nagaki et al. 2012) по секвенированию геномной ДНК *Allium fistulosum*, ассоциированной с центромерным гистоном CENH3. Были подобраны праймеры на контиги, полученные Nagaki et al. 2012, и проведена ПЦР с TaKaRa полимеразой (LA PCR Kit) для амплификации длинных фрагментов ДНК. Полученные ПЦР продукты были клонированы и секвенированы. Для определения центромерной локализации была проведена FISH с клонированными ПЦР продуктами. Результаты проведенных исследований позволили идентифицировать центромерный tandemный повтор *A. fistulosum* длиной 1350 п.н.. Это самый большой центромерный tandemный повтор, идентифицированный на сегодня. Последующие биоинформатический и цитогенетический анализ позволили пролить свет на организацию центромеры у *Allium fistulosum* и у *Allium cepa* (лук репчатый).

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-34-00142 мол\_а.

### ИДЕНТИФИКАЦИЯ СЕМЕЙСТВА ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ NCR-ПЕПТИДЫ, ПРИ ПОМОЩИ ТРАНСКРИПТОМНОГО АНАЛИЗА КЛУБЕНЬКОВ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM* L.)

**Клюкова М.С., Жернаков А.И., Сулима А.С., Жуков В.А., Тихонович И.А.**

ФГБУН Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

*marina.kliukova@gmail.com*

При установлении азотфиксирующего симбиоза между некоторыми бобовыми растениями (*M. truncatula*, *P. sativum*, *V. faba*, *T. repens* и др.) и почвенными бактериями (ризобиями) на корнях растения-хозяина формируются недетерминированные клубеньки, в которых бактерии претерпевают терминальную дифференцировку в симбиотическую форму – бактериоды. У люцерны слабоусеченной



(*Medicago truncatula* Gaertn.) факторами, обуславливающими процесс необратимой дифференцировки ризобий внутри клубенька являются, по меньшей мере, 500 клубенек-специфичных цистеин-богатых NCR-пептида (англ. nodule-specific cysteine rich). Они представляют собой крайне вариабельные короткие (30-60 аминокислот длиной) секретлируемые полипептиды. Ранее для гороха посевного были выявлены восемь клубенек-специфичных белковых молекул (нодулинов), которые в настоящее время относят к семейству NCR-пептидов. Поскольку люцерна и горох являются близкородственными видами, можно предположить, что данное генное семейство у гороха посевного не ограничено ранее найденными пептидами. Поэтому целью исследования является идентификация и описание новых последовательностей, относящихся к семейству NCR-пептидов.

Для выявления генов-кандидатов был проведен скрининг базы данных транскриптома клубеньков гороха, созданной ранее в лаборатории с использованием методов секвенирования нового поколения (NGS), с применением Blastn и tBlastn алгоритмов поиска по гомологии со всеми известными последовательностями NCR-пептидов. На сегодняшний день нами выявлено более 200 последовательностей, которые удовлетворяют всем критериям, предложенным для данного генного семейства. Все последовательности можно разделить на группы в зависимости от временного профиля экспрессии в клубеньках дикого типа на 12-, 21-, 28 день после инокуляции.

Также был проведен анализ дифференциальной экспрессии по данным секвенирования транскриптома клубеньков дикого типа и серии мутантных линий гороха посевного. Было показано, что у мутантных линий с нарушением клубенькообразования на ранних этапах развития не происходит включения большинства выявленных генов NCR-пептидов. Этот факт подтверждает гипотезу о том, что именно эти факторы необходимы для терминальной дифференцировки бактерий в клубеньках бобовых растений. В настоящее время ведется работа по подтверждению динамики экспрессии идентифицированных генов интереса методом ПЦР в реальном времени.

Исследование поддержано грантами РНФ (14-24-00135 и 16-16-00118) и РФФИ (14-04-01442, 15-29-02737 и 16-04-01859).

#### **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДЕТЕРМИНАНТ СПЕЦИФИЧНОСТИ УЗНАВАНИЯ МИШЕНЕЙ CRISPR-CAS СИСТЕМАМИ III ТИПА ТЕРМОФИЛЬНОЙ БАКТЕРИИ THERMUS THERMOPHILUS**

**Козаева Е.С., Воронцова Д.В., Северинов К.В.**

ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

*ekaterina.kozueva@gmail.com*

Системы адаптивного иммунитета прокариот CRISPR-Cas (от англ. Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats — короткие палиндромные повторы, регулярно расположенные группами - CRISPR ассоциированные белки) состоят из CRISPR кассет ДНК, содержащих идентичные повторы, разделенные уникальными спейсерами, и набора cas генов. CRISPR-Cas системы защищают клетки от чужеродного генетического материала, уничтожая ДНК фагов или плазмид, в которых имеются последовательности (т.н. протоспейсеры), идентичные последовательностям спейсеров CRISPR кассеты. Процесс защиты путем уничтожения чужеродной мишени получил название «CRISPR интерференция». CRISPR-Cas системы типа III уникальны тем, что являются транскрипционно-зависимыми, т.е., для узнавания мишени им необходимо, чтобы с участка ДНК, содержащего протоспейсер, осуществлялась транскрипция.

Данная работа направлена на установление детерминант специфичности узнавания мишеней CRISPR-Cas системами подтипов III-A и III-B на примере термофильной бактерии *Thermus thermophilus* Hb27. Для этого были сконструированы, а затем, путем трансформации введены в бактериальные клетки плазмиды, содержащие протоспейсеры с неполным соответствием спейсеру, присутствующему в геноме *T. thermophilus* Hb27. Поскольку в данном штамме присутствует как III-A, так и III-B подтип CRISPR-Cas систем, то для разграничения их действия, помимо штамма дикого типа использовали также мутантные штаммы, в которых одна из систем была инактивирована. Далее бактерии высевали на селективную среду, содержащую антибиотик, и по количеству выросших трансформантов оценивали влияние внесенных в протоспейсер мутаций на способность CRISPR-Cas систем узнавать его.

Было показано, что внесение одиночных мутаций не оказывает влияния на CRISPR интерференцию — системы обоих подтипов продолжают узнавать его. При попытках расширения области неспаренности между криспрРНК и транскрибируемой с протоспейсера РНК, CRISPR-Cas система подтипа III-A позволила внести в протоспейсер до 7 несоответствий с 3'-конца транскрибируемой РНК и до 17 с ее 5'-конца. Для III-B подтипа эти числа 4 и 14, соответственно. Однако при внесении таких мутаций одновременно с обоих концов протоспейсера CRISPR интерференция не наблюдалась для обеих CRISPR-Cas систем.

Таким образом, показано, что для обоих подтипов CRISPR-Cas систем III типа узнавание протоспейсера происходит даже при существенном количестве замен, и что система подтипа III-B является

более чувствительной к количеству мутаций в протоспейсере. Для установления более точных данных исследования будет продолжены.

### ДОМИНАНТНО-НЕГАТИВНЫЕ БЕЛКИ ORAI СНИЖАЮТ АКТИВНОСТЬ ДЕПО-УПРАВЛЯЕМЫХ КАНАЛОВ I<sub>min</sub> В КЛЕТКАХ HEK293

**Колесников Д., Шалыгин А.**

ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

*koledmi3@mail.ru*

Кальций играет ключевую роль в системе передачи внутриклеточного сигнала. Кальций поступает в цитоплазму из межклеточного пространства или из внутриклеточных депо (эндоплазматического ретикулума). За наполнение депо кальция отвечают депо-управляемые каналы, расположенные на мембране клетки. Через них кальций поступает по градиенту концентрации в цитоплазму, откуда кальциевые АТФазы закачивают его в депо.

Так как система поддержания кальциевого равновесия в клетке чрезвычайно важна для ее жизнедеятельности, нарушения в работе депо-управляемых каналов ведут к различным заболеваниям.

В настоящий момент молекулярный состав и биофизические свойства большинства депо-управляемых каналов недостаточно изучены. Полностью известен молекулярный состав лишь одного канала I<sub>CRAC</sub>, состоящего из белков ORAI 1. Нашим модельным объектом является эндогенный канал I<sub>min</sub>. Он схож по некоторым биофизическим свойствам с каналом I<sub>CRAC</sub>, что дает нам возможность предполагать сродство их молекулярного состава. И в отличие от канала I<sub>CRAC</sub> канал I<sub>min</sub> имеет большую амплитуду токов, что позволяет изучать активность одиночных каналов.

Целью нашей работы являлось изучение молекулярного состава каналов I<sub>min</sub>. Для этого мы воспользовались доминантно-негативными белками ORAI. Эти белки несут аминокислотную замену по сайту связывания кальция. Показано, что они подавляют работу эндогенных каналов I<sub>CRAC</sub>.

Мы провели трансфекцию клеток линии HEK293 доминантно-негативными белками ORAI E106Q и ORAI E81Q. Активность каналов оценили при помощи метода локальной фиксации потенциала в конфигурации cell attached.

В результате, каналы I<sub>min</sub> обнаруживались в 50% экспериментов, проведенных на контрольных клетках, в 10% экспериментах на клетках с оверэкспрессией белка ORAI E106Q и в 20% экспериментах на клетках с оверэкспрессией белка ORAI E81Q.

Из полученных данных следует, что доминантно-негативные, снижают активность депо-управляемых каналов I<sub>min</sub> в клетках HEK293.

Исследование было поддержано Российским Фондом Фундаментальных Исследований (проект № 16-04-01792) и Российским Научным Фондом (проект № 14-14-00720).

### ПОИСК АССОЦИАЦИЙ С МИГРЕНЬЮ КОМПЛЕКСНЫХ ГЕНОТИПОВ ГЕНОВ ACE, BDNF, CCK, CCKAR, CCKBR, CGRP, DBH, MTDH, MTHFR, MTR, NOS1, NOS2, NOS3

**Кондратьева Н.С.<sup>1</sup>, Анучина А.А.<sup>1</sup>, Наумова Е.А.<sup>1</sup>, Скоробогатых К.В.<sup>2</sup>, Сергеев А.В.<sup>2</sup>, Азимова Ю.Э.<sup>2</sup>**

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

<sup>2</sup>Университетская клиника головной боли, Москва, Россия

*natalia\_kondratieva@mail.ru*

Мигрень является одной из ведущих причин потери трудоспособности по данным ВОЗ (9 место, 3 место среди женщин). Распространённость заболевания составляет 10.2-14.7% в мире. В России цифры распространённости мигрени превышают мировые показатели почти в 1.5-2 раза – 20.3%, а ежегодные косвенные расходы (потеря дней трудоспособности) составляют 22.8 млрд долларов США (1.75% от ВВП России). Таким образом, мигрень является не только медицинской, но и экономически значимой проблемой. Между тем, диагноз «мигрень» является исключительно клиническим, и любые диагностические тесты направлены лишь на исключение других причин головной боли. Поэтому, ведущим вектором в данном научном направлении является поиск биомаркёров, подтверждающих данный диагноз, а не опровергающих другие. Цели данной работы: провести поиск ассоциаций с мигренью комплексных генотипов генов ACE, BDNF, CCK, CCKAR, CCKBR, CGRP, DBH, MTDH, MTHFR, MTR, NOS1, NOS2, NOS3. Методы: молекулярно-генетический анализ – ПЦР-ПДРФ, аллель-специфичная ПЦР, ПЦР в реальном времени; статистическая обработка – программа APSampler 3.6. По результатам работы впервые выявлено 7 комплексных генотипов, повышающих риск развития мигрени в 10 и более раз. В то время как в опубликованных к настоящему времени работах рассматривают ассоциации отдельных полиморфных вариантов генов с заболеванием. Основная роль в развитии мигрени принадлежит гену CCKAR (OR=21.09, p<0.01) повышающему риск развития мигрени в 21 раз.

## ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ПОПУЛЯЦИЙ НЕМЕЦКОЙ И ВОСТОЧНО-ЕВРОПЕЙСКОЙ ОВЧАРОК И ОЦЕНКА СЦЕПЛЕНИЯ МАРКЕРОВ С ЭКСТЕРЬЕРНЫМИ ПРИЗНАКАМИ

Коптев В.В.<sup>1,2</sup>, Тарасенкова Н.А.<sup>1</sup>, Павлова И.Ю.<sup>2</sup>, Калашников А.Е.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Ярославская государственная сельскохозяйственная академия, Ярославль, Россия; <sup>2</sup>ФГБНУ Всероссийский НИИ племенного дела, пос. Лесные Поляны, Россия; <sup>3</sup>ФГБНУ Всероссийский НИИ животноводства им. Академика Л.К. Эрнста, пос. Дубровицы, Россия

*idnatechnology@yandex.ru*

Потеря породного разнообразия у собак оказывается не только утратой уникального и бесценного генетического разнообразия, но и сужением генетического потенциала, принципиально ограничивающим возможности селекционной работы. В настоящее время в России приняты стандарты пород немецкой и восточно-европейской овчарки. Восточно-европейская овчарка была выведена из немецкой овчарки в 30-е гг. 20 в. в СССР для службы в армии в различных климатических условиях. Данная порода признана следующими кинологами международными организациями: — UCI — (United Clubs International), IKU — (International Kennel Union), порода пока не признана Международной кинологической федерацией FCI вследствие недостаточного генетического подтверждения ее происхождения. В конце 2002 года Российская Кинологическая Федерация признала восточно-европейскую овчарку отдельной породой. Но до сих пор не утихают споры о правомерности такого выделения. Казалось бы, достаточно сравнить два стандарта пород, а также проанализировать соответствие поголовья стандартам и все вопросы будут разрешены. Но это не совсем так. И в той и другой породе есть особи, которые подходят под оба стандарта, что позволяет оппонентам утверждать о единой породе. «Модные» тенденции привели к резкому сокращению количества разводимых пород, уменьшению поголовья служебных собак. Нами проведено тестирование собак обеих пород (N=89) по полиморфизму микросателлитов (рекомендованных ISAG ([www.isag.us/](http://www.isag.us/)), 9 микросателлитных маркеров (StockMarks for Dogs Genotyping Kit, Applied Biosystems, США) с учетом данных экстерьерных промеров, собранных в предыдущем этапе. Материалом для исследования послужили 89 животных разных половозрастных групп, имеющих генетический профиль и которые оценены по экстерьеру. В результате построены экстерьерные профили, взаимосвязанные с положением аллельных вариантов микросателлитных маркеров и произведена их статистическая оценка. Осуществлена паспортизация обеих пород и рассчитаны генетические расстояния между ними. Сочетание фенотипа, аллелей структурных генов, полилокусных «анонимных» последовательностей ДНК позволили надежно дифференцировать породы и выделить их генофондный «стандарт». Проведена работа по определению участков генома, полиморфность которых положительно коррелирует с показателями экстерьера. По результатам исследований выявлена взаимосвязь между показателями экстерьера и аллельными вариантами микросателлитных маркеров.

## ВЛИЯНИЕ ВАРИАНТОВ -308G/A (RS1800629) ГЕНА TNF $\alpha$ И PRO12ALA (RS1801282) ГЕНА PPAR $\gamma$ НА КЛИНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ У ЖЕНЩИН С АБДОМИНАЛЬНЫМ ОЖИРЕНИЕМ С ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ В СЕВЕРО-ЗАПАДНОМ РЕГИОНЕ РОССИИ

Копытова А.Э.<sup>1,2</sup>, Усенко Т.С.<sup>1,3</sup>, Мирошникова В.В.<sup>1,3</sup>, Баженова Е.А.<sup>3</sup>, Николаев М.А.<sup>1,3,4</sup>, Пантелеева А.А.<sup>1,3,4</sup>, Семенова И.А.<sup>1,2</sup>, Неймарк А.Е.<sup>3</sup>, Пчелина С.Н.<sup>1,3,4</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова, НИЦ Курчатовский институт, Гатчина, Россия; <sup>2</sup>ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия; <sup>4</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский национальный исследовательский академический университет РАН, Санкт-Петербург, Россия

*copytovaalena@mail.ru*

Ожирение определяется как избыточное накопление жира, представляющее опасность для здоровья. А также оно является признанным фактором риска развития сердечно-сосудистых заболеваний, метаболического синдрома и сахарного диабета 2ого типа. Имеются данные о патогенетической связи ожирения и инсулинорезистентности (ИР). По данным мета-анализа было выявлено влияние однонуклеотидного полиморфизма (ОНП) -308G/A TNF $\alpha$  и Pro12Ala PPAR $\gamma$  на риск ожирения.

Цель: оценить влияние полиморфных вариантов -308G/A TNF $\alpha$  и Pro12Ala PPAR $\gamma$  на клинические характеристики у женщин репродуктивного возраста, а также на риск развития абдоминального ожирения в Северо-Западном регионе России.

В исследование вошли 129 женщин с абдоминальным ожирением (средний возраст 39,5 $\pm$ 9,5 лет, ИМТ 38,4 $\pm$ 12,5 кг/м<sup>2</sup>). Были измерены антропометрические (ИМТ, окружность талии) и клинические (инсулин, глюкоза, липидный профиль) параметры. Для дальнейшего изучения группа была разделена на

2 подгруппы: с ИР (НОМА-IR 14,50±11,43) и без ИР (НОМА-IR 2,02±0,97). Признаком ИР являлось значение индекса НОМА-IR>3. Был осуществлен скрининг ОНП Pro12Ala *PPAR $\gamma$*  и -308G/A *TNF $\alpha$*  методом ПЦР с последующим рестрикционным анализом.

В данной работе не выявлено ассоциаций вариантов -308G/A *TNF $\alpha$*  и Pro12Ala *PPAR $\gamma$*  с риском абдоминального ожирения. Однако было показано влияние данных ОНП на клинические характеристики. Нами было выявлено снижение уровня инсулина в плазме крови ( $p=0.044$ ), а также повышенное значение общего холестерина ( $p=0.046$ ) и липопротеинов низкой плотности в крови ( $p=0.026$ ) у носителей варианта 12Ala по сравнению с носителями варианта Pro12 ОНП Pro12Ala *PPAR $\gamma$*  среди женщин с абдоминальным ожирением и ИР. Вместе с тем выявлено достоверное снижение уровня инсулина в плазме крови ( $p=0.008$ ) и уменьшение индекса НОМА-IR ( $p=0.030$ ) у носителей аллеля А по сравнению с генотипом GG ОНП -308G/A *TNF $\alpha$* . При изучении группы женщин с абдоминальным ожирением без ИР выявлено повышение уровня липопротеинов высокой плотности ( $p=0.047$ ) и уменьшение коэффициента атерогенности ( $p=0.021$ ) у носителей аллеля А по сравнению с генотипом GG ОНП -308G/A *TNF $\alpha$* .

Заключение. Исходя из полученных данных можно сказать, что ОНП -308G/A *TNF $\alpha$*  и Pro12Ala *PPAR $\gamma$*  влияют на клинические показатели у женщин репродуктивного возраста Северо-Западного региона России, и тем самым могут вносить вклад в патогенез абдоминального ожирения и инсулинорезистентности среди женщин репродуктивного возраста в Северо-Западном регионе России.

### СОЗДАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ТКАНЕСПЕЦИФИЧНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ ТЕЛОМЕРНОГО БЕЛКОВОГО КОМПЛЕКСА DROSOPHILA

Кордюкова М.Ю., Оловников И.А., Моргунова В.В., Оленкина О.М., Михалева Е.А., Калмыкова А.И.  
ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

*kordyukova.maria@yahoo.com*

Теломерный белковый комплекс на концах хромосом эукариот служит для их защиты от деградации, слияния с другими хромосомами, а также регулирует процесс удлинения теломер, происходящий в клетках-предшественниках половых клеток. Особенности теломерного комплекса герминальных тканей до сих пор неясны. Теломеры *Drosophila*, в отличие от других изученных видов, образуются за счет ретротранспозиций теломерных ретротранспозонов. Известно то, что многие компоненты теломерного комплекса у организмов, использующих разные способы удлинения теломер, высоко консервативны. Таким образом, дрозофила является удобным модельным объектом для исследований теломерных белков в различных типах тканей.

Основным структурным компонентом теломер *Drosophila* является ретроэлемент HeT-A, лишенный собственной ревертазы, но кодирующий белок Gag. Литературные данные указывают на то, что белок Gag-HeT-A является специфичным компонентом теломерного хроматина, а, следовательно, может быть удобной мишенью для очистки теломерного комплекса.

Целью нашего исследования является очистка и анализ теломерного комплекса дрозофилы путем иммунопреципитации Gag-HeT-A, а первоочередной задачей – создание вектора, содержащего транспозон HeT-A, который возможно экспрессировать как в культивируемых клетках, так и в трансгенных мухах.

Для этого геномная копия HeT-A была клонирована в вектор pUAST-attB, содержащий дрожжевой промотор UAS, индуцируемый за счет тканеспецифичной экспрессии трансактиватора GAL4-VP16. Для очистки теломерного комплекса полученная конструкция была модифицирована таким образом, чтобы кодируемый ей белок Gag содержал по два пептида HA и FLAG на своем С-конце. Полученная конструкция pUAST-HeT-A-HA-FLAG была использована для трансгенеза линии мух, содержащих в геноме сайт посадки attP, за счет рекомбиназы PhiC31. Была показана экспрессия Gag-HA-FLAG в питающих клетках яичников и его корректная ядерная локализация. Экспрессия Gag-HA-FLAG была также проверена путем трансфекции культуры клеток дрозофилы S2 с последующим иммуноблотингом.

Далее планируется осуществить последовательную иммунопреципитацию Gag-HA-FLAG и ассоциированных с ним белков из лизатов с помощью сорбентов с иммобилизованными антителами, специфичными к HA и FLAG. Затем компоненты комплекса будут проанализированы с помощью масс-спектрометрии. На данный момент была отработана методика получения ядерного экстракта клеток S2 и очистка белка Gag-HA-FLAG на HA магнитных шариках. Таким образом, был успешно выполнен первый этап изучения состава теломерного комплекса дрозофилы.

## ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПОСТ-ТРАСКРИПЦИОННОЙ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ

**Коринфская С.А., Чмыхало В.К., Макаренко М.С., Беланова А.А., Золотухин П.В., Александрова А.А.**  
ФГАОУ ВПО Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии,  
Ростов-на-Дону, Россия

*Korinfskaya@sfedu.ru*

Экспрессия генов представляет собой сложный многоступенчатый процесс, очень тонко регулируемый клеткой на каждом своем этапе. Первичные транскрипты эукариотических генов, прежде чем они будут готовы к трансляции, должны пройти все этапы процессинга, к которым относят кэпирование, полиаденилирование и сплайсинг, хотя такой исход событий вовсе необязателен: пре-мРНК и зрелые транскрипты могут быть подвергнуты РНК-интерференции, контролируемой деградации или длительному накоплению в ядре.

Для эффективной разработки инструментов молекулярной диагностики необходимо глубокое понимание механизмов функционирования клеточных каскадов на всех уровнях от поступления экзогенного сигнала в клетку до формирования конечного ответа на сигнал.

Целью настоящей обзорной работы стал анализ особенностей регуляции экспрессии генов на посттранскрипционном уровне. Анализ данной проблемы проводился с помощью баз данных: NCBI PubMed, NCBI Books и Uniprot.

Сплайсинг - один из ключевых этапов экспрессии генов. При нарушениях этого процесса развиваются серьезные патологии: болезнь Альцгеймера, атеросклероз, онкологические заболевания и некоторые другие. В регуляции сплайсинга задействовано более двух сотен белков, в число которых входят и эпигенетические модуляторы, взаимодействующие с гистоновыми белками. Взаимосвязь факторов сплайсинга и гистоновых белков осуществляется при помощи хроматин-адаптерных систем. Основные их компоненты - это белки, распознающие посттрансляционные модификации гистонов (ацетилтрансфераза STAGA, метилтрансфераза CARM1 и некоторые другие факторы ремоделирования хроматина) и компоненты сплайсосомы. В состав этих регуляторных систем, также могут входить дополнительные белки-посредники и ключевые факторы альтернативного сплайсинга, связывающиеся с регуляторными последовательностями на экзонах или интронах.

Помимо хроматин-опосредованных, существуют и другие пути эпигенетической регуляции. В литературе описана тканеспецифическая регуляция альтернативного сплайсинга (решения о вырезании некоторых экзонов) с помощью микроРНК и длинных некодирующих РНК. Кроме того, микроРНК вовлечены в процессе интерференции и контролируемой деградации транскрипта.

Таким образом, эпигенетические механизмы повсеместно задействованы в контроле посттранскрипционной регуляции экспрессии генов на уровне сплайсинга и обеспечении стабильности транскриптов, что представляет большой интерес с точки зрения фундаментальной и прикладной молекулярной биологии клетки.

## КОАКТИВАТОРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ, МОДИФИЦИРУЮЩИЕ ХРОМАТИН, УЧАСТВУЮТ В РАЗЛИЧНЫХ ЭТАПАХ ТРАСКРИПЦИИ ГЕНА HSP70 DROSOPHILA MELANOGASTER

**Кочерыжкина Е.В., Мазина М.Ю., Воробьева Н.Е.**  
ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

*koelle95@yandex.ru*

Транскрипция эукариотических генов представляет собой сложный процесс, в который вовлечены десятки мультисубъединичных белковых комплексов. Коактиваторные комплексы не обладают способностью специфическим образом взаимодействовать с регуляторными участками генов и вовлекаются в процесс транскрипции при помощи ДНК-связывающих активаторов транскрипции. Коактиваторные комплексы участвуют в транскрипции большинства генов организма, так как способны связывать многие активаторные белки. Долгое время считалось, что основной мишенью воздействия коактиваторного комплекса является промотор активируемого гена. Недавно, для некоторых коактиваторов транскрипции была обнаружена способность стимулировать другие этапы транскрипции гена, в частности этап элонгации. Целью настоящей работы являлось изучение участия коактиваторов транскрипции, модифицирующих хроматин, в различных этапах транскрипции гена hsp70, активируемого тепловым шоком. Оказалось, что все исследованные нами комплексы, модифицирующие хроматин, привлекаются на промотор гена hsp70 в его неактивном состоянии. Активация транскрипции данного гена приводит к увеличению уровня связывания большинства коактиваторных комплексов с промотором (за исключением коактиватора СВР/p300). Мы наблюдали также значительное увеличение уровня связывания исследованных комплексов, модифицирующих хроматин в кодирующей области гена после активации его транскрипции. Мы связываем

наблюдаемый нами эффект с продвижением комплекса РНК-полимеразы II в кодирующую область гена вследствие активной транскрипции. Мы делаем вывод об участии исследованных нами коактиваторов (SAGA, CBP/p300, Set1, CARM1, PRMT1 и Lid) в процессах инициации и элонгации транскрипции гена *hsp70*.

### ОБРАБОТКА ДИФРАКЦИОННЫХ ДАННЫХ НИЗКОГО РАЗРЕШЕНИЯ ПОЛУЧЕННЫХ ОТ КРИСТАЛЛОВ, ДЕМОНИСТРИРУЮЩИХ СОВЕРШЕННЫЙ ТВИННИНГ

**Кравченко О.В., Архипова В.И., Никонов О.С., Никонов С.В.**

ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия

*kravchenko.olesya@gmail.com*

Твиннинг - это наиболее распространенный дефект роста кристаллов в белковой кристаллографии. Он имеет место, когда несколько кристаллов с по-разному ориентированными решетками срстаются вместе. Самым сложным видом твиннинга является совершенный твиннинг (доля твиннинга 50%). В настоящее время во всем мире такие кристаллы практически не используются для рентгено-структурных исследований, потому что работа с ними крайне сложна и трудоемка. Однако в целом ряде случаев убрать или уменьшить долю твиннинга при кристаллизации не удается.

Ранее в нашей лаборатории удалось определить пространственные структуры  $\gamma$ -субъединицы фактора инициации трансляции 2 из *Sulfolobus solfataricus* (Sso IF2), интактного гететримерного Sso IF2, а также пространственную структуру  $\gamma$ -субъединицы Sso IF2 в комплексе с доменом 3  $\alpha$ -субъединицы, неращепляемым аналогом GTP и инициаторной тРНК. Кристаллы данных макромолекул были твиннингованы.

В настоящей работе нами были обработаны и отредактированы имеющиеся наборы дифракционных данных низкого разрешения (5-6Å), полученные от кристаллов комплекса полного фактора инициации трансляции 2 из *Sulfolobus solfataricus* с неращепляемым аналогом ГТФ - GDPCP и инициаторной тРНК, демонстрирующих совершенный твиннинг. Обработка дифракционных данных проводилась в программе XDS. Шкалирование полученных наборов выполнялось в программах xscale и sadabs. Дифракционных данные были обработаны в каждой из возможных низших групп симметрии, а именно, P3, P312, P321, P6, P622.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-04-00571 А.

### ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ И РЕГУЛЯТОРНЫЕ Т-КЛЕТКИ ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ

**Кравченко П.Н.<sup>1</sup>, Чуров А.В.<sup>1</sup>, Олейник Е.К.<sup>1</sup>, Олейник В.М.<sup>1</sup>, Жулай Г.А.<sup>1</sup>, Барышева О.Ю.<sup>2</sup>,  
Марусенко И.М.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия

*k-polina13@mail.ru*

Регуляторные Т-лимфоциты (Treg) играют важную роль в патогенезе ревматоидного артрита (РА) – тяжелого аутоиммунного заболевания неясной этиологии. Механизмы развития РА в настоящее время до конца не изучены. Одним из важных факторов риска развития РА в настоящее время считается наличие одной или нескольких персистирующих вирусных инфекций. Модуляция иммунного ответа под влиянием некоторых вирусов может оказывать существенное воздействие на развитие воспаления у больных РА. Учитывая особенности патогенеза РА, следует отметить, что значительный интерес представляет собой цитомегаловирус (ЦМВ), обладающий тропизмом к лимфоидным клеткам. Целью работы было изучение влияния цитомегаловирусной инфекции на содержание Treg-клеток периферической крови при РА.

Было исследовано 38 образцов периферической крови (24 больных РА в возрасте 61,1±10,5 год и 14 здоровых доноров, сопоставимых по возрасту). Все больные получали базисную терапию. Анализ популяций лимфоцитов проводили методом проточной цитометрии. Содержание Anti-CMV-IgM в плазме крови определяли методом иммуноферментного анализа с использованием набора реагентов («Вектор-Бест», Россия). Достоверность различий между группами рассчитывали по критерию Манна-Уитни ( $p < 0,05$ ).

Среди больных РА было выявлено 33% ЦМВ-серопозитивных лиц, тогда как в контроле – 7%. При этом, отмечается положительная корреляция между уровнем Anti-CMV-IgM и стадией активности РА ( $r = 0,59$  при  $p < 0,05$ ).

В общей группе больных РА ( $n = 24$ ) относительное содержание  $CD4^+FOXP3^+$  и  $CD4^+CD25^+FOXP3^+$  Treg-клеток было на уровне контроля. Однако, у больных с низкой степенью активности РА ( $n = 9$ ) отмечено увеличение количества  $CD4^+FOXP3^+$  и  $CD4^+CD25^+FOXP3^+$  клеток ( $8,64 \pm 3,37$  и  $5,37 \pm 1,50$ ,  $p < 0,05$ ), тогда как у больных с высокой степенью активности РА наблюдалось снижение числа данных клеток ( $4,35 \pm 0,72$  и

3,57±0,96, соответственно,  $p < 0,05$ ). Была выявлена обратная корреляция между уровнем Anti-CMV-IgM и количеством  $CD4^+FOXP3^+$  клеток ( $r = -0,43$  при  $p < 0,05$ ) и  $CD4^+CD25^+FOXP3^+$  Treg-клеток ( $r = -0,46$  при  $p < 0,05$ ) у больных РА.

Таким образом, наличие цитомегаловирусной инфекции характеризуется снижением числа Treg-клеток в периферической крови у больных РА. Содержание  $CD4^+FOXP3^+$  и  $CD4^+CD25^+FOXP3^+$  лимфоцитов было ниже у больных РА с высоким титром антител к ЦМВ по сравнению с больными с низким уровнем Anti-CMV-IgM.

Финансирование проекта осуществлялось на средства Гранта Президента РФ (МК-3680.2015.7), а также при поддержке РФФИ (№ 16-04-00567).

### МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА IL-1 $\beta$ НА КЛАСТОГЕННЫЕ ЭФФЕКТЫ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ФАКТОРОВ УГОЛЬНЫХ ШАХТ

Лесников А.И., Волобаев В.П.

ФГБОУ ВПО Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия

*antonlesnikov@yandex.ru*

В условиях угольных шахт генотоксический риск обусловлен прямым воздействием производственных факторов, таких как излучение от радона, тяжелые металлы, полиароматические углеводороды, а так же связан с альтерацией клеток и активацией лейкоцитов в результате действия угольной пыли и микробной микрофлоры. В ответ на повреждение тканей или внедрение микроорганизмов продуцируется индуцибельный провоспалительный цитокин - интерлейкин -1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ). Известно, что полиморфные варианты гена IL-1 $\beta$  являются высокопродуцирующими. У лиц, гомо- или гетерозиготных по высокопродуцирующему аллелю IL-1 $\beta$ , синтезируется соответственно в 4 или 2 раза больше этого цитокина, чем у лиц гомозиготных по нормальному аллелю этого гена, в связи с чем воспалительные процессы у них протекают более активно. Образующиеся в результате воспаления свободные радикалы, таких как супероксид, гидроксильный радикал, перекись водорода, ион HClO-, способны напрямую повреждать молекулы ДНК. Кроме того IL-1 $\beta$  способен индуцировать NO-синтазы, приводя к повышенному производству оксида азота, который превращаясь в пероксинитрит, оказывает мутагенный эффект.

Материалом для исследования послужила периферическая венозная кровь стажированных работников угольных шахт мужского пола, средний возраст которых составил  $43,91 \pm 0,41$  года. Цитогенетические исследования проводили с помощью стандартной методики учета уровня хромосомных aberrаций на рутинной окраске без кариотипирования на культивированных лимфоцитах крови. Экстракцию ДНК проводили фенол- хлороформным методом с последующим генотипированием с помощью End-Point ПЦР

Проведено изучение частоты спектра хромосомных операций у шахтеров Кемеровской области, являющихся носителями различных вариантов аллелей гена IL-1 $\beta$ , связанных с транзицией C на T в 511 положение (RS 16944). У носителей генотипа TT кольцевые хромосомы выявлялись с частотой  $0,25 \pm 0,08$ , что статистически достоверно выше по сравнению с аналогичным показателем у носителей CC, где среднее значение составило  $0,06 \pm 0,03$  ( $p = 0,02$ ). Аналогичные результаты получены по частоте выявления хроматидных обменов: при их средних значениях у носителей генотипов TC -  $0,21 \pm 0,07$  и CC -  $0,04 \pm 0,03$  ( $p = 0,02$ ). Результаты проведенного исследования показывают: что наличие в генотипе аллеля T в гетеро- или гомозиготном состоянии ассоциировано с более высокой частотой выявления кольцевых хромосом и обменов хроматидного типа.

### АНАЛИЗ РЕПРОДУКТИВНЫХ БЕЛКОВ МОЛЛЮСКОВ РОДА LITTORINA

Лобов А.А.<sup>1</sup>, Мальцева А.Л.<sup>1</sup>, Михайлова Н.А.<sup>1,2</sup>, Гранович А.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт Цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

*arseniylobov@gmail.com*

Изучение роли репродуктивных белков в видообразовании представляет актуальную задачу (Wilburn & Swanson, 2015). Существуют виды, репродуктивная изоляция которых реализуется за счет различий в белках взаимодействия гамет, при этом в симпатрических популяциях изученных видов, такие белки высоковариабельны и находятся под действием позитивного отбора (Wilburn & Swanson, 2015). Была высказана гипотеза, что высокая скорость эволюционного изменения этих белков способна приводить к быстрому формированию репродуктивных барьеров даже в условиях симпатрии (Swanson & Vacquier, 2002).

Комплексы криптических видов рода *Littorina* могут стать информативной модельной системой для изучения этих процессов. Микроэволюционные процессы в этой группе либо не окончены, либо завершились сравнительно недавно. 5 видов подрода *Neritrema* (*L. fabalis*, *L. arcana*, *L. compressa*, *L. saxatilis* и *L. obtusata*) формируют симпатрические популяции в пределах широкого ареала побережий североатлантических морей, при этом *L. saxatilis* и *L. obtusata* встречаются и в аллопатрических популяциях.

Для нескольких видов была показана возможность гетероспецифичного осеменения, следовательно, белки вовлечённые в процессы взаимодействия гамет могут играть решающую роль в репродуктивной изоляции видов этого комплекса. Ранее внутри литторинид не проводилось изучения молекулярных механизмов взаимодействия гамет.

В результате анализа акросомального экстракта *L. obtusata* были идентифицированы два белковых компонента, впоследствии оказавшиеся изоформами одного белка, получившего название LOSP (Lobov et al., 2015). LOSP экспрессируется в репродуктивной системе самцов и имеет сигнальный пептид, поэтому локализация зрелого белка в акросоме вполне вероятна. Чтобы подтвердить это, а также охарактеризовать пространственный и временной паттерн экспрессии LOSP, был химически синтезирован пептидный аналог, соответствующий по аминокислотной последовательности консервативному участку LOSP. На основе этого пептида проводится получение антител для иммуногистохимической идентификации LOSP в сперматозоидах *L. obtusata*. Параллельно мы предприняли попытку идентификации ортологичных генов у близких видов для последующей оценки уровня межвидовой вариабельности гена (генов) LOSP. Первичные данные по изучению его полиморфизма указывают на то, что он существенно отличается даже у близких видов. Это хорошо согласуется с возможным участием LOSP в формировании межвидовых барьеров и дивергенции видов.

### ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА MIR22 АССОЦИИРОВАН С ПАНИЧЕСКИМ РАССТРОЙСТВОМ И ПСОРИАЗОМ

Луныкова А.А.<sup>1</sup>, Анучина А.А.<sup>1</sup>, Третьяков А.В.<sup>1</sup>, Сакания Л.Р.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия; <sup>2</sup>Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва, Россия

*anna-lunkova@mail.ru*

Псориаз - хроническое многофакторное заболевание, главными симптомами которого являются поражения кожи различного характера и степени тяжести, вызывающие зуд. Заболевание имеет под собой иммунологическую и генетическую основы. Клинические данные и специализированная литература демонстрируют связь между псориазом и психическими расстройствами. Наличие таких психодерматологических нарушений существенно снижает качество жизни больного человека и требует тщательного исследования генетических механизмов его возникновения и развития. В предыдущих работах сотрудников нашей научной группы была проиллюстрирована связь между возникновением однонуклеотидной замены rs6502892 (C>T) в гене *MIR22* с развитием панических расстройств. Ген локализован на коротком плече 17 хромосомы, кодирует микроРНК, которые регулируют генную экспрессию некоторых белок-кодирующих генов на пост-транскрипционном уровне.

В исследовании принимали участие две группы: пациенты (69 человек) - люди с подтвержденным диагнозом «псориаз» - и контрольная группа (163 человека) - условно здоровые индивиды. ДНК выделяли из цельной крови с использованием магнитных частиц. Для определения аллельного состояния замены rs6502892 использовали метод ПЦР-ПДРФ, обработка эндонуклеазой рестрикции *FauI*. Для статистического анализа ассоциаций был использован критерий Пирсона («хи-квадрат»).

В контрольной группе распределение частот генотипов соответствовало равновесию Харди-Вайнберга в отличие от пациентов с псориазом ( $p=0,00003$ ,  $\chi^2=17,64$ ). Результаты статистического анализа для исследуемой замены показали ассоциацию с развитием псориаза ( $p<0,004$ ,  $\chi^2=11,09$ ). Также статистический анализ свидетельствует о рецессивной модели наследования ассоциированного аллеля T ( $p=0,02$ ,  $\chi^2=5,25$ ). В итоге, полученные данные и результаты говорят нам о возможной роли продукта гена *MIR22* в возникновении и развитии псориаза.

### ОДИНОЧНЫЕ ЗАМЕНЫ АМИНОКИСЛОТНЫХ ОСТАТКОВ В ЛЮБОМ МЕСТЕ АПОМИОГЛОБИНА НЕ ВЛИЯЮТ НА СТАБИЛЬНОСТЬ ЕГО ПРОМЕЖУТОЧНОГО СОСТОЯНИЯ ТИПА РАСПЛАВЛЕННОЙ ГЛОБУЛЫ

Мажорина М.А., Мельник Б.С.

ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия

*mdudochka@mail.ru*

Вопрос о том, как же белки сворачиваются в уникальное компактное, высокоорганизованное, функционально активное состояние, является в настоящее время одним из центральных вопросов структурной и клеточной биологии (Fersht, 1998; Финкельштейн, Птицын, 2002). Ответ на этот вопрос требует изучения процессов сворачивания/разворачивания белков *in vitro* с помощью различных физических методов. Апомиоглобин – это небольшой, хорошо изученный белок, поэтому он является удобной моделью для исследования процессов сворачивания/разворачивания глобулярных белков. Известно, что процесс сворачивания апомиоглобина проходит через образование одного промежуточного состояния типа расплавленной глобулы. Данное промежуточное состояние является компактным, имеет гидрофобное ядро с



нативоподобной спиральной структурой. Ранее в лаборатории Физики белка было исследовано влияние на энергетический профиль апомиоглобина замен гидрофобных аминокислотных остатков, погруженных в ядро белка (Samatova et al., *Biophys.J.*, 2010, v.98, p.1694).

В нашей работе мы продолжаем поиск структурных элементов, позволяющих влиять на процесс сворачивания апомиоглобина. Целью данной работы было изучить влияние замен гидрофобных и гидрофильных аминокислотных остатков, расположенных на поверхности апомиоглобина, на стабильность промежуточного состояния типа расплавленной глобулы. Нами было получено несколько мутантных форм белка с различными типами аминокислотных замен. Для всех мутантных форм апомиоглобина выполнены равновесные и кинетические эксперименты методами флуоресценции и кругового дихроизма. На основании экспериментальных данных можно сделать вывод о том, что одиночные замены гидрофобных и гидрофильных аминокислотных остатков на поверхности белка не повлияли на стабильность его промежуточного состояния типа расплавленной глобулы.

Работа поддержана грантом РФФ N14-24-00157.

### **ИНСУЛЯТОРНЫЙ БЕЛОК SU(HW) НЕОБХОДИМ ДЛЯ АМПЛИФИКАЦИИ ГЕНОВ ХОРИОНА В ХОДЕ ООГЕНЕЗА ДРОЗОФИЛЫ**

**Мазина М.Ю., Воробьева Н.Е.**

ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

*magadovam@yandex.ru*

В последние годы благодаря успехам в развитии технологий секвенирования были получены последовательности геномов многих организмов, картированы гены, определены последовательности белков, однако ряд вопросов остается неразрешенным. В частности, малопонятно то, каким образом происходит позиционирование белков, узнающих участки начала репликации (ORC), в геноме.

Ранее в нашей работе мы показали, что инсуляторный белок *D. melanogaster* Su(Hw) привлекает комплексы ацетилирования гистонов SAGA и ремоделирования хроматина SWI/SNF на Su(Hw)-зависимые инсуляторы, что приводит к созданию на инсуляторах областей с низкой плотностью нуклеосом. Эти области служат платформой для связывания комплекса белков, узнающих участки начала репликации (ORC) [1, 2]. Данные результаты позволяют предполагать, что ДНК-связывающие белки создают условия для посадки комплекса ORC и связывают регуляцию транскрипции и репликации.

Ампликоны фолликулярных клеток дрозофилы (DAFCs) являются удобной моделью для исследования работы участков начала репликации. Это области генома, в которых в течение оогенеза дрозофилы происходит многократная репликация (амплификация) хроматина и значительное увеличение копийности всего локуса [3]. В данных ампликонах расположены гены хориона, кодирующие структурные белки эмбриона. Процесс амплификации ДНК регулируется в развитии и происходит на стадиях 10А-10В оогенеза дрозофилы. Мы обнаружили, что сайты белка Su(Hw) колокализуются со всеми известными локусами амплификации в яичниках дрозофилы. Нокаут Su(Hw) приводит к значительному падению амплификации и транскрипции генов хориона в DAFCs. Эмбрионы мух с мутацией гена *su(hw)* демонстрируют аномалии в развитии эмбриональных оболочек, что также может быть вызвано снижением экспрессии генов хориона.

Данная работа была поддержана грантом Президента РФ МК-6721.2016.4.

[1] - Vorobyeva, N. E. and Mazina, M. U., Golovnin, A. K. et al. (2013) Insulator protein Su(Hw) recruits SAGA and Brahma complexes and constitutes part of Origin Recognition Complex-binding sites in the *Drosophila* genome. *Nucleic Acids Res*, 41 (11): 5717-30.

[2] - Mazina M. Yu., Vorobyeva N. V., Krasnov A. N. (2013) The Ability of the Su(Hw) protein to create a platform for ORC binding does not depend on the type of surrounding chromatin. *Tsitologia*, 55 (4): 218-24.

[3] - Park, E. A., Macalpine, D. M., Orr-Weaver, T. L. (2007) *Drosophila* follicle cell amplicons as models for metazoan DNA replication: a cyclinE mutant exhibits increased replication fork elongation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104 (43): 16739-46.

### **ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ ЭМБРИОНОВ КУР С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛЕНТИВИРУСНЫХ ВЕКТОРОВ**

**Меннибаева Э.Р., Фомин И.К., Зиновьева Н.А.**

ФГБНУ Всероссийский НИИ животноводства им. Академика Л.К. Эрнста, пос. Дубровицы, Россия

*ejlmira@mail.ru*

Векторные системы, полученные на основе интегративных вирусов, таких как ленти- и ретровирусы являются эффективным инструментом для введения и выражения генов. В этой связи в рамках изучения условий введения трансгенов в эмбриональные клетки кур были подобраны условия для эффективного введения лентивирусных векторов в эмбриональные клетки кур в условиях *in vivo*. В работе была использована модифицированная лентивирусная векторная система второго поколения, в состав которой

входили три различные плазмиды. Были получены две генные конструкции на основе самоинактивирующегося лентивирусного вектора, каждая из которых содержала ген eGFP под контролем промотора вируса саркомы Рауса (RSV) или гибридного энхансер-промотора (CAG). В ходе экспериментов были получены вирусные препараты с титром более  $10^7$  КОЕ/мл, а после концентрации ультрацентрифугированием –  $5 \times 10^8$  КОЕ/мл. Было показано, что, изменяя соотношения между компонентами векторной системы по сравнению со стандартной схемой, можно значительно увеличить титр вируса. Полученные титры вирусного препарата позволили инфицировать до 78% клеток на ранних этапах развития эмбрионов кур. При этом средняя эффективность трансформации эмбриональных клеток составила 30-35% независимо от сроков введения лентивирусных векторов. У взрослой птицы экспрессия репортерного белка GFP была установлена, преимущественно, в клетках печени, кишечника, яйцевода, сердце, мышечной ткани, а также в половых клетках. Было установлено, что эффективность переноса генов с помощью лентивирусных векторов слабо варьирует при изменении времени введения после начала инкубации эмбрионов, что указывает на то, что только часть клеток эмбриона может быть доступна для инфицирования вирусом. Инфицирование эмбрионов на различных интервалах инкубации вирусными препаратами с одинаковыми титрами позволяет получать популяции эмбриональных клеток с различным количеством копий вектора в составе клеточного генома. Таким образом, эффективность переноса генов в эмбрионы птиц с использованием лентивирусных векторов не зависит от стадии развития эмбриона по меньшей мере в течение первых 55 часов инкубации и может быть прогнозируемой.

### ВКЛАД МУТАЦИЙ ГЕНОВ *OTOF*, *RAI1* И *SLC26A4* В ЭТИОЛОГИЮ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ПОТЕРИ СЛУХА НА АЛТАЕ И В ТУВЕ

Михальская В.Ю.<sup>1</sup>, Бады-Хоо М.С.<sup>1,2</sup>, Зыцарь М.В.<sup>1</sup>, Бондарь А.А.<sup>3</sup>, Морозов И.В.<sup>3,4</sup>, Посух О.Л.<sup>1,4</sup>  
<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия; <sup>2</sup>ГБУЗ РТ Перинатальный центр РТ, Кызыл, Россия; <sup>3</sup>ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия; <sup>4</sup>ФГБОУ ВПО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

*mikhalskaya@bionet.nsc.ru*

Наследственная потеря слуха характеризуется уникальной генетической гетерогенностью. В настоящее время картировано около 140 генетических локусов и идентифицировано около 90 генов, ассоциированных с несиндромальной потерей слуха. Наибольший патогенетический вклад (до 50%) в развитие этой патологии вносят мутации гена *GJB2* (Cx26, коннексин 26), скрининг которых имеет приоритетное значение для молекулярной диагностики нарушений слуха. Тем не менее, в большом числе случаев генетические причины глухоты остаются неизвестными. Высокая гетерогенность генетического контроля нарушений слуха (проблема «много генов – один фенотип») затрудняет разработку универсального метода диагностики данной патологии. В последнее время для решения данной проблемы используются новейшие методы геномного анализа. Применение экзомного секвенирования для выяснения генетических причин потери слуха в нескольких алтайских семьях с наследственной глухотой неясной этиологии позволило выявить сегрегацию потери слуха в этих семьях с гомозиготностью по рецессивным мутациям с.5254G>A, с.1111G>C, с.2168A>G в генах *RAI1*, *OTOF*, *SLC26A4*, соответственно. Последующий скрининг этих мутаций у больных разного этнического происхождения (алтайцы, тувинцы, русские, казахи), не имеющих мутаций в гене *GJB2* (Cx26) («Cx26-негативные» больные), из Республик Алтай (120 чел.) и Тыва (130 чел.) показал, что эти мутации присутствуют только у представителей коренного населения Республики Алтай – алтайцев. Доля алтайских больных с мутациями генов *RAI1*, *OTOF*, *SLC26A4* составила 10.6% (*RAI1*), 4.3% (*OTOF*) и 2.1% (*SLC26A4*). Частота гетерозиготного носительства мутации с.5254G>A (*RAI1*) в популяционной выборке алтайцев (120 чел.) – 3.33%, а с.1111G>C (*OTOF*) и с.2168A>G (*SLC26A4*) не были обнаружены. Полученные данные будут актуальны для разработки молекулярной диагностики наследственной потери слуха у населения исследуемых регионов Сибири.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №15-04-04860 и проекта №0324-2015-0031 Комплексной программы Сибирского отделения РАН II.2.

### ПРОТЕОМНЫЙ АНАЛИЗ МЕХАНИЗМОВ СОЛЕНОСТНОЙ АДАПТАЦИИ МОРСКИХ ГАСТРОПОД РОДА *LITTORINA*

Мураева О.А.<sup>1</sup>, Мальцева А.Л.<sup>1</sup>, Михайлова Н.А.<sup>1,2</sup>, Гранович А.И.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

*a.lot.of.meds@gmail.com*

Соленость – важный фактор среды для морских животных. Географическое распространение беспозвоночных-осмоконформеров детерминировано их толерантными и резистентными диапазонами по этому фактору (Бергер, 1986). Виды рода *Littorina* характеризуются различными ареалами распространения.

Вид *L. saxatilis*, в отличие от более молодых представителей этого рода – *L. compressa* и *L. arcana*, обитает в местах со значительными колебаниями солености. Вероятно, именно наличие эффективных соленостных адаптаций определяет его более широкий, по сравнению с родственными видами, ареал.

В литературе представлено не так много данных о механизмах соленостных адаптаций беспозвоночных на протеомном уровне. Целью нашей работы было проанализировать реакцию моллюсков *L. saxatilis* на острый соленостный стресс (до 10‰, 50% от исходной солености) с использованием протеомного подхода. В условиях экспериментального распреснения до третьего дня включительно наблюдалась реакция изоляции моллюсков от внешней среды, т.е. изменения протеома могут быть вызваны, в том числе длительной аноксией.

При сравнении протеомов *L. saxatilis*, экспонированных в нормальной и пониженной солености, были выявлены достоверные количественные изменения ряда белков в ответ на гипоосмотический стресс. Эти изменения частично повторялись в протеомах моллюсков, обитающих в условиях естественного распреснения. В ходе эксперимента было показано изменение уровня экспрессии 10% белков, часть из них была идентифицирована с применением масс-спектрометрического анализа. Среди них метаболические и детоксификационные ферменты, белки теплового шока, межклеточного матрикса и клеточных контактов.

Адаптационные изменения протеома в ответ на гипоосмотический стресс у моллюсков *L. saxatilis* могут быть разделены на три составляющие. (1) общий антистрессовый ответ клеток (аналогичный таковому при тепловом стрессе и гипоксии) и ремоделинг тканей (изменения в межклеточном матриксе и контактах клетка—матрикс). Эти изменения носят долгосрочный характер. (2) Переключение метаболических путей, направленное на поддержание энергетического баланса в условиях аноксии; оно относительно нестабильно во времени. (3) Самая краткая составляющая ответа – угнетение экспрессии части белков, не имеющих прямого отношения к адаптационным процессам организма моллюска.

На следующем этапе работы мы планируем: включение вида *L. obtusata* в анализ и смягчение стресса с целью избежать влияние аноксии на протеом. Это позволит не только охарактеризовать основные механизмы соленостной адаптации, но и оценить насколько они консервативны у близких видов.

#### АПОПТОЗИНДУЦИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ ХИТОЗАНА В ОТНОШЕНИИ МАЛИГНИЗИРОВАННОГО ЭПИТЕЛИЯ ЛЕГКИХ

Муртазина Р.Р., Зеленихин П.В.

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

*murtazinarr@gmail.com*

Одной из задач современной биомедицины является поиск новых потенциальных средств терапии злокачественных новообразований. Помочь в решении этой задачи способны поликатионы природного происхождения, которые проявляют широкий спектр биологической активности. Целью нашего исследования явилась оценка апоптозиндуцирующей активности узкодисперсных фракций природного поликатиона углеводной природы – хитозана на клетки малигнизированного эпителия легких. Образцы хитозанов были предоставлены Тихоновым В.Е., Институт элементарной органической химии им. А.Н. Несмеянова (ИНЭОС РАН). В эксперименте использовали клеточную линию аденокарциномы легких человека (A549). Клетки A549 культивировали на среде RPMI-1640 с добавлением 10% сыворотки, глутамина, по 100 ед/мл пенициллина и стрептомицина в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. По достижении монослоем клеток 60% конfluence заменяли среду в лунках на свежую с добавлением хитозанов в концентрации 200 мкг/мл. Индукцию апоптоза определяли при помощи проточного цитофлуориметра BD FACSCanto II после культивирования клеток в присутствии хитозанов в течение 24 часов и последующего окрашивания с помощью флуоресцентными красителями DiOC6 и йодидом пропидия. Узкодисперсные фракции хитозана обладали различным апоптозиндуцирующим действием на опухолевые клетки. Хитозан с молекулярной массой 9100 Да и степенью ацетилирования 9,7% индуцировал апоптоз у 55,1±1,3% клеток, а с молекулярной массой 3900 Да и степенью ацетилирования 22 % - 5,5±2,1 % клеток. В то время как в варианте без обработки хитозаном в состоянии апоптоза находились 2,3±1,2% клеток. Полученные результаты свидетельствуют, что для проявления хитозаном апоптозиндуцирующей активности, он должен обладать достаточно высокой молекулярной массой, но не препятствующей его растворимости, а также низкой степенью ацетилирования, что обеспечивает его высокий положительный заряд. Положительно заряженные молекулы хитозана связываются с отрицательно заряженной поверхностью раковых клеток, опосредуя их апоптоз. Конкретный механизм апоптогенного действия хитозанового поликатиона еще предстоит подробно изучить, но полученные данные позволяют сделать вывод о потенциальной возможности применения хитозана как перспективного противоопухолевого агента.

## ОЧИСТКА БЕЛКА GLNR ИЗ *LACTOBACILLUS PLANTARUM* 8PA3 И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ КОМПЛЕКСА СНР-МЕТОДОМ

**Неустроева О.А., Каюмов А.Р.**

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

*neustroev.olga@mail.ru*

Азот является одним из основных макроэлементов, необходимых для синтеза различных веществ, таких как аминокислоты, белки, витамины, нуклеиновые кислоты, поддерживающих жизнедеятельность клеток. Глутамин и ионы аммония – это предпочтительные источники азота, так как не требуют больших энергозатрат от клетки для усвоения. У бактерий рода *Lactobacilli* процессы, отвечающие за усвоение азота, практически не изучены. В геноме *Lactobacillus plantarum* 8PA3 мы идентифицировали ген *glnR*, кодирующий фактор транскрипции. Гомологи данного белка у многих бактерий являются регуляторами азотного обмена и становятся активными в условиях избытка азота. Ранее было выявлено, что у *Bacillus subtilis*, имеющих 84% гомологии данного белка с *L.plantarum* 8PA3, GlnR образует комплекс, состоящий из двух молекул белка и молекулы глутаминсинтетазы, и является фактором транскрипции оперона *glnA*. В отсутствие глутаминсинтетазы, комплекс также образуется, но в меньшем количестве.

Целью работы являлось получить очищенный рекомбинантный белок GlnR и идентифицировать промотеры-мишени данного белка в клетках *L.plantarum* 8PA3. Для этого были получены рекомбинантные штаммы *E.coli* BL21 pET15b-LpGlnR, способный к гиперпродукции рекомбинантного белка LpGlnR с N-концевой гексагистидиновой последовательностью и *E.coli* BL21 pASK-LpGlnR способный к гиперпродукции рекомбинантного белка LpGlnR со StrepII тагом. Белки очищены до электрофоретической гомогенности на Ni-NTA сефарозе(pET15b-LpGlnR) и на колонке Strep-tag(pASK-LpGlnR). Далее этот белок будет использован для определения образования белкового комплекса, в клетках *L.plantarum* 8PA3, путем метода иммунопреципитации с геномной ДНК *L.plantarum* 8PA3

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 15-04-02583а.

## МЕТОДИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ВЫЯВЛЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К СИНДРОМУ ЭПИЗОДИЧЕСКОГО ПАДЕНИЯ У КАВАЛЕР КИНГ ЧАРЛЬЗ СПАНИЕЛЕЙ

**Носова А.Ю., Зайцева О.И., Сидоренко Е.В.**

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

*A.Nosova@igc.by*

Популяции домашних животных включают несколько сотен различных пород, которые, как правило, происходят от небольшого числа основателей. Для каждой породы, представляющей изолированные и относительно однородные популяции, существует жесткий отбор на желаемые фенотипические и поведенческие характеристики, поэтому особи, обладающие ими, активно используются в разведении. Полученная в результате популяция может нести в себе множество спонтанно возникших негативных мутаций с возможностью многократного увеличения числа наследственных нарушений.

Синдром эпизодического падения (Episodic Falling Syndrome – EFS) относится к часто встречаемым генетическим нарушениям у кавалер кинг чарльз спаниелей. Это генетически обусловленный комплекс симптомов, сопровождающихся гипертонусом мышц в ответ на физическую нагрузку, эмоциональное возбуждение или стресс, в редких случаях проявляется без внешней причины. Данное аутосомно-рецессивное заболевание ассоциировано с геном *VCAN*, кодирующим белок, который участвует в образовании перехватов Ранвье, и нарушение его функций приводит к снижению проводимости миелинизированных аксонов. Проверка производителей на носительство мутации позволит снизить количество щенков, имеющих EPS. Информированность владельца собаки о её склонности к нервным припадкам способствует оказанию своевременной помощи и снизит число летальных исходов.

Нами изучено 75 чистопородных животных (из них 17 представители породы кавалер кинг чарльз спаниель). Идентификация аллельного состава гена *VCAN* проводилась с использованием ПЦР-анализа со специфичными молекулярными маркерами. Для выявления аллельного состава локуса *VCAN* проводятся две ПЦР реакции на каждый образец: с парами праймеров EFS1+EFS2 (для дикого аллеля гена) и EFS1+EFS3 (для мутантного аллеля гена).

Из 17 кавалер кинг чарльз спаниелей нами было выявлено 5 гетерозигот (носителей) и 1 гомозигота по мутантному аллелю (особь с EFS). У представителей других пород мутация нами не выявлена.

Таким образом, данная методика может быть использована для эффективной диагностики EFS в популяции кавалер кинг чарльз спаниелей с клиническими проявлениями недуга, так и для мониторинга групп риска, что позволит идентифицировать носителей и исключить из разведения. Кроме того, поскольку фенотип и здоровье животных зависит как от генетических факторов, так и от внешних условий, правильное содержание животного может купировать проявление наиболее тяжелых симптомов и продлить ему жизнь.

Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ (№Б15М-032).

## ДЕЙСТВИЕ ИОНОВ $Ag(I)$ НА *E. COLI*, СИНТЕЗИРУЮЩИЕ БЕЛОК GST-NDCTR1, И ЕГО ХЕЛАТИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА

Орлов Ю.А.<sup>1,2</sup>, Санькова Т.П.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

*orlov239@gmail.com*

Медьсодержащие белки жизненно необходимы для всех организмов, но в свободном состоянии ионы меди токсичны. В организме человека за безопасную транспортировку меди отвечает система медьтранспортирующих белков (СМБ). В терапии патологических состояний, вызванных избытком несвязанной меди, для выведения ионов металла из организма применяют соединения-хелаторы. Наиболее широкое распространение получили синтетические хелаторы, которые вызывают тяжелые побочные эффекты. Настоящая работа посвящена исследованию хелатирующих свойств N-концевого домена белка CTR1 (NdCTR1), высокоаффинного импортера меди, тример которого образует купрофильную пору в клеточной мембране. Белок CTR1 связывает металлы внеклеточной среды за счет NdCTR1. Помимо меди он импортирует в клетку серебро, в силу схожести ионов  $Ag^+$  и  $Cu^+$ , и цисплатин, противоопухолевый препарат платины. На представленной пилотной стадии проекта в качестве экзогенного металла использовали серебро.

Для достижения поставленной цели в плазмидном экспрессирующем векторе pGEX-4T-1, обеспечивающем синтез слитого с GST белка, клонировали участок человеческого гена Slc31a1, кодирующий NdCTR1. Полученной конструкцией трансформировали штамм *E. coli* BL21 (DE3). Экспрессию индуцировали IPTG, соответствие продукта белку GST-NdCTR1 доказали секвенированием плазмидной вставки и иммуноблоттингом с антителами к NdCTR1.

Штамм, синтезирующий GST-NdCTR1, инкубировали в растворах нитрата серебра. В качестве контрольного штамма использовали GST-синтезирующие *E. coli*. Через сутки инкубации титр контрольного штамма был не менее чем на три порядка ниже титра экспериментального. Методом проточной цитометрии установили, что воздействие ионов серебра на бактерии вызывает у них апоптозоподобный процесс, характеризующийся начальной экстернализацией фосфатидилсерина с дальнейшим нарушением целостности мембраны. Гель-фильтрация лизатов с последующим измерением металла во фракциях методом ААС показала, что GST-NdCTR1 синтезирующий штамм накапливает больше ионов Ag, чем контрольный. Это также подтверждено иммунопреципитацией комплексов GST-NdCTR1-Ag с антителами к NdCTR1. Неоднозначное положение GST-NdCTR1 в профиле элюции, определенное по GST активности белка, указывает на формирование различных олигомеров полипептида в нативных условиях, неописанное ранее для NdCTR1. Полученные результаты позволяют утверждать, что GST-NdCTR1 хелатирует ионы Ag, предотвращая апоптозоподобную гибель бактерий, что является отправной точкой для последующих исследований.

## БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНА ОВЕЧЬЕГО ИНТЕРФЕРОНА-А

Острикова К.В., Голенченко С.Г., Потапович М.И., Прокулевич В.А.

Белорусский государственный университет, Минск, Белоруссия

*kristiost@mail.ru*

В овцеводстве инфекционные заболевания приводят к значительным экономическим потерям и если для лечения болезней бактериальной этиологии используют антибиотики, то для терапии вирусных заболеваний (анаплазмоз, пневмония, мастит) большие надежды связывают с препаратами на основе интерферонов (ИФН).

В ветеринарной практике широко используются препараты на основе человеческого рекомбинантного ИФН- $\alpha$  («Миксоферон» и др.), которые обладают прямым противовирусным действием, стимулируют иммунные процессы, а также повышают неспецифическую резистентность организма животных. Недостатком препаратов на основе гетерологичных ИФН является необходимость введения высоких доз, которые в сотни раз превышают терапевтические, что в конечном итоге приводит к нежелательным иммунным ответам.

Цель данной работы, рассмотреть возможность применения имеющихся на рынке рекомбинантных ИФН- $\alpha$  для создания на их основе противовирусных препаратов для овец.

На сегодняшний день в Республике Беларусь выпускаются препараты на основе свиного, бычьего, лошадиного, человеческого и собачьего ИФН- $\alpha$ . Для выяснения возможности использования уже имеющихся препаратов для лечения заболеваний вирусной этиологии овец, проводили сравнение

аминокислотной последовательности овечьего ИФН- $\alpha$  при помощи множественного выравнивания с уже клонированными последовательностями ИФН- $\alpha$  других млекопитающих.

Все проанализированные последовательности ИФН- $\alpha$ , за исключением бычьего, существенно отличаются по аминокислотной последовательности от овечьего ИФН- $\alpha$  как в целом, так и в участках, которые отвечают за связывание с рецепторами, поэтому только препараты бычьего ИФН могут рассматриваться как потенциальные противовирусные агенты для овец. В последовательности овечьего ИФН- $\alpha$  в 123 положении вместо тирозина (Y) - гистидин (H), что отличает овечий ИФН- $\alpha$  даже от относительно близкого ему бычьего ИФН- $\alpha$  и делает его уникальным. Сходство бычьего ИФН- $\alpha$  с последовательностью овечьего ИФН- $\alpha$  не превышает 90%, а значит можно говорить об иммуногенности бычьего ИФН- $\alpha$ , что может приводить к нежелательным побочным эффектам, что, в конечном итоге, сильно ограничивает возможность использования препаратов на основе бычьего ИФН для терапии и профилактики инфекционных заболеваний у овец.

Таким образом, полученные в результате биоинформатического анализа данные, дают основание сделать заключение, что ни один из существующих на рынке ветеринарных препаратов ИФН не подходит для терапии вирусных заболеваний овец.

### **ПРОФИЛЬ МЕТИЛИРОВАНИЯ 10 ГЕНОВ МИКРО-РНК ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

**Переяслова Е.А.<sup>1</sup>, Пронина И.В.<sup>2</sup>, Хоконова В.В.<sup>1</sup>, Бурденный А.М.<sup>1</sup>, Логинов В.И.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБНУ Медико-генетический научный центр, Москва, Россия.

*p.lenyxa@yandex.ru*

МикроРНК(миРНК) – это класс малых некодирующих РНК длиной 18-24 нуклеотида, выполняющих функцию пост-транскрипционного регулятора экспрессии белок-кодирующих генов. Всего на сегодняшний день известно около 2585 зрелых миРНК человека, участвующих в регуляции экспрессии более 60% белок-кодирующих генов. МиРНК могут играть роль, как онкогенов, так и генов-супрессоров опухолевого роста в патогенезе рака молочной железы (РМЖ). Одним из путей регуляции экспрессии самих генов миРНК является изменение метилирования их CpG-островков, прилежащих или перекрывающих ген миРНК.

Целью нашей работы являлось определение статуса метилирования 10 генов миРНК в парных (опухоль / норма) образцах РМЖ.

Материалы и методы. Отбор генов микроРНК проводили с помощью баз данных: miRBase, miRGen, TargetScan, CpGcluster. С помощью метода метил-специфической ПЦР проводили анализ профиля метилирования CpG-островков генов миРНК. Для первичного скрининга использовали материал от 14 пациентов. Резекционный материал, содержащий не менее 70% опухолевых клеток, был получен от пациентов, которые не были подвержены лучевой или химиотерапии. В качестве дополнительного контроля использовали 5 образцов тканей молочной железы, полученных от доноров без онкологических заболеваний в анамнезе.

Результаты. Нами впервые показана высокая частота (от 50 до 86% случаев) метилирования для 7 генов из 10 исследованных (MIR-129-2, -132, -193a, -34b/c, -375, -9-3). Показано, что при РМЖ частота метилирования исследованных генов MIR-129-2, -132, -193a, -34b/c значительно выше, чем в образцах гистологически нормальной ткани ( $P \leq 0.05$ , по Фишеру). У онкологически здоровых метилирование этих генов не найдено. Нами установлена достоверная корреляция частоты метилирования промоторного района гена MIR-375 с возрастом пациентов при РМЖ ( $P = 0.0405$ ). Нами также показана корреляция частоты метилирования для гена MIR-129-2 с размером опухоли, а гена MIR-132 со стадией. В нашей работе мы показали, что метилирование исследованных миРНК выявляется уже на ранней стадии развития РМЖ.

Выводы. Полученные нами данные расширяют спектр генов миРНК, изменяющих профиль метилирования в опухолях молочной железы, что важно для развития представлений о свойствах микроРНК, способах регуляции их экспрессии и роли в онкогенезе. Полученные сведения могут быть использованы для отбора новых диагностических и прогностических маркеров рака молочной железы. Работа выполнена при поддержке гранта Russian Science Foundation (RSF) № 14-15-00654.

### **КЛОНИРОВАНИЕ ГЕНА, КОДИРУЮЩЕГО БЫЧИЙ ГРАНУЛОЦИТАРНО-МАКРОФАГАЛЬНЫЙ КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩИЙ ФАКТОР-2**

**Пермякова В.И., Потапович М.И., Прокулевич В.А.**

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

*viktoria.permiakova@gmail.com*

Колониестимулирующие факторы (КСФ) относятся к цитокинам, которые представляют собой класс сигнальных белков, участвующих в клеточном взаимодействии, иммунной функции и эмбриогенезе. В последнее время были открыты перспективы применения гранулоцитарно-макрофагального

колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) в терапии ряда заболеваний иммунной и кроветворной системы. ГМ-КСФ представляет собой гликопротеин, который вызывает пролиферацию и дифференцировку клеток гранулоцитарного (включая эозинофилы) и моноцитарно-макрофагального ростка кроветворения. Кроме того, он активизирует функции зрелых нейтрофилов. Так как дегликозилированный белок сохраняет полную биологическую активность, это делает актуальной задачу его получения методами генной инженерии путем экспрессии соответствующего гена в клетках бактерий.

В ходе работы была смоделирована нуклеотидная последовательность гена бычьего ГМ-КСФ-2 (исходная последовательность взята из базы данных GenBank, код доступа NM\_174027.2), адаптированная для эффективной экспрессии в клетках бактерий *E.coli*. Рассчитанный индекс адаптации кодонов для исходной последовательности бычьего ГМ-КСФ-2 составил 0,62, а для оптимизированной – 0,99. Оптимизированная нуклеотидная последовательность бычьего ГМ-КСФ-2 была синтезирована и клонирована в составе вектора pET-24b по сайтам рестриктаз *Nde* I и *Eco* RI. Результаты рестрикционного и ПЦР-анализа подтвердили наличие гена бычьего ГМ-КСФ-2 в составе рекомбинантной плазмиды.

### **ВЛИЯНИЕ МУТАЦИЙ В КОР-ФЕРМЕНТЕ И $\sigma$ -СУБЪЕДИНИЦЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ НА СКОРОСТЬ УХОДА С ПРОМОТОРА**

**Петушков И.В.<sup>1,2</sup>, Пулов Д.В.<sup>1</sup>, Кульбачинский А.В.<sup>1,2</sup>**

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

*telomer1@rambler.ru*

Инициация транскрипции является ключевым этапом экспрессии генов. У бактерий инициация происходит при участии холофермента РНК-полимеразы (РНКП) и включает этапы узнавания и плавления промотора, инициацию синтеза РНК, синтез коротких abortивных продуктов и уход с промотора. Несмотря на многолетние исследования, до сих пор мало известно о кинетике ухода РНКП с промотора, а также о влиянии на этот процесс транскрипционных факторов. Целью нашей работы является изучение процесса перехода от инициации к элонгации транскрипции с использованием недавно изобретенного метода молекулярных маяков, который позволяет в режиме реального времени детектировать образование и разрыв контактов РНКП с промотором.

Мы получили мутации в районе fork-loop2  $\beta$ -субъединицы (FL2) и районе 3.2  $\sigma$ -субъединицы РНКП, которые потенциально могут влиять на процесс ухода с промотора. Район FL2 по структурным данным образует специфические контакты с остатком гуанина в +2 положении нематричной цепи ДНК в промоторном комплексе. Район  $\sigma$ 3.2 проникает в активный центр и перекрывает путь выхода синтезируемого РНК-транскрипта. Мы показали, что мутации в этих районах влияют на соотношение abortивных и полноразмерных продуктов и, вероятно, изменяют скорость ухода с промотора. Для проверки этого предположения мы измерили кинетику ухода РНКП при инициации на разных промоторах – как дикого типа, так и с консенсусными -10 и -35-элементами. Было установлено, что наличие остатка гуанина в +2 положении промотора замедляет скорость перехода к элонгации, но это не связано с образованием специфических контактов с районом FL2. Транскрипционный фактор GreB увеличивает скорость ухода с некоторых промоторов. В то же время, мутации в районе  $\sigma$ 3.2 затрудняют уход с промотора, причём GreB не только не способен супрессировать эффект мутации, но, наоборот, дополнительно уменьшает скорость перехода к элонгации. Такой же эффект наблюдается при использовании в качестве затравки динуклеотидного РНК-праймера, лишённого 5'-трифосфатной группы. Полученные данные подтверждают, что район  $\sigma$ 3.2 играет важную роль в разрыве контактов РНКП с промотором, и показывают, что 5'-концевой трифосфат способствует успешному удлинению РНК-транскрипта в ходе инициации транскрипции.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-34-00824.

### **ДИЗАЙН НОВЫХ ВАРИАНТОВ ПРИОНА [PSI<sup>+</sup>]**

**Полещук О.И., Бондарев С.А., Лихолетова Д.В., Журавлева Г.А.**

ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*poleshchukolala@gmail.com*

Прионы – это инфекционные или наследуемые факторы, имеющие белковую природу. Они представляют собой агрегаты, образующиеся благодаря изменению конформации определенного белка и присоединению его к уже имеющимся «затравкам». По своим свойствам эти комплексы схожи с амилоидами, поэтому прионы также называют инфекционными амилоидами. Прионы были обнаружены, как агенты, вызывающие неизлечимые заболевания человека и животных, в то время как у низших эукариот они могут придавать клетке новые адаптивные черты. Прион [PSI<sup>+</sup>] обнаружен у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Его появление обусловлено агрегацией белка Sup35, который является фактором терминации трансляции. Имобилизация в составе агрегатов приводит к частичной его инактивации. В результате,

появление приона [ $PSI^+$ ] приводит к снижению эффективности терминации трансляции. Фенотипически это можно зафиксировать как нонсенс-супрессию, т. е. прочтение преждевременных стоп-кодонов как значащих.

Изучение структуры белка Sup35 в составе агрегатов представляет особый интерес, так как именно она определяет свойства приона. В настоящее время не существует быстрого способа точного определения структуры амилоидов, что существенно затрудняет их исследования. В нашей лаборатории в сотрудничестве с А. Каявой был разработан уникальный алгоритм предсказания вторичной структуры белка в составе агрегатов, который основан на комбинировании арок, предсказываемых программой ArchCandy и построения из них  $\beta$ -серпантинов. Целью представленной работы является проверка адекватности этого алгоритма. Для этого мы разработали наборы двойных мутаций, приводящих к заменам полярных аминокислот на заряженные в прионообразующем домене белка Sup35, которые уменьшают количество комбинаций  $\beta$ -арок и, как следствие, снижают количество потенциальных  $\beta$ -серпантинов. Эти мутации также четко ограничивают участки, вовлекаемые в образование агрегатов. Сверхпродукция мутантных вариантов Sup35 позволит получить варианты приона [ $PSI^+$ ], структуры которых предсказаны с помощью нашего алгоритма.

Работа выполнена при поддержке грантов СПбГУ (1.37.291.2015 и 15.61.2218.2013), грантов РФФИ (16-04-00202, 16-34-00582, 15-04-06650), а также ресурсного центра «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ.

### **ИЗУЧЕНИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ PRRX1, RAB3B И HKDC1 В ТКАНЯХ ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНОЙ КАРЦИНОМЫ ЧЕЛОВЕКА**

**Полуконова А.В.<sup>1</sup>, Чесноков М.С.<sup>2</sup>, Лазаревич Н.Л.<sup>2,3</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия; <sup>2</sup>НИИ Канцерогенеза ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина Минздрава России, Москва, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*polukonova.av@gmail.com*

Гепатоцеллюлярная карцинома (ГК) – злокачественная опухоль печени, характеризующаяся неблагоприятным прогнозом и устойчивостью к стандартным схемам химиотерапии. Одним из перспективных подходов к снижению смертности от ГК является поиск новых маркеров ГК для ранней диагностики этого заболевания. Гены, которые гиперэкспрессированы в опухоли, могут быть перспективными онкомаркерами или мишенями для таргетной терапии. На основании анализа результатов полнотранскриптомного секвенирования ГК нами были выбраны гены PRRX1, RAB3B и HKDC1, уровни экспрессии которых в ткани ГК были значительно выше, чем в неопухоловой ткани печени тех же пациентов. Транскрипционный фактор PRRX1 регулирует дифференцировку клеток при эпителиально-мезенхимальном переходе и участвует в прогрессии некоторых типов эпителиальных опухолей. Ген RAB3B кодирует малоизученную ГТФазу суперсемейства Ras. Гексокиназа HKDC1 задействована в метаболических процессах, которые могут оказывать влияние на развитие опухоли.

Целью работы было выявить и проанализировать закономерности экспрессии генов PRRX1, RAB3B и HKDC1 на расширенной выборке ГК человека.

Материалом для исследования послужила панель из 16 пар образцов опухоли и прилегающей неопухоловой ткани печени, полученных при резекции опухолей. Уровни экспрессии генов PRRX1, RAB3B и HKDC1 исследовали методом количественной ОТ-ПЦР в реальном времени. Для выравнивания количества кДНК, взятой в реакцию, использовали ген GAPDH.

Результаты. В ткани ГК выявлено значительное повышение уровня экспрессии генов PRRX1, RAB3B и HKDC1 по сравнению с прилегающей неопухоловой тканью печени. Уровень экспрессии гена PRRX1 повышается в 14 из 16 образцов ГК (88%). Уровень экспрессии гена RAB3B повышен в опухоли в 15 из 16 случаев (94%). Уровень экспрессии гена HKDC1 повышается в опухолевой ткани в 13 из 16 случаев (81%). Таким образом, данные гены являются перспективными для дальнейшего изучения в качестве потенциальных маркеров или эффекторов ГК.

Работа частично поддержана грантом Минобрнауки (соглашение 14.607.21.0049, RFMEFI60714X0049).

### **СОЗДАНИЕ КЛЕТОЧНОЙ МОДЕЛИ ВОСПАЛЕНИЯ, ОБУСЛОВЛЕННОГО МУТАЦИЯМИ В ГЕНЕ CARD14**

**Преловская А.Н., Золотаренко А.Д., Брускин С.А.**

ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И.Вавилова РАН, Москва, Россия

*anna199292@mail.ru*

Воспаление – комплексный процесс, который возникает, как правило, локально, в ответ на повреждение, но может системно распространяться по всему организму. Поэтому нарушения регуляции



воспаления могут приводить к тяжелым последствиям, например, различным иммуноопосредованным заболеваниям, таким, как псориаз, атопический дерматит и другие. Одним из основных транскрипционных факторов, регулирующих воспаление, является NFκB. Его активация происходит в результате каскада реакций, одним из участников которых является белок CARD14, находящийся в локусе предрасположенности к псориазу PSORS2. Белок CARD14 специфично экспрессируется в эпидермальных кератиноцитах, и некоторые из идентифицированных мутаций в данном гене приводят к активации NF-κB и усилению экспрессии ассоциированных с псориазом цитокинов и хемокинов, в том числе *IL8*, *CCL20* и *IL-36*. В недавних исследованиях были найдены ассоциированные с псориазом мутации в гене *CARD14*.

В данной работе с помощью CRISPR/Cas системы были созданы клеточные модели, несущие мутации, которые позволяют изучать регуляцию воспаления. Для этого на основе плазмиды [pSpCas9\(BB\)-2A-GFP](#) создали конструкцию, несущую Cas9, eGFP и sgRNA, нацеленную на второй экзон *CARD14*. Введение данной плазмидной конструкции в клетки линии HEK-293 привело к сдвигу рамки считывания гена *CARD14* путем образования двуцепочечного разрыва с последующим соединением негомологичных концов (NHEJ). Оценка уровня экспрессии *IL-8*, который является геном-мишенью NFκB и провоспалительным цитокином, сильно экспрессирующимся при псориазе, показала более чем двукратное снижение экспрессии этого цитокина в мутантной линии клеток. Следующим этапом работы стало введение точечных мутаций, ассоциированных с псориазом, в ген *CARD14*. Для этого были созданы конструкции для редактирования с применением гомологичной рекомбинации (HDR), которые позволили ввести в ген *CARD14* мутацию с.413A>C (p.Glu138Ala). Анализ экспрессии генов-маркеров псориазического воспаления показал характерные для псориаза изменения их экспрессии на мутантной клеточной линии. В ходе дальнейшей работы планируется создание клеточных линий кератиноцитов, несущих другие мутации в гене *CARD14*, ассоциированные с псориазом, и оценка экспрессии генов-маркеров псориазического процесса на полученных клеточных линиях. Полученные клеточные линии могут выступать в качестве моделей для изучения характерного для псориаза воспаления и для выявления ключевых звеньев сигнального каскада CARD14-NFκB, являющихся возможными мишенями при разработке терапевтических препаратов.

#### ИСКУССТВЕННЫЙ СИНТЕЗ РАКОВО-ТЕСТИКУЛЯРНОГО ГЕНА NY-ESO -1 И ЕГО КЛОНИРОВАНИЕ В ЭКСПРЕССИРУЮЩИЙ ВЕКТОР.

Пушкова Е.Н.<sup>1</sup>, Финашутина Ю.П.<sup>2</sup>, Мисюрин А.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Московский педагогический государственный университет, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУ Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

*pushkova18@gmail.com*

**Введение.** Раково-тестикулярные гены (РТГ от английского cancer-testis gen) – это группа генов, экспрессия которых в норме обычно наблюдается только в семенниках. Однако было обнаружено, что активация данных генов может происходить при различных онкологических заболеваниях. Белковые продукты, кодируемые этими генами, очень иммуногенны и называются раково-тестикулярными антигенами (РТА, от английского cancer-testis antigen). Существование таких биомаркеров, делает возможным их использование в качестве мишеней для иммунотерапии.

**Цель.** Получить кодирующую последовательность раково-тестикулярного гена NY-ESO-1 и клонировать его в экспрессирующий вектор.

**Материалы и методы.** Кодирующая последовательность гена NY-ESO-1 была искусственно синтезирована на основе 11 химически синтезированных фрагментов размером около 50 нуклеотид, (заказанных в ЗАО «Евроген», Москва), методом 2-х стадийной полимеразной цепной реакции. Далее кодирующая последовательность гена была клонирована в плазмиду pET-15b для экспрессии в штамме *E.coli* BL21(DE3)pLysS. Подлинность нуклеотидной последовательности плазмиды и гена NY-ESO-1 была подтверждена прямым секвенированием по методу Сэнгера.

**Результаты и обсуждения.** Получена, искусственно синтезированная кодирующая последовательность гена NY-ESO-1. Также, получена плаزمиды для экспрессии гена NY-ESO-1 в бактериальных клетках. Синтез гена искусственно – это большой и трудоемкий процесс. Для каждого гена требуется адаптация существующих методик постановки ПЦР, в противном случае получить копию гена не удастся. Таким образом, нами была разработана система специфических праймеров для постановки ПЦР, в программе Vector NTI Advance 10 (Invitrogen, США). Важно отметить, что ген NY-ESO-1 содержит в своем составе большое количество ГЦ-богатых последовательностей 67,5%, также в гене содержится 11 палиндромов и 14 повторов из них (13 ГЦ) в результате с этим связаны большие трудности при постановке полимеразной цепной реакции. Для улучшения прохождения реакции были добавлены 1М бетаин для стабилизации фермента, а также 4% формамид для подавления образования шпилек на мДНК и ДНК праймеров.

**Закключение.** В настоящем исследовании разработан и оптимизирован метод получения кодирующей последовательности гена NY-ESO-1. Сконструирована плазмиды для экспрессии гена

NY-ESO-1 в бактериальных клетках. В дальнейшем будет проведена работа по получению бактериального продуцента рекомбинантного человеческого антигена NY-ESO-1, который может быть использован для широкого спектра биохимических и иммунологических исследований.

### **ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ ПАРАОКСОНАЗЫ 1 (PON1) У РАБОТНИКОВ ПРЕДПРИЯТИЙ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИХ ХРАНЕНИЕ И УТИЛИЗАЦИЮ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ ХИМИКАТОВ**

**Разгильдина Н.Д.<sup>1,2</sup>, Мирошникова В.В.<sup>1</sup>, Пантелеева А.А.<sup>1,3</sup>, Фомичев А.В.<sup>4</sup>, Малышева Е.В.<sup>4</sup>,  
Пчелина С.Н.<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup>Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ Курчатовский институт, Гатчина, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский политехнический университет им. Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия; <sup>4</sup>ФГБОУ ВПО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия.

*razgnata@mail.ru*

Работа на промышленных предприятиях, обеспечивающих хранение и утилизацию фосфорорганических соединений (ФОС), характеризуется повышенным риском развития патологий органов пищеварения. Основным фактором, обуславливающим повышение заболеваемости у лиц, работающих на таких предприятиях, по сравнению с основным населением, несомненно, является высокая токсичность ФОС. Фермент сыворотки крови параоксоназы 1 (PON1) обладает свойством метаболизировать соединения фосфорорганической природы – пестициды, а также нервнопаралитические агенты. Активность данного фермента, с одной стороны, определяется генотипом *PON1*, а с другой стороны воздействием окружающей среды. Мы предположили, что активность параоксоназы 1 может модулироваться взаимодействием с высокотоксичными ФОС, а также может влиять на развитие заболеваний пищеварительной системы.

Цель исследования: изучение влияния долговременной работы на предприятии, обеспечивающем хранение и утилизацию ФОС, на активность *PON1* и развитие патологий пищеварительной системы в зависимости от генотипа по *PON1*.

Материалы и методы. Для исследования были собраны образцы венозной крови и сыворотки, результаты клинических исследований пищеварительной системы от 90 индивидуумов: 1) лица, более 3 лет работающие на предприятии, обеспечивающем хранение и утилизацию ФОС (N=67); 2) контрольная группа (N=23). ДНК выделяли из венозной крови фенол-хлороформным методом. Генотипирование вариантов Q191R, L54M, C(-108)T гена *PON1* проводили методом ПЦР с последующим рестрикционным анализом. Активность *PON1* в сыворотке крови измеряли кинетическим методом относительно субстрата параоксон на спектрофотометре BioRad при длине волны 412 нм.

Результаты. Независимо от условий труда активность *PON1* определяется генотипами Q191R (RR>QR>QQ,  $p=0.000$ ) и L54M (LL>LM>MM,  $p=0.001$ ). Наше исследование показало, что в целом активность *PON1* была выше у работников предприятия по утилизации ФОС, чем в контрольной группе ( $p<0.03$ ). В зависимости от полиморфного варианта L54M, у работников-носителей генотипа LL активность *PON1* была выше, чем у представителей контрольной группы, являющихся носителями данного генотипа ( $p<0.02$ ). В зависимости от полиморфного варианта C(-108)T, у работников-носителей аллеля C активность *PON1* была выше, чем у представителей контрольной группы, являющихся носителями данного аллеля ( $p=0.005$ ). В зависимости от полиморфного варианта Q191R, у представителей контрольной группы, у которых был диагностирован гастрит, являющихся носителями генотипа QQ, активность *PON1* была ниже по сравнению со здоровыми индивидуумами ( $p=0.002$ ). При гепатозе, неассоциированном с панкреатитом, у работников-носителей аллеля R наблюдалось повышение активности фермента по сравнению с лицами, у которых гепатоз обнаружен не был ( $p<0.03$ ).

Закключение. При носительстве генотипа QQ более высокая активность *PON1* ассоциируется с отсутствием заболеваний пищеварительной системы. У работников предприятий, обеспечивающих хранение и утилизацию ФОС, наблюдается повышение активности *PON1* в зависимости от носительства определенных генотипов по гену *PON1*.

### **СОЗДАНИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОЛИПЛОИДНЫХ ФОРМ ХМЕЛЯ ЯПОНСКОГО (HUMULUS JAPONICUS SIEBOLD & ZUCC)**

**Разумова О.В., Александров О.С., Киров И.В.**

ФГБОУ ВПО Российский государственный аграрный университет - МСХА им. К.А. Тимирязева,  
Москва, Россия

*razumovao@gmail.com*

Подавляющее большинство видов покрытосеменных растений представлено гермафродитными формами, и лишь некоторые из них являются двудомными. Еще у меньшего числа видов выявлены гетероморфные половые хромосомы. Хмель японский - двудомное растение с мультихромосомной

системой, женские растения имеют в кариотипе 14 аутосом и пару гомоморфных X хромосом ( $2n=16$ ), мужские - 14 аутосом и XY1Y2 хромосомы ( $2n=17$ ). Предполагается, что механизм детерминации пола у хмеля японского балансовый, т.е. проявление пола зависит от соотношения X хромосом к аутосомам, однако это не было продемонстрировано. Классическим методом изучения влияния хромосом на формирование признаков, в том числе признаков формирования пола, является изучение анеуплоидов. В нашей лаборатории созданы первичные женские и мужские тетраплоидные формы *Humulus japonicus* с хромосомным набором XXXX и XXУ1У1У2У2 соответственно. В своей работе, путем скрещивания первичных тетраплоидов, мы получили вторичные тетраплоиды с различными сочетаниями половых хромосом. Идентификацию половых хромосом в гибридах проводили с использованием методов молекулярной цитогенетики - флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) с субтеломерным повтором в качестве зонда, который является маркером на половые хромосомы хмеля японского, а также с модификацией геномной *in situ* гибридизацией (self-GISH), где в качестве пробы используем меченную ДНК мужских растений. Кроме того, пол растений был определен молекулярными ДНК-маркерами и фенотипически.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, соглашение № 16-34-0075716

### **ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА РЕКОМБИНАНТНОГО АНТИМЮЛЛЕРОВА ГОРМОНА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ**

**Рак А.Я., Петров А.В., Ищенко А.М.**

ФГУП Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов ФМБА России,  
Санкт-Петербург, Россия  
*alexandrak.bio@gmail.com*

Антимюллеров гормон (АМГ) – гликопротеин, относящийся к суперсемейству цитокинов TGF- $\beta$  и имеющий молекулярную массу около 140 КДа. В ходе эмбриогенеза млекопитающих он синтезируется клетками Сертоли, что вызывает инволюцию мюллеровых протоков. Обнаружена также постнатальная продукция АМГ, которая, вероятно, необходима для регуляции функционирования половой системы. Действие АМГ реализуется через его связывание с рецептором АМГ II типа (MISRII), который затем образует гетеромерный комплекс с рецептором АМГ I типа. В последнее время интерес к АМГ значительно возрос, что связано с появлением экспериментальных данных о противоопухолевой активности этого гормона.

Характерной особенностью АМГ, как члена суперсемейства TGF- $\beta$ , является наличие сайта внутримолекулярного протеолитического расщепления, в результате которого димерная молекула разделяется на N- и C-концевой гомодимеры (молекулярная масса 110 КДа и 25 КДа, соответственно), которые затем образуют прочно ассоциированный нековалентно связанный комплекс. В настоящее время имеются лишь противоречивые данные о том, какое именно производное АМГ является биологически активным; отсутствует и система получения препаративных количеств АМГ.

В данной работе была разработана технология эффективного выделения и очистки полноразмерного рекомбинантного АМГ и его производных хроматографическими методами. Также с помощью специально разработанной тест-системы была изучена биологическая активность полноразмерного АМГ и производных гормона. Была установлена возможность потенциального использования рекомбинантного АМГ как адьюванта для доставки лекарственных агентов к клеткам некоторых опухолей. Впервые была исследована фармакокинетика полноразмерного рекомбинантного АМГ у мыши и динамика его расщепления *in vitro* у кролика.

### **ХАРАКТЕРИСТИКА АПОПТОЗИНДУЦИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ РИБОНУКЛЕАЗЫ BACILLUS PUMILUS В ОТНОШЕНИИ КЛЕТОК ЭПИТЕЛИЯ ПОЧЕК**

**Сабирова М.И., Зеленихин П.В.**

ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия  
*mil.sabirowa@yandex.ru*

В последнее время увеличивается интерес к рибонуклеазам различного происхождения, которые благодаря своей биологической активности могут стать основой для разработки противоопухолевых препаратов. Перспективным является использование биназы - гуанилспецифичной РНКазы *Bacillus pumillus*, которая проявляет селективное цитотоксическое действие в отношении ряда типов опухолевых клеток. Для обоснования возможности применения фермента в качестве противоопухолевого агента необходимо подтвердить его пониженное токсическое действие на немалигнезированные клетки. В связи с этим, целью настоящего исследования явилась оценка апоптозиндуцирующей активности рибонуклеазы *Bacillus pumillus* (биназы) на клеточные линии нормального эпителия почек зеленой мартышки (VERO), свиньи (PK-15), собаки (MDCK).

Клетки VERO культивировали в среде EMEM, а клетки PK-15 и MDCK - в среде DMEM с добавлением 10% сыворотки, глутамина и по 100 ед/мл пенициллина и стрептомицина в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. После достижения монослоем клеток 60% конfluence заменяли среду в лунках на свежую и вносили биназу в концентрациях 100 мкг/мл и 300 мкг/мл. Классический индуктор апоптоза – камптотетин (20 мкМ) использовали в качестве позитивного контроля. Клетки культивировали в присутствии фермента 24 часа, после чего трипсинизировали и окрашивали суспензию с помощью флуоресцентного красителя MC540, специфически связывающегося с фосфатидилсеринем на поверхности апоптотических клеток, и оценивали долю клеток в состоянии апоптоза на проточном цитофлуориметре BD FCSCanto II.

Нами установлено, что во всем диапазоне исследованных концентраций биназа не проявила апоптозиндуцирующего действия в отношении исследованных линий клеток эпителия почек. Доля клеток в состоянии апоптоза для линий клеток VERO, PK-15 и MDCK при обработке максимальной использованной концентрации биназы (300 мкг/мл) составила 11%, 7,4%, 4,5%, соответственно, и достоверно не отличалась от варианта без обработки ферментом.

Полученные результаты подтверждают возможность использования цитотоксической рибонуклеазы *Bacillus pumilus* как перспективного агента терапии злокачественных новообразований почек животных и человека.

### **СВЕТОВАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ SDH3 И SDH4 СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ЛИСТЯХ КУКУРУЗЫ ПОД ДЕЙСТВИЕМ КРАСНОГО СВЕТА**

**Селиванова Н.В., Федорин Д.Н., Лаптева А.А., Зенищева М.А., Лопырева Г.Б.**  
ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

*bc366@bio.vsu.ru*

Солнечный свет – один из наиболее важных для жизни растений экологических показателей. Причем, наибольшее значение имеют красные (720-600 нм) и оранжевые лучи (620-595 нм). Именно они являются основными поставщиками энергии для фотосинтеза и влияют на процессы, связанные с изменением скорости развития растения. Ранее нами было показано, что фитохромная система участвует в регуляции активности сукцинатдегидрогеназы (СДГ, КФ 1.3.99.1) и экспрессии генов, кодирующих субъединицы А и В СДГ, однако данных, посвященных влиянию красного света на работу генов субъединиц С и D СДГ, нами обнаружено не было. В связи с этим, целью данной работы являлось исследование световой регуляции экспрессии генов *sdh3* и *sdh4* сукцинатдегидрогеназы в листьях кукурузы при облучении их красным и дальним красным светом. Объектом исследования служили зеленые листья кукурузы (*Zea mays* L.).

Для доказательства возможного участия фитохромной системы в регуляции экспрессии субъединиц С и D сукцинатдегидрогеназы проростки кукурузы подвергали воздействию низкоэнергетического красного (КС) и дальнего красного света (ДКС), специфично рецептируемых фитохромами. В качестве контрольных растений брали проростки кукурузы, выдержанные в течение 24 часов в темноте для активации работы СДГ и снятия всех фитохромных эффектов.

Относительный уровень экспрессии генов *sdh3* и *sdh4* в листьях кукурузы был определен методом полимеразной цепной реакции в реальном времени. Расчетные значения относительной концентрации в разных образцах кДНК показали, что в растениях, находящихся в темноте, концентрация транскрипта генов *sdh3* и *sdh4* выше такового показателя на свету в 1,4 и 2,3 раза, соответственно. Количество транскриптов гена *sdh3* в растениях после облучения КС было в 1,7, а транскрипта гена *sdh4* - в 3 раза больше, чем в растениях, экспонируемых на свету. После последовательного облучения КС и ДКС уровень экспрессии исследуемых генов также превышал исследуемый показатель в варианте «свет».

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что фитохром не влияет на работу генов, кодирующих субъединицы С и D сукцинатдегидрогеназы в зеленых листьях кукурузы, и механизм их регуляции может обеспечиваться или посредством криптохромов, или энергетическим статусом клетки.

Работа выполнена в рамках Государственного задания Минобрнауки России, проект № 959.

### **ЯВЛЕНИЕ ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ЗАВЕРШЁННОГО ПОЛИПЕПТИДА ИЗ ТРАНСЛИРУЮЩИХ РИБОСОМ ПРИ ДОБАВЛЕНИИ СВОБОДНОЙ ТРАНСЛЯЦИОННО-АКТИВНОЙ МАТРИЧНОЙ РНК НЕ ЗАВИСИТ ОТ СПОСОБА ИНИЦИАЦИИ МАТРИЦЫ**

**Селиханов Г.К., Согорин Е.А., Агаларов С.Ч., Спирин А.С.**  
ФГБУН Институт белка РАН, Пущино, Россия

*heorhi.selikhanau@gmail.com*

Ранее было показано, что, при добавлении свободной трансляционно-активной мРНК в бесклеточную эукариотическую систему биосинтеза белка, в которой активно идет трансляция, происходит немедленное высвобождение полноразмерного, функционально активного белка из транслирующих

рибосом. Отсюда было выдвинуто предположение, что инициация трансляции на добавленной мРНК стимулирует терминацию на транслирующих рибосомах.

В данном исследовании мы задали вопрос – зависит ли высвобождение завершённого полипептида из транслирующих рибосом от “способа” инициации трансляции изначальной и добавляемой мРНК? Под “способом” инициации мы подразумеваем необходимость в кэп-структуре на 5'-конце мРНК и потребность в факторах инициации в системе трансляции. Для ответа на данный вопрос была проведена серия опытов, где использовались мРНК с различными “способами” инициации: 1) мРНК со строгой зависимостью от наличия кэп-структуры и всех факторов инициации; 2) кэп-независимая/фактор-зависимая мРНК; 3) кэп-независимая/eIF4A- и eIF4F-независимая мРНК; 4) мРНК, не зависящая ни от кэп-структуры, ни от наличия факторов инициации. Также, был проведен опыт с использованием селективного ингибитора факторов инициации eIF4A и eIF4F – хиппуристанола, с использованием матрицы, способной к трансляции в его присутствии.

Опыты показали, что во всех случаях наблюдается высвобождение полноразмерного белка, в связи с чем, нами был сделан вывод, что это явление не зависит от “способа” инициации мРНК.

### ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НУКЛЕОТИДНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ГЕНА ДАГФ-СИНТАЗЫ II ТИПА

**Семашко А.И., Веремеенко Е.Г., Максимова Н.П.**

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

*tassigo@gmail.com*

Ген *phzC* – один из семи генов феназинового оперона у бактерий рода *Pseudomonas*. Данный ген кодирует 3-дезоксид-арабиногептулозонат-7-фосфат синтазу II типа (ДАГФ-синтазу II типа - КФ 2.5.1.54), которая является ключевым ферментом шикиматного пути. Это одна из двух известных ДАГФ-синтаз, которая в отличие от аналогичного фермента I типа присутствует не только в клетках бактерий, но и в хлоропластах растений.

В качестве объекта исследования выбран штамм *P. chlororaphis* spp. *aurantiaca* В-162, являющийся продуцентом феназиновых антибиотиков. Амплификацию гена *phzC* проводили с помощью праймеров (прямой: **cggatccccctcgtgagagtgat**, обратный: **cggatcccaactccagtcgcaaaagga**), подобранных на основе анализа последовательностей, представленных в базе NCBI Blast.

Полученный ПЦР-продукт соответствовал по размеру (около 1225 п.о.) фрагменту полноразмерного *phzC*-гена. Он был клонирован в составе вектора pTZ57R/T в *Escherichia coli* *XL-1 Blue*. Для подтверждения наличия вставки амплифицированного фрагмента из полученных клонов была выделена плазмидная ДНК и проведен ее рестрикционный и ПЦР-анализ. На следующем этапе работы осуществлено секвенирование амплифицированного фрагмента, полученные данные были проанализированы с использованием биоинформационного портала BLAST.

Проведенный анализ и сравнение нуклеотидных последовательностей показал, что степень гомологии данного гена с таковыми у других представителей рода *Pseudomonas* составила от 89 до 100 %, у агробактерий – от 71 до 86 %, у цианобактерий – от 67 до 79 %, хлоропластов растений – около 53 %. На основании данных, полученных в результате анализа и сравнения нуклеотидных последовательностей, с помощью программы MEGA (версия 6.0) была построена дендрограмма. На дендрограмме наглядно продемонстрировано, что эволюция соответствующего гена у псевдомонад происходила относительно независимо от остальных исследуемых групп. Вместе с тем, данная нуклеотидная последовательность близка таковой для некоторых цианобактерий, тогда как дивергенция с растениями и агробактериями произошла, по-видимому, достаточно давно.

Таким образом, определена нуклеотидная последовательность *phzC*-гена *P. chlororaphis* spp. *aurantiaca* В-162, кодирующего ДАГФ-синтазу II типа. Филогенетический анализ подтвердил предположение об общем происхождении соответствующих генов у растений и псевдомонад. Опираясь на теорию о симбиотическом происхождении пластид растений можно предположить попадание данного гена в растения от цианобактерий.

### ЭКСПРЕССИЯ ЯДЕРНЫХ РЕЦЕПТОРОВ LXR $\alpha$ И LXR $\beta$ В ЖИРОВОЙ ТКАНИ

**Семенова И.А.<sup>1</sup>, Мирошникова В.В.<sup>1</sup>, Пантелева А.А.<sup>1</sup>, Беркович О.А.<sup>2</sup>, Баженова Е.А.<sup>2</sup>,  
Баранова Е.И.<sup>2</sup>, Пчелина С.Н.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ Курчатовский институт, Гатчина, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

*perhaps\_to\_be@mail.ru*

Абдоминальное ожирение характеризуется повышением риска развития сердечно-сосудистых заболеваний и сахарного диабета второго типа. Патологическое разрастание интраабдоминальной жировой

ткани (ИЖТ) происходит в результате нарушения метаболических, энергетических и биохимических процессов в клетках жировой ткани. Ядерные рецепторы LXR $\alpha$  и LXR $\beta$  играют важную роль в регуляции обмена липидов и глюкозы, участвуют в адипогенезе и контролируют экспрессию большого количества генов, специфичных для адипоцитов. Гены LXR $\alpha$  и LXR $\beta$  на высоком уровне экспрессируются в жировой ткани, однако, их связь их экспрессии в ИЖТ с развитием ожирения остается мало изученной.

Целью данной работы явилось исследование ассоциации экспрессии генов LXR $\alpha$  и LXR $\beta$  с развитием абдоминального ожирения.

Исследование было выполнено на 37 образцах ИЖТ, полученных из большого сальника в ходе лапароскопической холецистэктомии, из них 23 – лица, страдающие избыточным весом и ожирением (индекс массы тела (ИМТ)  $\geq 25$  кг/м<sup>2</sup>, обхват талии (ОТ)  $> 88$  см для женщин,  $> 102$  см для мужчин), 14 – индивидуумы с нормальной массой тела (ИМТ  $< 25$  кг/м<sup>2</sup>) – контрольная группа. Уровень мРНК генов LXR $\alpha$  и LXR $\beta$  оценивали с помощью ПЦР в режиме реального времени, уровень белков LXR $\alpha$  и LXR $\beta$  – методом Вестерн-блот.

Исследование показало, что уровень мРНК гена LXR $\beta$  снижен у лиц с избыточной массой тела и ожирением по сравнению с контрольной группой ( $p=0.002$ ). Выявлена отрицательная корреляция уровня мРНК гена LXR $\beta$  с основными показателями степени ожирения, а именно ИМТ и ОТ (для ИМТ –  $r=-0,499$ ,  $p=0,006$ ; для ОТ –  $r=-0,636$ ,  $p=0,000$ ). Уровень мРНК гена LXR $\alpha$  был довольно переменчивым и достоверно не отличался между контрольной группой и группой лиц с избыточным весом и ожирением.

Полученные данные позволяют заключить, что ядерный фактор LXR $\beta$  может быть значимым фактором, ассоциированным с развитием абдоминального ожирения, и может рассматриваться как возможная молекулярная мишень в терапии ожирения.

Исследование поддержано грантом РФФИ 14-04-31690.

#### ТРАНСКРИПЦИОННАЯ СТРАТЕГИЯ БАКТЕРИОФАГА AR9, КОДИРУЮЩЕГО НЕКАНОНИЧЕСКИЕ МУЛЬТИСУБЪЕДИНИЧНЫЕ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ

Слащева М.И.<sup>1,2</sup>, Соколова М.Л.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого Санкт-Петербург, Россия; <sup>3</sup>АНОО ВПО Сколковский институт науки и технологий, Сколково, Россия

slashcheva@gmail.com

Бактериофаг AR9 принадлежит к семейству phiKZ-подобных гигантских бактериофагов и инфицирует *Bacillus subtilis*. Фаги данного семейства кодируют два набора белков, гомологичных различным частям  $\beta$  и  $\beta'$  субъединиц клеточных ДНК-зависимых РНК-полимераз (РНКП). Белки одного набора обнаруживаются в вирионах и, по-видимому, образуют вирионную РНКП (вРНКП), которая попадает в инфицируемую клетку одновременно с геномной ДНК бактериофага и транскрибирует ранние гены. Белки второго набора синтезируются в ходе инфекции и формируют невирионную РНКП (нвРНКП), осуществляющую транскрипцию поздних генов. В нашей лаборатории успешно ведется работа по изучению нвРНКП бактериофага phiKZ и нвРНКП бактериофага AR9, в то время как вРНКП не изучена ни у одного гигантского бактериофага. Цель данного исследования – выделение и характеристика вРНКП бактериофага AR9.

Для анализа количества вРНКП в фаговых частицах были получены антитела к gp264 – одной из субъединиц вРНКП AR9. С помощью метода белкового иммуноблота определили, что вирион AR9 содержит примерно 10 молекул вРНКП. Для определения динамики накопления вРНКП в процессе развития бактериофага были отобраны зараженные бактериофагом клетки *B.subtilis* на разных минутах инфекции (0', 5', 10', 15', 20', 30', 40', 50') и проанализированы методом белкового иммуноблота. В результате получили, что на 10-ой минуте инфекции происходит уменьшение количества gp264 в инфицированных клетках по сравнению с 5-ой минутой, что может говорить о том, что после осуществления транскрипции ранних генов вРНКП подвержена деградации. Далее на поздней стадии инфекции (30-50 минуты) наблюдали накопление gp264, указывающее на синтез новых молекул вРНКП, которые упаковываются в вирионы вновь развившихся бактериофагов перед лизисом бактериальной клетки.

Следующими задачами проекта являются: наработка биомассы *B.subtilis*, инфицированных бактериофагом AR9 и отобранных на ранней и поздней стадиях инфекции и разработка подхода к выделению вРНКП из полученной биомассы с использованием колоночной хроматографии и ко-иммунопреципитации.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНА *PHO5* ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* ДЛЯ МОДИФИКАЦИИ МЕТОДА ВЫЯВЛЕНИЯ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ *TP53* ЧЕЛОВЕКА

Слепченков А.В., Румянцев А.М., Самбук Е.В., Падкина М.В.

ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*Sl.aleksandr28@gmail.com*

Ген *TP53* кодирует транскрипционный фактор, основными функциями которого являются регуляция клеточного цикла, запуск механизмов репарации ДНК и активация апоптоза в клетках. Мутации в гене *TP53* обнаруживаются более чем в 50% случаев онкологических заболеваний. Своевременное выявление данных мутаций у пациента важно не только для диагностики и прогнозирования течения заболевания, но зачастую определяет выбор используемой терапии.

Для определения мутаций в гене *TP53* наряду с методами секвенирования широко применяется дрожжевой функциональный тест FASAY. Данный метод основан на том, что белок p53 человека функционирует в клетках дрожжей и способен активировать транскрипцию репортерных генов. Применение вариантов теста FASAY с генами флуоресцентных белков позволяет определять функциональную значимость выявляемых мутаций. Однако, в клинической практике чаще всего применяются более простые системы на основе гена *ADE2*, выявляющие лишь наличие мутаций.

Ген *PHO5* дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, кодирующий кислую фосфатазу (КФ), хорошо зарекомендовал себя в качестве репортерного гена. Для определения активности КФ разработаны как качественные, так и количественные методики. В данной работе ген *PHO5* использован для модификации дрожжевого функционального теста FASAY, что позволяет не только упростить применение теста, но и сочетать выявление мутаций и оценку их функциональной значимости.

Геном штамма *S. cerevisiae* *yIG397* содержит последовательность *PRGC-CYC1*, представляющую собой промотор с которым эффективно связывается белок p53. Эта последовательность была амплифицирована методом ПЦР и встроена в плазмиду *pJET1.2*. Под контроль данного промотора был встроен ген КФ *PHO5*. Полученная репортерная конструкция *PRGC-CYC1-PHO5* была встроена в состав плазмид *pRS303* и *pRS306*.

Созданные ранее штаммы 2-D624 (*MATa leu2 his3 trp1 ura3 pho3*) и 4-D624 (*MATa leu2 his3 trp1 ura3 pho3*) были выбраны для трансформации плазмидами *pRS303-PRGC-CYC1-PHO5* и *pRS306-PRGC-CYC1-PHO5*. У полученных трансформантов отсутствует активность собственной конститутивной КФ *PHO3*. Поэтому на среде с высокой концентрацией фосфата активность КФ наблюдается лишь в случае активации промотора *PRGC-CYC1* белком p53. Если же при проведении теста FASAY в клетку попадает мутантная копия гена *TP53*, то в зависимости от мутации активность КФ будет либо снижена, либо будет полностью отсутствовать.

## РОЛЬ ПЕПТИДОГЛИКАН-РАСПОЗНАЮЩЕГО БЕЛКА TAG-7/PGLYRP-1 ВО ВЗАИМОДЕЙСТВИИ КОМПОНЕНТОВ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА С БАКТЕРИЯМИ

Слонова Д.А.<sup>1</sup>, Посвятенко А.В.<sup>1,2,3</sup>, Сысолятина Е.В.<sup>4</sup>, Еромолаева С.А.<sup>4</sup>, Кибардин А.В.<sup>2,3</sup>,  
Гнучев Н.В.<sup>3</sup>, Георгиев Г.П.<sup>3</sup>, Ларин С.С.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВПО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия; <sup>2</sup>ФГБУ ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева Минздрава России, Москва, Россия; <sup>3</sup>ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, Россия; <sup>4</sup>ГУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф.Гамалеи, Москва, Россия

*darya.romanenko@phystech.edu*

Серьезной проблемой в современной медицине является широкое распространение и высокая смертность от инфекционных заболеваний. В данной работе мы продемонстрировали, что многообещающим подходом может быть использование эволюционно-консервативных рецепторов распознавания патоген-ассоциированных молекулярных паттернов. Пептидогликан-распознающие белки узнают консервативные паттерны компонентов клеточной стенки бактерий. В нашей работе было проведено исследование человеческого пептидогликан-распознающего белка Tag-7/PGLYRP-1 и результатов его воздействия на свойства бактерий, а также его влияния на взаимодействие бактерий с компонентами врожденного иммунитета.

С помощью эукариотической экспрессионной системы был получен рекомбинантный человеческий белок Tag-7/PGLYRP-1 и показана его способность связываться с клеточными стенками бактерий.

Анализ влияния Tag-7/PGLYRP-1 на динамику роста бактерий *E. coli* показал, что исследуемый белок не демонстрирует бактерицидной и бактериостатической активности при использованных концентрациях. Однако с помощью диско-диффузионного метода было выявлено, что в некоторых случаях

присутствие Tag7/PGLYRP-1 может усиливать чувствительность бактерий к наличию антибактериальных препаратов.

С использованием макрофагоподобной клеточной линии ANA-1 продемонстрировано, что присутствие Tag7/PGLYRP-1 стимулирует фагоцитоз внутриклеточных патогенных бактерий *L. monocytogenes*. С помощью инфекционной *in vitro* модели показано, что присутствие Tag-7/PGLYRP-1 ингибирует внутриклеточное выживание *L. monocytogenes*, предохраняя эукариотические клетки от заражения.

Полученные в данной работе результаты свидетельствуют о том, что пептидогликан-распознающий белок Tag-7/PGLYRP-1 активирует защитные механизмы врожденного иммунитета, препятствуя заражению эукариотических клеток бактериями, использующими стратегию внутриклеточного проникновения.

Работа поддержана грантом РФФИ №15-04-07649

### **ВЗАИМОПРЕВРАЩЕНИЕ ЦИТОХРОМОВ P450 СЕМЕЙСТВА CYP74 В РЕЗУЛЬТАТЕ САЙТ-НАПРАВЛЕННОГО МУТАГЕНЕЗА**

**Смирнова Е.О., Топоркова Я.Ю., Мухтарова Л.Ш., Гоголев Ю.В.**  
ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики, Казань, Россия

*yelena.smirnova@aiasec.net*

Ферменты семейства CYP74 являются уникальными представителями цитохромов P450. В отличие от большинства цитохромов P450, являющихся монооксигеназами, ферментам семейства CYP74, к которым относятся алленоксидсинтазы (АОС), гидропероксидлиазы (ГПЛ), дивинилэфирсинтазы (ДЭС) и эпоксиалкогольсинтазы (ЭАС), для каталитического действия не требуется ни молекулярный кислород, ни окислительно-восстановительный партнер. В связи с этим, кислород-связывающий домен в их последовательности заменен на центральный домен I-спирали (IHCD). Ранее нами было показано, что некоторые сайты внутри этого домена непосредственно участвуют в каталитическом действии CYP74. Вследствие этого, у ферментов, катализирующих разные реакции, последовательности этого домена разные. Так, для алленоксидсинтаз и гидропероксидлиаз характерными являются следующие последовательности домена IHCD: TCFNSF для АОС и LGFNAF для ГПЛ. Кроме того у CYP74 в субстрат-распознающей последовательности SRS 1 находится сайт, который носит название F-L toggle, также принимающий участие в каталитическом действии исследуемых ферментов.

Объектами данного исследования являются алленоксидсинтаза LeAOS3 (CYP74C3) томата (*Solanum lycopersicum*) и гидропероксидлиаза MtHPL (CYP74C3) люцерны (*Medicago truncatula*). С помощью сайт-направленного мутагенеза в последовательностях каталитически важных доменов IHCD и F-L toggle этих ферментов были введены единичные замены, а также серии замен, которые привели к взаимопревращению этих ферментов друг в друга. Алленоксидсинтаза LeAOS3 приобрела свойства гидропероксидлиазы, а гидропероксидлиаза MtHPL3 – свойства алленоксидсинтазы.

Полученные данные подтверждают предположение о сходстве механизмов катализа у разных ферментов CYP74. Кроме того, результаты данной работы вносят вклад в понимание хода эволюции липоксигеназного каскада.

Работа поддержана грантами РФФИ 14-04-01532-а, 15-04-04108-а, 15-04-08310-а, 16-34-60231-мол\_а\_дк, 16-34-00648-мол\_а и МК-6529.2015.4

### **ПРЕДПОЛАГАЕМАЯ МУРЕИН-ТЕТРАПЕПТИД L,D-КАРБОКСИПЕПТИДАЗА НЕОБХОДИМА ДЛЯ ФОРМИРОВАНИЯ СЕПТЫ У LISTERIA MONOCYTOGENES**

**Смирнова Н.В., Варфоломеев А.Ф., Юров Д.С., Диденко Л.В., Ермолаева С.А.**  
ФГБУ Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф.Гамалеи,  
Москва, Россия

*Estttell@gmail.com*

У грам-положительных и грам-отрицательных бактерий L,D-карбоксипептидазы являются консервативными белками. В экспериментах с *E. coli* предположили, что L,D-карбоксипептидазы участвуют в деление клеток. Однако, роль L,D-карбоксипептидазы семейства S66 в жизни грам-положительных бактерий не установлена. В геноме грам-положительной патогенной бактерии *Listeria monocytogenes* обнаружены гены, кодирующие белки с высокой степенью гомологии к L,D-карбоксипептидазам семейства S66.

В этой работе мы исследовали роль предполагаемой L,D-карбоксипептидазы семейства S66 (LdcA), чей ген lmo1638 находится на хромосоме, в вирулентности и физиологии листерий. На основе *L. monocytogenes* (штамм EGD) с помощью сайт-специфического мутагенеза был получен инсерционный мутант GIMins1638. Оба штамма сравнили по биохимическим показателям, скорости роста, морфологии



клеток (с помощью сканирующей и электронной трансмиссионной микроскопии). Чтобы удостовериться, что различия двух штаммов вызваны мутацией в гене *lmo1638*, были выделены поверхностные и секретируемые белки и разделены в 10% SDS-PAGE с последующей окраской СБВ.

Чтобы увидеть влияние *LdcA* на вирулентность *L. monocytogenes*, мышей линии BALB/c заразили через хвостовую вену культурой, находящейся в экспоненциальной фазе. Листерии с дефектным белком *lmo1638* накапливались в печени мыльных в большем количестве, чем бактерии дикого типа.

Мы показали, что повреждение *lmo1638* ведет к отслоению септы в делящихся клетках и увеличению толщины клеточной стенки.

## СЕМЕЙСТВО ГЕНОВ MYC ЗЛАКОВЫХ РАСТЕНИЙ: ПРЕОБРАЗОВАНИЯ В ХОДЕ ЭВОЛЮЦИИ РОДОВ TRITICUM И AEGILOPS

Стрыгина К.В., Хлесткина Е.К.

ФГБУН Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН,  
Новосибирск, Россия

*pushpandzhali@bionet.nsc.ru*

Дупликация гена, предшествующая возникновению гена с новой функцией, считается одной из основных направляющих сил эволюции. У пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L., геном ВВААDD,  $2n=6x=42$ ) помимо паралогичных копий генов имеются гомеологичные гены, образовавшиеся вследствие полиплоидизации, что делает ее привлекательной моделью для исследования функциональных особенностей и эволюционных преобразований дублированных копий генов. В данном исследовании в качестве модели использовалась система генов биосинтеза флавоноидов. Синтез данных соединений регулируется комплексом транскрипционных факторов «MYB+MYC+WD40». Известен MYC-кодирующий ген *TaMyc1*, контролирующий синтез флавоноидных пигментов в зерновке пшеницы. В настоящей работе проведена идентификация и сравнительный анализ всех копий гена *TaMyc1* в геномах полиплоидных пшениц и их диплоидных предков. С помощью поиска гомологичных последовательностей с использованием программы BLAST в базах данных неаннотированных геномных последовательностей разных видов *Triticum* и *Aegilops* ( $2n=6x=42$ : *T.aestivum*;  $2n=4x=28$ : *T.durum*;  $2n=2x=14$ : *T.urartu*, *T.monococcum*, *Ae.speltooides*, *Ae.sharonensis*, *Ae.tauschii*) были идентифицированы и аннотированы последовательности 5 копий гена *TaMyc1* во второй и 6 копий в четвертой гомеологической группе хромосом мягкой пшеницы. Соответствующие этим копиям последовательности были найдены у тетраплоидной пшеницы и у диплоидных видов. Все выявленные гены имеют участок, кодирующий характерный для семейства MYC домен bHLH. Но в одной из копий в области, кодирующей домен bHLH, предположительно, происходит альтернативный сплайсинг, при котором из экзона вырезаются дополнительные 44 п.н. Анализ генетического сходства идентифицированных генов *Myc* показал, что впервые дупликация данного гена произошла у общего диплоидного предка родов *Triticum*, *Aegilops* и *Hordeum*, однако у последнего дупликация в четвертой хромосоме не сохранилась. Обсуждаются механизмы и сроки возникновения дальнейших дупликаций, имевших место во второй и четвертой гомеологической группе хромосом у видов *Triticum* и *Aegilops*. Работа поддержана грантом РФФИ (№ 16-04-00912) и Программой МКБ РАН (№ 0324-2015-0016).

## ПОЛУЧЕНИЕ И ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МУТАНТОВ ГОРОХА ПОСЕВНОГО ПО ГЕНУ РЕЦЕПТОРНОЙ КИНАЗЫ LUKX

Сулима А.С., Жуков В.А., Борисов А.Ю., Тихонович И.А.

ФГБУН Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии,  
Санкт-Петербург, Россия

*sulan555@mail.ru*

У бобовых растений (Fabaceae) белки семейства рецептор-подобных LysM-киназ (LysM-RLK) важны для узнавания эндосимбиотических азотфиксирующих бактерий (ризобий). Благодаря им растение может среди всего пула почвенных микроорганизмов различить «своего» симбионта, ориентируясь на специфическую структуру его сигнальной молекулы – Nod-фактора. Рецептор и лиганд в данном случае работают по принципу «ключ-замок».

Ген LysM-RLK *LukX* является наиболее вероятным кандидатом на роль гена *Sym2*, определяющего повышенную избирательность гороха посевного (*Pisum sativum* L.) к азотфиксирующему бактериальному симбионту в зависимости от структуры выделяемого тем Nod-фактора. В основе работы лежит поиск мутантов гороха посевного, дефектных по гену *LukX*, и последующий фенотипический анализ данных мутантов с целью выяснения функции гена интереса. Поиск мутантов был осуществлен путем скрининга по методу TILLING коллекции мутантов гороха линии Cameo, доступной на коммерческой основе в Эври,

Франция. В результате было обнаружено 20 мутантных семей, в 8-ми из которых мутации предположительно влияют на функцию кодируемого белка.

Детальное описание симбиотического фенотипа полученных мутантов осуществлялось при их взаимодействии со штаммом *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* RCAM1026, меченным репортерным геном *gusA*. Все мутанты *lykX* характеризовались достоверно сниженным клубенькообразованием и одновременно повышенным числом инфекционных событий (случаев проникновения бактерий в инфекционную нить) по сравнению с растениями дикого типа, что свидетельствует о затрудненной инфекции на начальных этапах установления симбиоза. Интересно, что наиболее значительные различия между числом инфекционных событий и числом зрелых клубеньков продемонстрировали растения с мутациями в регионе, соответствующем участку между первым и вторым LysM-модулями рецепторного домена соответствующего белка; это свидетельствует в пользу нашей гипотезы о том, что ген *LykX* кодирует «поздний» рецептор Nod-фактора. Таким образом, для гена *LykX* была продемонстрирована важная роль в процессе установления симбиоза между горохом и клубеньковыми бактериями.

В качестве окончательного подтверждения роли гена *LykX* в клубеньковом симбиозе и его соответствия гену *Sym2* предполагается провести комплементационный анализ между мутантами с наиболее выраженным фенотипом и растениями природного происхождения, для которых показана корреляция аллельного состояния гена *LykX* и разной степени избирательности к микросимбионту.

Исследование поддержано грантами РФФИ (14-24-00135 и 16-16-00118) и РФФИ (14-04-01442, 15-29-02737 и 16-04-01859).

### ТРАНСКРИПЦИЯ ГЕНА *ORPВ* ОПЕРОНА *ORPABCDF* МОЖЕТ НАЧИНАТЬСЯ В МЕЖГЕННОЙ ОБЛАСТИ *ORPА/ORPВ* И ЗАВИСЕТЬ ОТ H-NS

Сухаричева Н.А.<sup>1,2</sup>, Озолин О.Н.<sup>1,2</sup>, Тутукина М.Н.<sup>1,2</sup>, Масулис И.С.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия

*natasha-sukharicheva@yandex.ru*

Около 40% структурных генов бактерий объединены в опероны, что обеспечивает координированный контроль их транскрипции с общей регуляторной области, расположенной перед первым геном. Тем не менее, многие опероны имеют дополнительные внутриоперонные промоторы, способные усиливать экспрессию следующих генов или сообщать им особый тип регуляции. Такие промоторы, в частности, предсказаны в опероне *oppABCDF*, кодирующем мембранные белки семейства ABC-транспортёров. Дополнительные сигналы транскрипции обнаружены во всех генах этого оперона (RegulonDB), но особое значение имеют промоторы, расположенные в самом начале гена *oppВ*, т.к. с них возможен синтез укороченной изоформы *OppВ*, а также бессмысловые промоторы межгенной области *oppА/oppВ*, т.к. её размер (85 н.п. у *E.coli*, ~77 нп у граммотрицательных бактерий и 127 нп у грамположительных) достаточно велик для формирования независимого короткого транскрипта и в конце гена *oppА* имеется серия инвертированных повторов, способных формировать терминаторные структуры. Согласно специализированной базе данных RegulonDB, оперон *oppABCDF* экспрессируется с  $\sigma^F$ -зависимого промотора и контролируется двумя репрессорами Fug и Lgr. Наряду с этим, с помощью Интернет-ресурса Virtual Footprint в межгенной области *oppА/oppВ* был найден сайт связывания гистон-подобного белка H-NS. Этот регуляторный белок играет исключительно важную роль в регуляции клеточного метаболизма на стадии логарифмического роста. В рамках данной работы методом qRT-PCR было установлено, что делеция гена *hns* более чем в два раза активирует синтез *OppВ*-мРНК, что указывает на зависимость *oppBCDF* ещё от одного регуляторного белка. Для предварительного поиска функционально-значимого операторного сайта, межгенная область *oppА/oppВ* и начало кодирующей части гена *oppВ* в виде двух, отличающихся по протяжённости в межгенной области конструкций, были встроены в плазмиду pET28b-eGFP перед геном зеленого флюоресцирующего белка. Полученные плазмиды были трансформированы в клетки BL21 (DE3) дикого типа и в клетки мутанта, делеционного по гену *hns*. Обе промоторные конструкции инициировали транскрипцию репортёрного гена, что свидетельствует об активности внутриоперонных промоторов. Уровень флюоресценции GFP в клетках  $\Delta hns$  в обоих случаях оказался выше, чем в клетках дикого типа, что независимым образом свидетельствует о том, что белок H-NS является репрессором активности промоторов в начале гена *oppВ*.

Работа выполнена в рамках гранта РФФИ № 16-34-01138 «Трансмембранная субъединица *OppВ* ABC-транспортёра олигопептидов *E.coli*: экспрессия укороченной изоформы и ее возможные функции»

## АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПОДРАЗДЕЛЕННОСТИ ПОПУЛЯЦИЙ ГРУППЫ КРИПТИЧЕСКИХ ВИДОВ РОДА *LITTORINA* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ AFLP-ПОДХОДА

Тиканова П.О.<sup>1</sup>, Мальцева А.Л.<sup>1</sup>, Михайлова Н.А.<sup>2</sup>, Гранович А.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

*polina.tikanova@gmail.com*

Согласно теории аллопатрического (географического) видообразования появление новых видов является результатом пространственной изоляции популяций (К. Джордан, Б. Ренш, Ф. Добжанский, Э. Майр). Напротив, в модели неаллопатрического (экологического) видообразования достаточным условием является ограничение потока генов между частями популяции, обитающими в разных экологических условиях (вследствие неоднородности среды). Неоднородность среды также определяет дифференциальную адаптацию указанных частей популяции (формирование экотипов) и их дивергенцию на физиологическом/морфологическом уровнях за счет генетических или эпигенетических механизмов. Эмпирическое подтверждение этой модели может быть получено при изучении гибридных зон для разных экотипов (Panova et al, 2006).

Литораль – типичный пример неоднородной среды с градиентом меняющимися значениями экологических факторов. Группы криптических видов моллюсков рода *Littorina* – широко распространенные обитатели литоральной зоны морей Северной Атлантики. Они могут служить моделью для изучения подразделенности популяций в пределах вида, которая может являться начальной стадией формирования новых видов. Подрод *Neritrema* включает две криптические группы: “*obtusata*” - *L. obtusata*, *L. fabalis*, и “*saxatilis*” - *L. saxatilis*, *L. compressa*, *L. arcana* (Reid, 1996). Отличия моллюсков трех последних видов с разных горизонтов литорали были охарактеризованы с использованием протеомного подхода. Два вида - *L. saxatilis* и *L. arcana* – оказались «пластичными», т.е. протеомы моллюсков с разных горизонтов достоверно отличались, причем эти отличия у обоих видов были схожи. Это ставит вопрос о механизмах, лежащих в основе выявленных отличий – они достигаются за счет фенотипической пластичности (т.е. на уровне регуляции генов) или генетической детерминации (отбора разных аллелей). Цель нашего исследования – оценка уровня генетических различий между субпопуляциями *L. saxatilis* и *L. arcana* и выявление быстро эволюционирующих локусов (“*outlier-genes*”).

Существует множество методов анализа полиморфизма на уровне генома (анализ аллозимов, микросателлитов, RAPD и др.). Мы остановились на методе AFLP (полиморфизм длин амплифицированных фрагментов), преимущества которого заключается в хорошей воспроизводимости результатов (по сравнению с RAPD) и с большим охватом геномных данных, чем анализ микросателлитов или аллозимов. Наши результаты вкупе с полученными ранее протеомными данными внесут дополнительную ясность в понимание микроэволюционных процессов, протекающих в популяциях выбранных видов.

## СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ БЕЛКОВ ЛИЧИНОК *TENEBRIO MOLITOR* ПРИ ХОЛОДОВОЙ АККЛИМАЦИИ

Третьяк Д.В., Гулевский А.К.

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков, Украина

*tretyak\_diana@mail.ua*

Адаптация холодоустойчивых организмов к низким температурам на молекулярном уровне, главным образом, зависит от способности белков сохранять нативную конформацию и полноценно функционировать при изменении температурного режима. В стабилизации структуры белка важную роль играют гидрофильные и гидрофобные взаимодействия между полярными и неполярными радикалами аминокислотных остатков. В современной литературе одной из молекулярных стратегий адаптации организмов к низким температурам является изменение степени гидрофобности белков и, следовательно, их пространственной конфигурации.

В работе с помощью метода обращенно-фазовой хроматографии и нативного электрофореза в ПААГ получены данные о составе белков *Tenebrio molitor* после холодной акклимации, а также о степени их гидрофобности и гидрофильности.

В исследованиях использовали акклимированных при 5–7°C в течение 3-х недель личинок *T. molitor*. Для получения белков личинок гомогенизировали в 0,6% растворе NaCl на 0,1 М Na-фосфатном буфере (рН 7,4). Гомогенат центрифугировали в течение 60 мин при 100000g. Концентрацию белка определяли по методу Брэдфорда. Исследование гидрофобности белков супернатанта из личинок *T. molitor* проводили в условиях обращенно-фазовой хроматографии на жидкостном хроматографе Shimadzu LC-2010 и колонке Vydac C4. Для приготовления элюента использовали лития дигидрофосфат, кислоту фосфорную

концентрированную, ацетонитрил. Детектирование проводили при 260 нм. Состав белков супернатанта из личинок анализировали с помощью нативного электрофореза в ПААГ (7-15%).

В результате электрофоретических исследований выявлены качественные изменения спектра белков из личинок *T. molitor*, в частности при холодной акклимации личинок появляется белок с м.м. 10 кДа, а также имеются количественные различия отдельных пиков белков, что может быть связано с синтезом белков насекомых в процессе их акклимации и/или с формированием альтернативных форм уже существующих белков. С помощью обращенно-фазовой хроматографии установлено, что количество гидрофобных белков у акклимированных личинок *T. molitor* существенно меньше, а гидрофильных белков – больше, чем у неакклимированных особей. Обнаружены качественные изменения хроматографического профиля белков из акклимированных и неакклимированных личинок *T. molitor*.

### **ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА ДЕТЕКЦИИ МИКРО-РНК В КАЧЕСТВЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО СПОСОБА ДИАГНОСТИКИ ЦЕРЕБРАЛЬНЫХ ГЛИОМ**

**Трифонов Г.Р.**

ФГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

*zhora.trifonov.93@mail.ru*

**Введение.** Церебральные глиомы (ЦГ) - самые распространенные и одни из самых летальных первичных опухолей головного мозга. Большинство ЦГ диагностируется на поздних стадиях (III-IV), что и определяет высокую летальность. На сегодняшний день не существует маркеров ранней диагностики ЦГ, а единственным достоверным методом определения структуры опухоли является биопсия опухоли головного мозга с гистологическим исследованием. Существует множество исследований, в которых выявлена связь между измененным уровнем экспрессии определенных микро-РНК и развитием глиом.

**Цель.** По данным литературы изучить те микро-РНК, экспрессия которых наиболее часто изменена у пациентов с цереброглиальными опухолями, и оценить возможность их использования в качестве биомаркеров для диагностики, определения прогноза и оценки эффективности лечения, а также для лечения данного заболевания.

**Материалы и методы.** Проводился ретроспективный анализ литературных данных (25 статей, изданных 2006-2016 год).

**Результаты.** Выявлено, что уровень экспрессии микро-РНК 15b, 21, 210, 128, 503 и 342-3p у пациентов с глиомами и у здоровых людей существенно различается. Наблюдается гиперэкспрессия микро-РНК-21, 210 и гипоекспрессия микро-РНК-128, 342-3p, 503. А также уровень изменения экспрессии микро-РНК зависит от стадии опухоли. Искусственное повышение уровня микро-РНК 503 приводило к снижению роста колонии клеток глиом.

**Выводы.** Полученные данные позволяют судить о том, что определение уровня экспрессии микро-РНК может служить одним из дополнительных методов диагностики глиом, а также позволяет оценить прогноз и эффективность лечения данного заболевания и мониторировать состояние пациента во время и после лечения. Используемые методы просты и легко внедряемы в клиническую диагностику. Возможность применения микро-РНК в качестве терапии для пациентов с ЦГ является перспективным направлением.

### **ВЛИЯНИЕ МУТАЦИЙ SUP35 НА СВОЙСТВА ПРИОНА [PSI<sup>+</sup>] У ДРОЖЖЕЙ SACCHAROMYCES CEREVISIAE**

**Трубицина Н.П., Землянко О.М., Бондарев С.А., Журавлева Г.А.**

ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*n.trubitcina@gmail.com*

Белок Sup35, являющийся фактором терминации трансляции eRF3, у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* может присутствовать в клетке как в растворимой (функциональной) форме, так и в агрегированной, образуя прион [PSI<sup>+</sup>]. В последнем случае эффективность процесса терминации трансляции снижается, что приводит к нонсенс-супрессии, т.е. прочтыванию преждевременных стоп-кодонов, как “значащих”. В нашей лаборатории ранее были получены супрессорные миссенс- и нонсенс-мутации *sup35*, которые также приводили к появлению укороченных фрагментов белка Sup35 наряду с полноразмерным.

Целью представленной работы явилось изучение эффектов супрессорных мутаций в гене *SUP35* на свойства приона [PSI<sup>+</sup>] у дрожжей *S. cerevisiae*. Для этого мы провели проверку мутаций *sup35* и приона [PSI<sup>+</sup>] на совместимость в гаплоидных и диплоидных штаммах и изучили влияние мутаций *sup35* на стабильность и свойства приона [PSI<sup>+</sup>] в диплоидных штаммах.

Полученные в ходе работы данные свидетельствуют о совместимости мутаций *sup35* и приона [PSI<sup>+</sup>] у диплоидных штаммов. В то же время мутации *sup35-21* и *sup35-218* несовместимы с

прионом [*PSI*<sup>+</sup>] в гаплоидных штаммах. При этом жизнеспособность диплоидных штаммов, содержащих мутации *sup35-21* и *sup35-218* в присутствии приона [*PSI*<sup>+</sup>] зависит от способа получения этих штаммов (скрещиванием или трансформацией). С помощью полуденатурирующего электрофореза в агарозном геле мы показали, что мутации *sup35-74*, *sup35-218*, *sup35-228* и *sup35-240* приводят к изменению свойств приона [*PSI*<sup>+</sup>] у диплоидных штаммов. При этом они не влияют на размер агрегатов белка Sup35 в присутствии аллели дикого типа *SUP35*. Кроме того, аллель *sup35-74* приводит к спонтанному образованию агрегатов белка Sup35 у диплоидных штаммов [*psi*].

Наши результаты позволяют сделать вывод о том что, мутации *sup35-74* и *sup35-218* приводят к изменению свойств приона [*PSI*<sup>+</sup>], а мутации *sup35-228* и *sup35-240* приводят к потере приона [*PSI*<sup>+</sup>].

Работы выполнены при поддержке грантов СПбГУ (1.37.291.2015 и 15.61.2218.2013), грантов РФФИ (16-04-00202, 16-34-00582, 15-04-06650), а также ресурсного центра «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ.

## КЛОНИРОВАНИЕ ГЕНА АП-ЭНДОНУКЛЕАЗЫ IV STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Тургимбаева А.М.<sup>1</sup>, Сапарбаев М.К.<sup>2</sup>, Раманкулов Е.М.<sup>1</sup>, Хасенов Б.Б.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>РГП Национальный центр биотехнологии КН МОН РК, Астана, Казахстан; <sup>2</sup>Институт Густава Русси, Париж, Франция

*aigerim6119@gmail.com*

*Staphylococcus aureus* – условно-патогенная бактерия, способная вызывать поверхностные и инвазивные потенциально опасные для жизни инфекции (сепсис, эндокардит, пневмония). С метициллин-резистентным золотистым стафилококком (MRSA) связаны внутрибольничные инфекции. На начальных этапах патогенеза бактерия преодолевает физиологические барьеры организма человека, в том числе воздействие генерируемых фагоцитами активных форм кислорода и азота, способных вызвать нарушение в структуре ДНК. Для сохранения целостности генетического аппарата, *S.aureus* обладает эффективным механизмом исправления повреждений ДНК, в котором эксцизионная репарация оснований (ЭРО) играет ключевую роль. Одним из ключевых ферментов ЭРО является апуриновой/апиримидиновая-эндонуклеаза IV (*nfo*), изучение которой у *S.aureus* не проводилось. Целью работы является выделение и клонирование гена АП-эндонуклеазы IV *S.aureus* в составе бактериального вектора для получения и изучения *Nfo* в условиях *in vitro*.

В работе были использованы два штамма *S.aureus*, полученные из Национального научного медицинского центра города Астаны. Выделение и амплификацию гена АП-эндонуклеазы IV с геномной ДНК бактерий проводили методом полимеразной цепной реакции. Подбор олигонуклеотидов специфичных к гену *nfo* осуществлялся на основании анализа полных геномов *S.aureus*. Для клонирования гена в векторе, в состав олигонуклеотидов были заложены сайты под эндонуклеазы рестрикции. Были оптимизированы следующие параметры ПЦР: температура отжига праймеров, концентрация ионов магния, количество геномной ДНК и количество циклов в реакции. Использовались различные типы ДНК полимераз: Taq, Pfu и Pfuision ДНК полимеразы. В результате работы был успешно амплифицирован ген *nfo*, который был клонирован в векторе pET-28c(+) по сайтам NdeI/VamHI. Полученной лигазной смесью обрабатывали клетки *E.coli* JM109. Отбор клонов-трансформантов осуществляли на селективной среде с канамицином с последующим анализом клонов методом ПЦР по T7-региону и рестрикционным анализом. В результате из 41 колоний 8 оказались положительными на предмет содержания гена *nfo*. Секвенирование двух клонов по методу Сэнгера подтвердило отсутствие мутаций в гене. Общая протяженность *nfo* составляет 891 пар оснований. Сличение с данными NCBI показало идентичность гена *nfo* с референсной последовательностью (NC\_007795.1). В полученной генетической конструкции ген *nfo* встроен под контроль промотора бактериофага T7. К 5'- концу открытой рамки считывания, кодирующей *nfo* добавлены гистидиновые триплеты для очистки рекомбинантного белка *Nfo* методом металлоаффинной хроматографии.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕЧЕСКОЙ ГЛИОМЫ КАК МОДЕЛИ ДЛЯ ТЕСТИРОВАНИЯ ВИРУСНЫХ КОНСТРУКТОВ

Тутукова С.А., Пономарева Н.В., Лебедева А.В., Бабаев А.А., Епифанова Е.А.  
ФГАОУ ВО Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского,  
Нижний Новгород, Россия

*tutukova.sveta@yandex.ru*

Самым распространенным инструментом для доставки генетического материала в клетку являются вирусные векторы. Разнообразие вирусных векторов велико и все они имеют свои преимущества и недостатки. Аденовирусные векторы обеспечивают высокие титры рекомбинантного вируса и высокий уровень экспрессии вводимых генов. Вирусные векторы применяют и для доставки оптогенетических

белков, например, Channelrhodopsins2 (ChR2). ChR2 формирует ионный канал в мембране и под воздействием источника света активируется, в результате чего в клетку входят ионы натрия, кальция, калия и хлора, что в свою очередь позволяет осуществлять мониторинг различных метаболических процессов в клетках, в частности контроль уровня возбудимости нейронов и кальциевый гомеостаз в астроглиальных клетках мозга.

В данной работе тестировали два аденовирусных вектора, сконструированных для экспрессии в астроцитах под промотором GFAP. GFAP - глиальный фибриллярный кислый белок, образующий промежуточные филаменты в астроглии. Первый вектор содержал флуоресцентный белок GFP (Ex/Em 484/507), взаимодействующий с белками цитоскелета. Второй вектор состоял из оптогенетического белка ChR2 и желтого флуоресцентного белка Venus (Ex/Em 515/528). Но, прежде чем применять вирусный вектор в экспериментах *in vivo*, необходимо проверить его эффективность *in vitro* на простой модели.

В экспериментах *in vitro* использовали перевиваемую линию клеток U-251 MG – глиомы человека, полученную из Коллекции культур клеток Института цитологии (Санкт-Петербург). Глиома – опухоль, происходящая из астроцитарных клеток, за счет своего усиленного роста и простоты культивирования является прекрасной моделью для тестирования эффективности вирусных векторов. Культура клеток U-251 MG выращивалась на среде DMEM с содержанием сыворотки 10%, культивирование клеток с вирусом осуществлялось при плотности клеток 70-80% в поле зрения. Экспрессия вируса оценивалась на 1, 2 и 3 сутки на микроскопе Karl Zeiss 510 LSM. Максимум экспрессии аденовирусного вектора GFAP-GFP наблюдался на следующие сутки после трансфекции, а экспрессия аденовирусного вектора GFAP-ChR2-Venus была невысокой и проявлялась лишь на третьи сутки.

Отличие в экспрессии происходило из-за различий в молекулярной массе тестируемых конструкторов: флуоресцентный белок GFP имеет небольшую массу 26,9 кДа, а конструкция ChR2-Venus - 67,99 кДа, к тому же он встраивается в мембрану. Таким образом, модель клеточной культуры глиомы человека хорошо подходит для тестирования эффективности вирусных векторов и для последующего их применения в экспериментах *in vivo*.

## ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ N-КОНЦЕВОГО УЧАСТКА БЕЛКА L27 В ПОДДЕРЖАНИИ АКТИВНОГО СОСТОЯНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОЙ РИБОСОМЫ *IN VIVO*

Фандо М.С., Коробейникова А.В., Гарбер М.Б., Гонгадзе Г.М.  
ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия

*fando@vega.protres.ru*

Из структурных исследований бактериальных рибосом следует, что белок L27 расположен в центральном протуберанце 50S субчастицы, а его вытянутый N-концевой «хвост» образует много контактов со спиралью H80-H81 23S рРНК (район контакта с тРНК). Кроме того, этот «хвост» L27 дотягивается до тРНК в Р-сайте и его остатки A2, G6 и R11 могут взаимодействовать с ней напрямую. Учитывая эти данные, N-концевому «хвосту» белка L27 приписывается одна из ключевых ролей в координации двух тРНК в районе пептидилтрансферазного центра. Ранее Maguire с коллегами (2005) уже исследовали роль N-концевых остатков белка L27 в функционировании рибосомы *in vivo*. Однако данные, полученные в этой работе, сегодня, когда известно гораздо больше деталей о структуре рибосомы, выглядят не очень однозначными. Так было показано, что удаление только трех N-концевых остатков в белке L27, со 2 по 4 (только один из них образует контакт с тРНК), приводило к большим изменениям в росте клеток, чем удаление 6 или 9 остатков. При этом удалялся K4, который может образовывать несколько связей с H80 (так называемая Р-петля) 23S рРНК, а на его месте оказывался первый метионин. Мы предположили, что укорочение белка L27 могло повлиять не столько на прямые его контакты с тРНК, сколько на стабильность структуры функционально важного участка рибосомной РНК.

В настоящей работе мы заменили некоторые строго консервативные остатки в N-концевом участке L27, образующие контакты с 23S рРНК, но не с тРНК. Созданы штаммы *Escherichia coli*, содержащие в хромосоме ген мутантного белка L27 (изменения в белке: K4L; K4A/K5G или R14A). Оказалось, что замена R14A не влияет на рост клеток и активность их рибосом. Однако замена K4 на лейцин приводит к эффекту сравнимому с эффектом, полученным в вышеупомянутой работе при удалении трех остатков. Еще больший эффект на рост клеток и активность их аппарата трансляции был получен при замене K4A и K5G. В то же время, указанные изменения в белке L27, мало влияли на стабильность ассоциации рибосомных субчастиц и другие их физико-химические свойства. Полученные результаты позволяют внести некоторую коррекцию в гипотезу о роли N-концевого «хвоста» белка L27 в функционировании бактериальной рибосомы. Мы предполагаем, что, по крайней мере, контакты K4 и K5 белка L27 с 23S рРНК играют важную роль в поддержании правильной структуры участка связывания тРНК с рибосомой. Работа поддержана Программой МКБ РАН.

## ГЕТЕРОЛОГИЧНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ДЕГРАДАЦИИ САЛИЦИЛАТА В КЛЕТКАХ *E. COLI*

Филатова И.Ю., Захарова М.В.

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

*irafilatova24@gmail.com*

Белок SgpR (LysR-семейство TF, LTTR) контролирует экспрессию генов деградации салицилата штамма *P. putida* AK5 [T. Yu. Izmailkova, 2013]. На настоящий момент из известных регуляторов деградации салицилата наиболее детально исследован TF NahR штамма *P. putida* G7. Клонированные гены *nah*, *sal* и *nahR* были способны к экспрессии и в норме регулировались, несмотря на то, что уровень экспрессии в клетках *E. coli* был в 10-20 раз ниже [M. Schell, 1983]. Аминокислотные остатки N-концевого домена  $\alpha$ -субъединицы РНКП *P. putida* гомологичны таковым РНКП *E. coli*. Методом дрожжевого двугибридного анализа показано, что представители LTTR контактируют с  $\alpha$ -субъединицей РНКП [Chugani, 1997, Woojun Park et. al, 2002, Gong, 2011].

В данной работе проведено сравнение экспрессии генов *sgp*-оперона *in vitro/in vivo* в клетках *P. putida* и *E. coli* и отмечено не только значительное различие в уровне экспрессии, но и отличие промоторных последовательностей исследуемого оперона, «распознаваемых» РНК-полимеразы. Методом 5'RACE в штамме *P. putida* AK5 определен +1 сайт *sgp*-оперона, который расположен на 46 нуклеотидов выше стартового кодона гена *sgpA* (оксидоредуктазный компонент салицилат 5-гидроксилазы). Методом транскрипции *in vitro* с использованием РНКП *E. coli* обнаружены два транскрипта *sgp*-оперона, уровень которых не зависит от присутствия транскрипционного регулятора SgpR и индуктора, +1 сайт более длинного транскрипта расположен в районе реальной точки начала транскрипции, +1 сайт более короткого транскрипта расположен, соответственно, на несколько нуклеотидов выше. С использованием штамма *E. coli* HB101 и химерных конструкций, содержащих репортерный ген *lacZ*, было произведено картирование промоторной области *sgp*-оперона и регуляторного гена *sgpR*. Уровень  $\beta$ -галактозидазной активности конструкции, с усеченным -35 боксом, содержащей только -10 бокс регуляторного гена, в отсутствие белка SgpR составил 7682 $\pm$ 122 единиц Миллера, в то время как в присутствии SgpR уровень активности снижался на три порядка. Уровень  $\beta$ -галактозидазной активности конструкции, содержащей только -10 бокс *sgp*-оперона, оставался постоянным независимо от присутствия транскрипционного фактора SgpR и индуктора (салицилата), и составил 140 $\pm$ 18 единиц Миллера. Уровень экспрессии гена  $\beta$ -галактозидазы во *fusion*-конструкции, содержащей полноразмерный фрагмент промоторной области *sgp*-оперона, в присутствии белка SgpR и индуктора возрастал в  $\sim$  5 раз и составил 207 $\pm$ 23 единиц Миллера. Количественный анализ изменения содержания мРНК гена *sgpR* и оперона *sgpAIKGHB* в штамме *P. putida* AK5 проводили методом ПЦР в реальном времени. В качестве контрольного гена выбран ген 16S рРНК. Уровень экспрессии регуляторного гена оставался постоянным независимо от присутствия индуктора (Ср 19,1 и 19,5). Уровень экспрессии генов *sgp*-оперона в присутствии индуктора значительно возрастал (в  $\sim$ 10<sup>3</sup> раз; Ср 14,8 и 24,3).

## НОВАЯ ЭКСПРЕССИОННАЯ СИСТЕМА НА ОСНОВЕ ОПТИМИЗИРОВАННОГО ГЕНА ФИТАЗЫ *PANTOEA AGGLOMERANS*

Хабилова Н.Н., Валеева Л.Р., Частухина И.Б., Шарипова М.Р.

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

*khabipova@list.ru*

Фосфор – один из важнейших элементов минерального питания, необходимый для роста и развития живых организмов. Однако содержание доступных форм неорганического фосфора в природных источниках снижается, что обуславливает растущую проблему дефицита фосфорного питания растений и животных. В связи с этим в последние годы внимание ученых направлено на изучение бактериальных фитат-деградирующих ферментов - фитаз, в связи с появлением данных о возможности их использования для снижения содержания фитатов в кормах для животных и в продуктах питания человека растительного происхождения, так как известно, что фитат является основной формой хранения фосфата в семенах растений и пыльце

Фитаза бактерии *Pantoea agglomerans* (*paPhyc*) обладает высокой активностью по отношению к фитату, причем рН и температурные оптимумы хорошо соответствуют условиям кислых почв умеренных широт. Кодон-оптимизация бактериального гена фитазы для последующего клонирования в растительный геном обуславливает необходимость исследования ферментативных и биохимических свойств рекомбинантного белка и его сравнения с нативной фитазой.

Цель работы - получение новой экспрессионной системы в рекомбинантном штамме *E. coli* BL21 pLysS, на основе оптимизированного гена фитазы *P. agglomerans* и изучение свойств рекомбинантного белка.

Химически синтезированный ген фитазы *Pantoea agglomerans* клонировали в молекулярный вектор pET 28 b. Полученную конструкцию pET 28 b *paPhyc* трансформировали в штамм *E. coli* DH 5 $\alpha$ . Наличие

целевого гена в полученных трансформантах показано ПЦР и использованием праймеров к гену фитазы *Pantoea agglomerans*. Для получения экспрессионной системы с высокой экспрессией белка рекомбинантную плазмиду трансформировали в клетки *E.coli* BL 21 pLysS. Селекцию трансформантов проводили на среде LA с добавлением селективных антибиотиков – канамицина и хлорамфеникола. Трансформация подтверждена ПЦР и секвенированием. Экспрессия фитазы в клетках *E.coli* BL 21 pLysS показана с помощью Western-blot анализа. Активность фитазы составила 0,09 Ед/мг.

Таким образом, нами получен рекомбинантный штамм *E.coli* BL21 pLysS, экспрессирующий синтетический ген фитазы *P.agglomerans*. Изучение экспрессии и свойств данного фермента станет одним из этапов в решении фундаментальных проблем, связанных с регулированием фосфорного обмена.

### **ПЕРСПЕКТИВА ИЗУЧЕНИЯ ГЕНОВ ЭКСЦИЗИОННОЙ РЕПАРАЦИИ ОСНОВАНИЙ ДНК И ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ПОВРЕЖДЕНИЙ ЯДЕРНОЙ И МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК В СВЯЗИ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ПРИВЫЧНОГО НЕВЫНАШИВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ**

**Хаджиева М.Б.<sup>1</sup>, Володин И.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Медико-генетический научный центр, Москва, Россия

*m.had@mail.ru*

Привычным невынашиванием беременности (ПНБ) принято считать наличие в анамнезе у женщины подряд двух и более самопроизвольных прерываний беременности в сроках до 22 недель. Основными причинами развития ПНБ называют анатомические, эндокринные, инфекционные, иммунные и хромосомные аномалии, однако в 23-40% случаев этиология ПНБ остается невыясненной. Чрезмерная продукция активных форм кислорода (АФК) может вызвать ряд нарушений, в частности, может спровоцировать спонтанный аборт, невынашивание беременности, преэклампсию, задержку внутриутробного роста.

Воздействие АФК приводит к повреждению митохондриальной ДНК (мтДНК) и накоплению множественных мутаций. Существенный вклад в стабильность мтДНК вносит эксцизионная репарация оснований (ЭРО), которая удаляет повреждения, вызываемые окислением, дезаминированием, алкилированием азотистых оснований. Высокий уровень повреждений мтДНК, обусловленный недостаточной функциональностью генов ЭРО, может повлиять на исход беременности: способствуя развитию хромосомных нарушений у плода; усилив апоптоз, что может влиять на формирование плацентарной недостаточности; а также может выступать в качестве экстрагенитального фактора и опосредованно влиять на течение беременности.

Ферменты митохондриальной ЭРО кодируются ядерными генами, полиморфные варианты которых обуславливают значительные различия в эффективности репарации повреждений ДНК. Мы планируем изучить полиморфные варианты генов, кодирующих белки ЭРО, функционирующие как в яДНК, так и в мтДНК, для оценки их роли в развитии ПНБ: *LIG3*, *OGG1*, *APEX1*, *NEIL1*, *FEN1*, *ERCC6*, *ERCC8*, *NTHL1*. К настоящему моменту нами выявлен рискованный аллель rs1052133-G гена *OGG1* (8-oxoguanine DNA glycosylase), который достоверно чаще встречался среди женщин с ПНБ. Так как промежуточные фенотипы, более тесно связанные с функционированием исследуемых генов, чем клинический конечный фенотип (наличие/отсутствие ПНБ), часто характеризуются более выраженными эффектами, для оценки роли полиморфных вариантов генов ЭРО в развитии ПНБ, будут использованы промежуточные маркеры, характеризующие уровень повреждений ДНК: концентрация циркулирующей внеклеточной ДНК, относительная количественная оценка фрагментов циркулирующей мтДНК некротического и апоптотического происхождения, а также уровень повреждений мтДНК. Таким образом, будет использован комплексный подход в изучении роли генов ЭРО в реализации повреждений ДНК и развитии ПНБ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 16-34-01322 мол\_а).

### **ГЕН ГОРОХА SUM36, НЕОБХОДИМЫЙ ДЛЯ РАЗВИТИЯ АРБУСКУЛ И ПРОНИКНОВЕНИЯ АРБУСКУЛЯРНО-МИКОРИЗНЫХ ГРИБОВ И КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ В ЭПИДЕРМИС, – ПРЕДПОЛАГАЕМЫЙ ОРТОЛОГ ГЕНА VAPYRIN**

**Хайруллина М.М.<sup>1</sup>, Штарк О.Ю.<sup>2</sup>, Федорина Я.В.<sup>2</sup>, Сулима А.С.<sup>1,2</sup>, Афонин А.М.<sup>1,2</sup>, Тихонович И.А.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБНУ

Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии,

Санкт-Петербург, Россия

*x.mania2012@yandex.ru*

Бобовые растения, в т.ч. горох посевной (*Pisum sativum* L.), образуют арбускулярную микоризу (АМ) с грибами филы *Glomeromycota* и азотфиксирующие клубеньки с бактериями филы *Proteobacteria*. Благодаря этим отношениям растение получает необходимые минеральные вещества и воду, а симбионт –



углеводы. Симбиотические отношения – это сложный процесс, который регулируется множеством генов растения. Узнавание растением микросимбионта приводит к запуску симбиотических сигнальных путей.

У гороха одним из предполагаемых компонентов общего симбиотического сигнального пути является ген *Sym36*, локализованный в VI группе сцепления гороха. Мутация в гене *Sym36* приводит к отсутствию клубеньков (Nod<sup>-</sup>-фенотип, при этом клубенькообразование заблокировано на стадиях формирования инфекционной нити в корневом волоске и апикальной меристемы клубенька), а при развитии АМ – к образованию недоразвитых внутриклеточных структур – арбускул. Данный мутантный фенотип позволяет предположить, что ген гороха *Sym36* является ортологом гена *Medicago truncatula Vapyrin (VPY)*. Ген *VPY* необходим для внутриклеточной колонизации корня растения АМ-грибами и клубеньковыми бактериями, однако его точная физиологическая функция неизвестна. Целью данного исследования было уточнение роли гена гороха *Sym36* в развитии АМ, а также поиск возможных мутаций в последовательности, гомологичной *VPY*, у мутантов гороха по гену *Sym36*.

В ходе работы была использована линия гороха Finale и два индуцированных на ней мутанта: RisNod24 (*sym36*) и RisNod26 (*sym36*). В результате сравнительного анализа развития АМ был подтвержден описанный ранее мутантный фенотип в отношении образования арбускул. Также было впервые показано, что у обоих мутантов гипертрофирован внешний мицелий гриба, что свидетельствует о его затрудненном проникновении внутрь клеток эпидермиса. Дизайн праймеров для амплификации и секвенирования был осуществлен на основе последовательности гороха, найденной в его клубенек-специфичном транскриптом и имеющей высокий процент гомологии с геном *VPY*. Секвенирование последовательности, гомологичной *VPY*, показало, что у обоих мутантов гороха произошли точечные мутации, приводящие либо к замене аминокислоты в белке (N31K – у RisNod26), либо к преждевременному стоп-кодону (K344Stop – у RisNod24). Проводимый в настоящее время косегрегационный анализ позволит получить дополнительное подтверждение или опровергнуть гипотезу о гомологии генов *Sym36* и *VPY*.

Исследование поддержано грантами РФФ (14-24-00135 и 16-16-00118) и РФФИ (14-04-01442, 15-29-02737 и 16-04-01859).

#### ОДИНОЧНАЯ ЗАМЕНА В СТРУКТУРЕ FLAP-ЭНДОНУКЛЕАЗЫ ПОВЫШАЕТ ЕЁ ЭКЗОНУКЛЕАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ

Холод Н.С., Сивогринов Д.Е., Латыпов О.Р., Майоров С.Г., Кузницын Р.А., Каява А.В.,  
Шляпников М.Г., Грановский И.Э.

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

*rafailkuzn@gmail.com*

Бактериофаг Т4 является классическим модельным объектом исследования таких молекулярно-генетических процессов как гомологичная рекомбинация, репликация, репарация двуцепочечных разрывов и др.

Данная работа посвящена характеристике замен в гене РНКазы Н бактериофага Т4, которыми обусловлен так называемый *das*-эффект. Для *das*-мутаций (от англ. DNA arrest suppressor) бактериофага Т4 описана способность к частичной супрессии "DNA arrest"-фенотипа (прекращение синтеза ДНК) фага, вызванная дисфункцией в генах 46 и 47 (также известных как комплекс Mre11/Rad50). Генетическое картирование *das13* (одного из *das*-мутантов) показало наличие замен в регионе гена *nh*, кодирующего РНКазу Н, что привело к изменению структуры белка, а именно: валин в положении 43 и лейцин в положении 242 замещены на изолейцин.

РНКазы Н бактериофага Т4 участвует в удалении РНК-затравок при синтезе отстающей цепи репликативной вилки, однако помимо экзонуклеазной активности на РНК : ДНК дуплексах обладает также 5'-экзо- и flap-эндонуклеазной активностями на дцДНК. Чтобы исследовать влияние выявленных мутаций на нуклеазные свойства РНКазы Н мы разработали подход, позволяющий нам в условиях *in vitro* разделить и количественно оценить экзо- и эндонуклеазные активности flap-эндонуклеаз. Анализ нуклеазы *in vitro* показал, что замена V43I повысила соотношение между экзонуклеазной и эндонуклеазной активностями РНКазы Н, в то время как замена L242I не оказала влияния на нуклеазную активность РНКазы Н. Однако, для полного *das*-эффекта в условиях *in vivo* были необходимы обе мутации. Молекулярное моделирование структуры нуклеазы позволяет предположить, что замена V43I может привести к диспозиции H4-спирали, отвечающей за взаимодействие с первыми парами оснований 5'-конца разветвленной ДНК. Эти изменения могут повлиять на раскручивание первых пар оснований ДНК, формирующей короткий flap-конец за счёт брешей или ников, и, таким образом, могут стабилизировать комплекс ДНК — фермент. Замена L242I не оказывает влияния на структуру РНКазы Н и её роль в обеспечении *das*-эффекта остаётся неясной.

## ИЗУЧЕНИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ СТРОЕНИЯ ПАРВАЛЬБУМИНОВ, ОБУСЛАВЛИВАЮЩИХ СТРУКТУРНУЮ СТАБИЛЬНОСТЬ ИХ АПО-ФОРМ

Вологжанникова А.А.<sup>1</sup>, Хорн П.А.<sup>1</sup>, Казаков А.С.<sup>1</sup>, Соколов А.С.<sup>1</sup>, Пермяков Е.А.<sup>1,2</sup>, Пермяков С.Е.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биологического приборостроения с опытным производством РАН, Пушкино, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия

*lisiks.av@gmail.com, horn\_pa@mail.ru*

Парвальбумин/онкомодулин (ПА) – цитозольный кальцийсвязывающий белок позвоночных, играющий роль буфера ионов кальция/магния, экспрессируемый в быстрых мышечных волокнах, специфических нейронах, некоторых клетках почек и желез внутренней секреции, клетках Корти. ПА служит маркером некоторых онкозаболеваний; ПА с измененными металлсвязывающими свойствами предложены для терапии ряда сердечных заболеваний; ПА с инактивированными металлсвязывающими центрами предложены для иммунотерапии аллергии на рыбу; нарушение функционирования специфических ПА-содержащих нейронов рассматривают в качестве основного механизма развития шизофрении; показано снижение иммунореактивности ПА в специфических областях мозга при болезни Паркинсона и аутизме. В этой связи, изучение структурных свойств ПА важно для дальнейшего развития терапевтических/диагностических применений белка. Один из малоизученных вопросов – структурные факторы, определяющие структурную стабильность свободной от катионов металлов формы ПА (апо-). Некоторые апо-ПА обладают низкой стабильностью, другие демонстрируют отсутствие жесткой третичной структуры. Опираясь на предсказания внутренней неупорядоченности в ПА из разных организмов, нами была выбрана панель ПА, предположительно обладающих пониженной структурной стабильностью. Нами получена рекомбинантная форма одного из них, b-ПА кижуча (кПА). Характеризация свойств кПА на уровне первичной, вторичной, третичной и четвертичной структур белка набором теплофизических, спектральных и биохимических методов показала отсутствие в апо-кПА жесткой третичной структуры, дезорганизацию его вторичной структуры, при сохранении преимущественной мономерности белка. Будучи внутренне неупорядоченным белком, кПА приобретает жесткую третичную структуру при связывании катионов кальция/магния. Анализ полученных и литературных данных, а также расчеты внутренней неупорядоченности ПА из разных организмов показал, что в отличие от белков, обладающих свернутой апо-формой, ПА, характеризующиеся отсутствием жесткой третичной структуры в апо-форме, демонстрируют повышенную склонность к неупорядоченности в области N-концевого участка белка, содержащей спираль А, петлю АВ и N-концевую часть спирали В. Предложен метод предсказания уровня структурной стабильности апо-ПА на основе аминокислотной последовательности белка. Учитывая взаимосвязь между структурной стабильностью апо-формы белка и его сродством к ионам кальция, предложенный метод позволяет предсказывать ПА, обладающие повышенным сродством к кальцию, что востребовано при разработке белков с максимальной чувствительностью к кальцию.

## ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ ПОДАВЛЕНИЯ РЕПЛИКАЦИИ ГУАНИН-БОГАТЫМИ ОЛИГОНУКЛЕОТИДАМИ

Христич А.Н.<sup>1</sup>, Зенков Р.Г.<sup>2</sup>, Оглоблина А.М.<sup>1</sup>, Якубовская М.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИИ Канцерогенеза ФГБНУ РОНЦ им. Н.Н.Блохина, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*khristich.a@gmail.com*

Аптамеры, представляющие собой короткие одноцепочечные фрагменты нуклеиновых кислот, способные образовывать различные вторичные структуры, считаются перспективным классом агентов таргетной терапии опухолей. При этом одним из наиболее интересных подклассов аптамеров являются гуанин-богатые олигонуклеотиды (ГБО), способные образовывать альтернативные вторичные структуры ДНК – G-квадруплексы (G4). Среди преимуществ ГБО выделяют отсутствие иммунного ответа, устойчивость к нуклеазам и повышенное время циркуляции в организме при отсутствии дегградации. При этом наиболее значимой особенностью ГБО является направленное действие по отношению к опухолевым клеткам.

Известно, что ГБО индуцируют апоптоз в различных типах клеток опухолей, что связывают с их способностью подавлять репликацию ДНК, однако детальный механизм этого процесса не известен.

Для определения возможных механизмов ингибирования репликации ГБО, мы изучили их способность взаимодействовать с двумя ферментами, вовлеченными в репликативную машину – топоизомеразой I и ДНК полимеразой. В качестве объекта исследования были отобраны ГБО, имеющие афинность к разнообразным белкам-мишеням таргетной терапии опухолей (факторы транскрипции Sp1, STAT-3 и нуклеолин, фактор роста VEGF, тирозиназная фосфатаза Shp2, топоизомераза I), а также их модифицированные аналоги.

Большинство исследуемых олигонуклеотидов ингибируют полимеразу и топоизомеразу в микро- и наномолярных концентрациях, причем ингибирующий эффект не зависит от того, к какому классу принадлежит белок, являющийся предположительной первичной мишенью для аптамера.

Кроме того, среди эффективных ингибиторов были выявлены олигонуклеотиды, которые проявили высокую цитотоксичность на линиях опухолевых клеток, при этом не вызывая биологического эффекта на условно нормальных линиях клеток, что делает их потенциальными эффективными противоопухолевыми средствами.

### **ВЛИЯНИЕ ПРОТЕИНАЗЫ HTRA НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ КЛЕТОК *BACILLUS SUBTILIS* В УСЛОВИЯХ ТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕССА И В СОСТАВЕ БИОПЛЕНКИ**

**Чернова Л.С., Шигапова З.Р., Рыжикова М.Н., Шарафутдинов И.С., Каюмов А.Р.**  
ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

*LSCh-888@live.com*

Htra (high temperature requirement A) - это хорошо сохранившаяся в процессе эволюции группа белков, которые присутствуют в прокариотических и эукариотических организмах. Впервые эти белки были идентифицированы у бактерий как индуцируемые тепловым шоком сериновые протеазы, осуществляющие гидролиз поврежденных белков.

Представило интерес выяснить, возможно ли повысить устойчивость клеток бактерий *B. subtilis* к стрессовым условиям за счет повышенной продукции протеиназы HtrA, а так же ее участие в образовании биопленки. Проводили оценку в условиях повышенной температуры жизнеспособности клеток бактерий с гиперпродукцией белка HtrA, а также инактивацией его гена с помощью дифференциального флюоресцентного окрашивания мертвых и живых клеток данных штаммов. При температуре 55 °С 48% клеток с гиперпродукцией белка оставались жизнеспособными, в то время как в контроле жизнеспособными оказались только 19,5% клеток штамма. Также жизнеспособность клеток исследовали методом DropPlate. Клетки подвергали температурному воздействию в течении одного часа и высевали на питательную среду с соответствующим антибиотиком на чашках Петри. В результате, в штамме с инактивированным геном протеазы HtrA количество жизнеспособных клеток при температуре 55 °С оказалось на 3 порядка ниже, чем в штамме с гиперпродукцией белка.

Ранее методом окрашивания кристаллическим фиолетовым мы обнаружили, что уровень образования биопленки нокаутного по гену *HtrA* штамма *B. subtilis* оказалась значительно ниже чем в исходном штамме. Показано, что на твердой питательной среде колонии клеток *B. subtilis* с гиперпродукцией и инактивацией протеиназы HtrA имеют морфологические различия. Отклонение от физиологических количеств белка HtrA у *B. subtilis* приводит к образованию роящихся колоний. Данный процесс характерен для такого явления, как чувство вкруума у бактерий. Предполагается, что роение как-то связано с продукцией внеклеточного матрикса. Проверку проводили на плотной среде с красителем CongoRed, который окрашивает внеклеточные амилоидные белки. Выросшие на третьи сутки колонии отличались визуально по размеру и структуре. Колония клеток с инактивацией гена *HtrA* характеризовалась отсутствием окраски красителем CongoRed, что свидетельствует об отсутствии в структуре внеклеточного матрикса амилоидов. Напротив, у штамма гиперпродуцента HtrA толщина колонии была в 1,5 раза больше чем у исходного штамма.

Таким образом, было установлено, что повышенный синтез протеиназы HtrA способствует повышению жизнеспособности клеток бацилл в условиях повышенной температуры и образованию ими биопленок.

### **ТИОРЕДОКСИН-ДОМЕННЫЕ БЕЛКИ КАК ОДИН ИЗ ФАКТОРОВ МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ ОПУХОЛЕЙ**

**Чмыхало В.К., Коринфская С.А., Макаренко М.С., Беланова А.А., Золотухин П.В., Александрова А.А.**  
ФГАОУ ВПО Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии, Ростов-на-Дону, Россия

*vitek.impi@gmail.com*

Агрессивный характер раковой опухоли в первую очередь определяется ее способностью к метастазированию, базирующейся на фундаментальных клеточных процессах: клеточной сигнализации, регуляции состояния цитоскелета, клеточной адгезии и антиоксидантной защите. Один из немногих регуляторов, способных обеспечивать все перечисленные процессы в клетке, - тиоредоксин (TXN) - плейотропный клеточный фактор, главный представитель суперсемейства тиоредоксин-доменных белков, который давно находится в центре внимания молекулярной онкологии, как перспективная мишень для разработки противоопухолевых лекарств.

Так как у человека суперсемейство тиоредоксин-доменных белков включает в себя более 20 представителей, сегодня актуально изучать и другие белки данного суперсемейства на предмет замещения функций TXN, для более полного понимания происходящих в клетке процессов. Изучение таких белков и стало целью следующего обзора.

В ходе исследования была использована информация из баз данных Uniprot и NCBI PubMed. Анализ показал, что среди протеомно доказанных представителей суперсемейства тиоредоксин-доменных белков у человека обнаружены белки, сверхэкспрессия которых обнаруживается в различных формах рака. TXN – сенсор окислительного статуса клетки, регулятор состояния важнейших клеточных каскадов - AP-1, NF- $\kappa$ B, p53, HIF $\alpha$ , NFE2L2, MAPK, глюкокортикоидного рецептора, положительный модулятор состояния внеклеточных металлопротеиназ и некоторых молекул адгезии. TXN2 – антиапоптотический фактор, составляющий антиоксидантную систему митохондрий. TXNL1 – элемент 26S-протеасомы, способный регулировать антиапоптотические процессы и обеспечивать хеморезистентность. NME9 – белок, экспрессирующийся в клетках со жгутиками, регулятор каскада NF- $\kappa$ B и, возможно, микротрубочек. TXNDC9 – регулятор состояния микротрубочек. TXNDC17 – регулятор каскадов NF- $\kappa$ B, AP-1, MAPK, способный обеспечивать хеморезистентность.

Полученные в ходе анализа данные помогают составить функциональную картину тиоредоксин-доменных белков как в здоровых, так и в опухолевых клетках и позволяют оценить их вклад в сложные клеточные процессы. Становится понятным, что тиоредоксин-доменные белки являются одним из факторов, влияющих на метастазирование опухоли. Поэтому дальнейшее их изучение будет полезно как в фундаментальном, так и в прикладном направлениях, а также для разработки препаратов, блокирующих метастазирование опухоли.

#### **ВЫЯВЛЕНИЕ БЕЛКОВ, ФОРМИРУЮЩИХ ДЕТЕРГЕНТ-УСТОЙЧИВЫЕ АГРЕГАТЫ В ТКАНЯХ МОЗГА КРЫСЫ (RATTUS NORVEGICUS)**

**Шенфельд А.А.<sup>1</sup>, Рыжова Т.А.<sup>2</sup>, Кибарина М.Е.<sup>1</sup>, Сопова Ю.В.<sup>1,2</sup>, Галкин А.П.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Санкт-Петербург, Россия

*shenaleksandr@mail.ru*

Амилоидами называют поперечно исчерченные фибриллы, сформированные за счет упорядочивания межмолекулярных бета-складчатых слоёв. Патологическое накопление амилоидных фибрилл является непосредственной характеристикой целого ряда социально значимых нейродегенеративных заболеваний. Изучение амилоидозов является одним из приоритетных направлений современной биомедицины. Однако, помимо патологических амилоидов, у ряда организмов выявлены также функциональные амилоиды, участвующие в регуляции жизненно-важных процессов. Поскольку в современной практике нет универсальных биохимических методов идентификации амилоидов *in vivo*, можно предположить, что в тканях мозга млекопитающих существуют другие, пока еще не охарактеризованные амилоидные полимеры.

В нашей лаборатории был разработан и апробирован метод протеомного скрининга, позволяющий идентифицировать амилоиды в различных тканях. Данный метод основан на универсальной особенности амилоидных фибрилл – их повышенной устойчивости к обработке ионными детергентами. С помощью данной методики мы провели протеомный скрининг белков, формирующих детергент-устойчивые агрегаты в мозге крысы (*Rattus norvegicus*). Данное исследование проводили методом ультрацентрифугирования, с предварительной обработкой образца 2% SDS. Белки, образующие детергент-устойчивые агрегаты, были идентифицированы с помощью масс-спектрометрии.

В образцах, выделенных из мозга крыс, были выявлены белки, непосредственно задействованные в синаптической трансмиссии: NSF, FXR1 и STXB1. С помощью биоинформатических алгоритмов было установлено, что данные белки имеют потенциальные амилоидогенные регионы. На основании этого мы полагаем, что некоторые из выявленных в протеомном скрининге белков обладают амилоидными свойствами. Далее планируется проверить данные белки на способность формировать фибриллы в условиях *in vitro* и *in vivo*. Результаты, полученные в этом проекте, могут иметь важное фундаментальное значение. Изучение функциональных амилоидов является новым и приоритетным научным направлением, позволяющим расширить наши представления о значимости амилоидов в регуляции физиологических процессов.

Работа была выполнена при частичной финансовой поддержке РФФ 14-50-00069 и РФФИ 14-04-01463.

## **ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ СВОЙСТВА И СОСТАВ ФЛУОРОФОРОВ ЛИПОФУСЦИНОВЫХ ГРАНУЛ РЕТИНАЛЬНОГО ПИГМЕНТНОГО ЭПИТЕЛИЯ КАДАВЕРНЫХ ГЛАЗ ЧЕЛОВЕКА В НОРМЕ И В СЛУЧАЕ ВИЗУАЛИЗИРУЕМОЙ ПАТОЛОГИИ**

**Яковлева М.А.<sup>1</sup>, Арбуханова П.М.<sup>2</sup>, Фельдман Т.Б.<sup>3</sup>, Борзенко С.А.<sup>2</sup>, Островский М.А.<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» имени С.Н. Федорова, Москва, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*lina.invers@gmail.com*

В настоящее время активно развивается новый неинвазивный метод диагностики глазной патологии – аутофлуоресценция глазного дна. Основным источником аутофлуоресценции являются липофусциновые гранулы (ЛГ), находящиеся в клетках ретинального пигментного эпителия (РПЭ). Флуоресцентные свойства ЛГ обусловлены наличием в них более 21 флуорофора – производных полностью-*транс*-ретинала. Структура большей части флуорофоров еще не установлена. Наиболее изученным является флуорофор ЛГ – бис-ретинилиден этаноламин (А2Е). Относительный состав флуорофоров в ЛГ меняется с возрастом, и, вероятно, при патологии.

Целью данной работы был анализ спектральных характеристик суспензии клеток РПЭ и состава флуорофоров ЛГ, выделенных из индивидуальных кадаверных глаз в норме и в случае визуализируемой патологии.

Флуорофоры ЛГ были выделены из РПЭ кадаверных глаз доноров разных возрастов как в норме, так и в случае визуализируемой патологии. Кадаверные глаза человека были получены из Глазного тканевого банка ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России. Экстрагированные в хлороформ флуорофоры ЛГ были исследованы методами флуоресцентной спектроскопии и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Показано, что *максимумы* спектров флуоресценции суспензии клеток РПЭ из кадаверных глаз человека в норма не меняются с возрастом и находятся в области  $575 \pm 15$  нм. При этом в случае визуализированной патологии максимум спектров флуоресценции суспензии клеток РПЭ смещается в коротковолновую область видимого спектра на 23-36 нм. Обнаружено, что с возрастом в составе ЛГ повышается относительное содержание продуктов фотоокисления и фотодеградации А2Е (А2Е<sub>ox,deg</sub>). Соотношение А2Е<sub>ox,deg</sub>/А2Е увеличивается с возрастом доноров от  $0,64 \pm 0,03$  до  $1,31 \pm 0,04$ . Сравнение индивидуальных РПЭ, выделенных из кадаверных глаз доноров близких по возрасту, но отличающихся наличием или отсутствием в РПЭ визуально наблюдаемых патологических изменений показало, что при патологии наблюдается повышенное относительное содержание А2Е и продуктов его (фото)окисления и деградации. Полученные данные могут быть полезны для усовершенствования метода аутофлуоресценции глазного дна.

## **ДЕГИДРАТАЦИЯ БЕЛКОВЫХ МОЛЕКУЛ ЦИТОСКЕЛЕТА - МЕХАНИЗМ ПРЕВРАЩЕНИЯ ТЕПЛОВОЙ ЭНЕРГИИ ГИДРОЛИЗА АТФ В МЕХАНИЧЕСКУЮ ЭНЕРГИЮ КЛЕТОЧНЫХ ПУЛЬСАЦИЙ И ДРУГИХ ДВИГАТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ**

**Яшкичев В.И.**

ФГБОУ ВПО Московский педагогический государственный университет, Москва, Россия  
*vyashkichev@yandex.ru*

В биологических системах энергия хранится в молекулах АТФ и в нужный момент высвобождается, когда с помощью ферментов проходит гидролиз АТФ. Как пример рассмотрим поддержание клеткой одной из важных сторон гомеостаза – сохранение постоянного отрицательного заряда в клетке. Ионы натрия находятся вне клетки. Направляемые градиентом потенциала и градиентом концентраций эти ионы проникают в клетку, что является нарушением гомеостаза. Ионы натрия должны быть удалены. Удаление происходит следующим образом: при достижении определенной концентрации ионов натрия активируется фермент натрий-АТФ-аза и начинается гидролиз АТФ с выделением определенного количества теплоты и соответствующим локальным повышением температуры. Гидролиз АТФ выводит ионы натрия из клетки, восстанавливая этим гомеостаз. Для клеток возбудимых тканей этот процесс хорошо изучен.

Теоретическое и практическое значение гидратационной гипотезы прежде всего в том, что предложен ясный механизм превращения тепловой энергии в механическую. Гипотеза привела к открытию пульсаций и выяснению их механизма. Признание гипотезы связано с необходимостью пересмотреть некоторые разделы биологии клетки и создать механизмы возникновения патологий, связанных с нарушениями оптимального протекания пульсаций и механизмы, в которых имеет место использование теплоты гидролиза АТФ для превращения ее в работу. Важно также, что предлагаемый гидратационный подход будет определенным вкладом в теоретическую базу, создание которой необходимо для развития биотехнологий.

## **СЕКЦИЯ «БИОХИМИЯ»**

### **IRIS CALLUS EXTRACT IN THE TREATMENT OF ALLERGIC CONTACT DERMATITIS: EFFECT OF ANTIOXIDANT ACTIVITY**

**Gotina K.A., Korik E.O.**

Belarusian State University, Minsk, Belarus

*hapi\_kat@mail.ru*

Allergic contact dermatitis (ACD) is a serious skin disease and its prevalence is increasing worldwide. Current therapy is based on the topical use of anti-inflammatory drugs such as corticosteroids, which have side effects, and avoiding contact with the allergen, which is sometimes inconvenient or impossible. Therefore, there is a high interest in alternative therapeutic strategies and substances, one of which is the use of antioxidants. *Iris sp.* plants have historically been known to treat dermatitis and skin diseases as well as possess considerable antioxidant and radical-scavenging activity.

In this study we investigated the efficiency of a 60 µg/ml alcohol *Iris sp.* callus extract in treating acticide MV 14-induced ACD. The activity of superoxide dismutase (SOD) and catalase enzymes, and thiobarbituric acid (TBA) reactive substances content were evaluated in rat skin cytoplasm and blood serum by standard methods to describe the skin and organism antioxidant status during ACD and experimental treatment.

SOD and catalase activity decreased and TBA reactive substances content increased in ACD control group compared to healthy control. With time enzyme activity increased and TBA reactive substances content decreased in the ACD control group, but on 7<sup>th</sup> day still differed from healthy control. The analyzed parameters didn't differ in the iris extract and healthy control groups. In the experimental ACD group treated with iris extract analyzed parameters differed from ACD control and healthy control groups and on 7<sup>th</sup> day returned to healthy control group values.

The acquired results indicate that ACD is associated with significant oxidative stress, whilst iris callus extract has no irritant reaction on healthy skin. Iris callus extract demonstrates superoxide anion and peroxide radical scavenging activity and inhibits lipid peroxidation due to high total phenolic and flavonoid contents. The demonstrated efficiency of treating ACD makes iris callus extract a possibly suitable alternative treatment.

### **INTRANEURONAL AMYLOID-BETA, ZINC, AND DISTURBANCE OF GENE EXPRESSION – IS THERE A LINK?**

**Khmeleva S.A., Radko S.P.**

Orekovich Institute of Biomedical Chemistry, Moscow, Russia

*KhmelevaSwetlana@yandex.ru*

Alzheimer's disease (AD) is the most prevalent neurological disorder. According to the amyloid cascade hypothesis, the extracellular deposition of amyloid-beta peptide (Aβeta) aggregates plays a central role in AD pathogenesis. A growing body of evidence suggests that besides the extracellular Aβeta the accumulation of intraneuronal Aβeta (iAβeta) can contribute to the pathological alterations leading to AD. Today there are numerous reports based on different transgenic mouse and rat models which demonstrate the direct link between iAβeta accumulation and neuron loss. It has been suggested that iAβeta can contribute to neuron death through interference with the normal DNA expression. Indeed, the localization of iAβeta aggregates was found both in perikaryal cytoplasm and cell nuclei. Amyloid aggregates when localized in cytoplasm were shown to interfere with the nucleus-to-cytoplasm transport of mRNA. The *in vitro* interaction of DNA and RNA with aggregated Aβeta has been demonstrated in a number of reports.

Zinc is known to form stable complexes with Aβeta and induce rapid Aβeta aggregation and believed to play an important role in AD pathogenesis. Under conditions of oxidative and nitrosative stresses (which are implicated in AD pathogenesis) a substantial release of intraneuronal zinc (iZn) from metallothioneins (MTs) and accumulation of chelatable zinc in neuronal perikarya were shown in a number of studies. Moreover, the nitrosative stress can induce MTs translocation to a cell nucleus and intranuclear release of iZn. Thus, under conditions of oxidative and/or nitrosative stresses, iZn can be available for complexing with iAβeta.

We are reporting the experimental results showing that zinc-induced Aβeta aggregates are able to effectively bind single- and double-stranded DNA and RNA molecules and that zinc significantly enhance binding DNA and RNA to preformed fibrillar Aβeta aggregates. These findings agree with earlier reported zinc-induced binding of synthetic peptide Aβeta16 representing the metal-binding domain (MBD) of Aβeta to DNA thus suggesting that MBD serves as a zinc-dependent DNA-binding site of Aβeta. We are putting forward a hypothesis that an alteration in homeostasis of iZn may play an important role in AD pathogenesis through the interference of intraneuronal zinc-Aβeta complexes with gene expression.

**THE CHANGE OF ARGINASE ACTIVITY IN THE SERUM OF PATIENTS DIAGNOSED WITH  
BREAST CANCER**

**Sargsyan M.S., Avtandilyan N.V., Karapetyan S.A.**

Yerevan state university, Yerevan, Armenia

*mariam-sargsyan@ysu.am*

Breast cancer is one of the most abundant type of cancer and the major cause of mortality among woman. It is a common knowledge that cancer cell regulation mechanisms differ from normal ones, which have an impact on protein expression; hence it has an effect on cell metabolism and particularly on enzymatic patterns. Investigations of metabolic differences between normal and tumor cells can give an opportunity to reveal new approaches in cancer diagnosis and treatment. Arginase (L-arginine amidinohydrolase) catalyses hydrolysis of L-arginine into ornithine and urea. Being involved in the biosynthetic pathway of polyamines, which are key players in cell proliferation, arginase is considered as a candidate for diagnostic tool for cancer and a potential target for therapeutic purposes. The aim of our research is the measurement of arginase activity in breast cancer patients' serum before and after chemotherapy.

In this study we assayed arginase activity in the 41 breast cancer patients' serum before therapy and 8 patients' after chemotherapy. All patients were hospitalized in the National Center of Oncology after V.A.Fanarjyan. 11 cases had stage I ( $57 \pm 8$ , T<sub>1</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>), 16 cases had stage II ( $52 \pm 10$ , T<sub>1-2</sub>N<sub>1</sub>M<sub>0</sub>), 14 cases had stage III ( $55 \pm 11$ , T<sub>2-3</sub>N<sub>1-3</sub>M<sub>0</sub>). Control group included 8 volunteers ( $49 \pm 15$ ). Arginase activity was assayed spectrophotometrically, based on reaction of produced urea with diacetyl monoxime in acidic media.

Results showed that arginase activity was increased compared with normal samples depending on disease stage: 49.7% in stage I, 72.6% in stage II and 131.5% in stage III. Our data also showed that after chemotherapy arginase activity was significantly decreased, but still was 35.3% higher than in healthy samples.

Relying on these results we have drawn following conclusions

1. Arginase is involved in cancerogenesis and its activity is correlated with tumor progression
2. Arginase activity may indicate on efficiency of chemotherapy
3. Arginase activity may be used as marker for evaluation of cancer progression/regression.

**ВЛИЯНИЕ КРАТКОВРЕМЕННОГО ХОЛОДОВОГО СТРЕССА НА УРОВЕНЬ ОКСИДА АЗОТА В  
СУПЕРНАТАНТАХ ИНТАКТНЫХ НЕЙТРОФИЛОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БЕЛЫХ КРЫС**

**Абраров Р.А., Багданурова А.Р., Князева О.А.**

ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России, Уфа, Россия

*ruslan908@rambler.ru*

Оксид азота (NO) - одна из ключевых сигнальных молекул, обладающая широким спектром биологического действия. Чаще всего его рассматривают как один из мессенджеров внутри и межклеточной сигнализации центральной и периферической нервных систем. Синтез NO фагоцитами, связанный с его микробицидным и противоопухолевым действием, происходит в результате окисления гуанидиновой группы L-аргинина при участии фермента NO-синтазы. Наряду с цитокинами и другими тканевыми гормонами NO влияет на эффекторные системы, контролирующие пролиферацию, апоптоз и дифференцировку клеток, а также на их устойчивость к стрессовым воздействиям.

Влияние температурных стрессов различной направленности, длительности и интенсивности на биохимические процессы, протекающие в нейтрофилах периферической крови, изучено недостаточно. Поэтому цель данного исследования заключалась в оценке влияния кратковременного холодового стресса на уровень оксида азота в супернатантах интактных нейтрофилов белых крыс.

Исследование выполнено на 50 здоровых половозрелых самцах белых крыс массой от 260 до 315 г. 25 крыс основной группы однократно подвергались холодовому воздействию путём помещения в холодильную камеру при температуре +4°C на 15 минут. 25 крыс составили контрольную группу. Уровень NO в супернатантах интактных нейтрофилов определяли по методике Долгушина И.И. на 1-е, 2-е и 3-и сутки после воздействия холода. Статистическую обработку проводили на программе Statistica 10.0.

В результате проведенных экспериментов было показано, что на 1-е сутки после 15-минутного холодового воздействия уровень NO в супернатантах интактных нейтрофилов составлял  $26,1 \pm 2,7$  мкмоль/л, на 2-е сутки –  $20,2 \pm 2,1$  мкмоль/л, на 3-и –  $19,8 \pm 2,3$  мкмоль/л, т.е. наблюдалось его снижение по сравнению с первыми сутками на 22,6% и 24,1% соответственно ( $p < 0,05$ ). В контрольной группе данный показатель составил на 1-е сутки  $19,2 \pm 1,4$  мкмоль/л, на 2-е сутки –  $19,6 \pm 1,3$  мкмоль/л, на 3-и –  $18,9 \pm 1,6$  мкмоль/л. Т.е. после холодового стресса уровень NO в первые сутки становился выше, чем в контрольной группе на 35,9% ( $p < 0,05$ ), что свидетельствовало о стимулирующем влиянии 15-минутного холодового воздействия на уровень NO.

Таким образом, показано стимулирующее влияние 15-минутного холодового стресса на продукцию NO в супернатантах интактных нейтрофилов периферической крови белых крыс, сохраняющееся на протяжении 24 часов.

### **ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ СОЛЮБИЛИЗАЦИИ МЕМБРАНОСВЯЗАННОЙ МЕТАНГИДРОКСИЛАЗЫ ИЗ METHYLOCOCCUS CAPSULATUS (ШТАММ М)**

**Авдеева Л.В., Гвоздев Р.И.**

ФГБУН Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка, Россия

*tuman@cat.icp.ac.ru*

Ключевым ферментом метанотрофов является метанмонооксигеназа (ММО), которая катализирует окисление метана до метанола. Все метанотрофы содержат мембраносвязанную метанмонооксигеназу, которая представляет собой мультибелковый комплекс: мембраносвязанная метангидроксилаза (мМГ), NADH-оксидоредуктаза и ряд переносчиков электронов (возможно цитохромы и др.).

Большинство мембранных ферментов до сих пор остаются мало изученными, т.к. условия выделения и очистки нативной формы фермента, которая обладает активностью, являются строго индивидуальными для каждого фермента. Таким образом, ключевым моментом выделения мембранных ферментов является подбор детергента и условий сольюбилизации. Для работы с мМГ в литературе был подобран неионный детергент додецил- $\beta$ -D-мальтозид. Было показано, что необходимое соотношение мг детергента/мг белка составляет 1,6. Для оптимизации процедуры сольюбилизации мМГ из *Methylococcus capsulatus* (штамм М) было проверено различное соотношение детергент/белок. Сольюбилизацию проводили в течение часа при 4°C. Отделение несольюбилизированных везикул и обломков мембран проводили ультрацентрифугированием при 140000 g 1 час. Активность мМГ определяли методом газовой хроматографии по скорости окисления пропилена до окиси пропилена. Установлено, что оптимальное соотношение детергент/белок = 1/1,2.

Нами было установлено, что в ходе процедур очистки происходит значительная потеря ионов железа и меди. Этот процесс усиливается с увеличением числа стадий очистки и, возможно, может быть существенно снижен добавлением ионов меди и железа в среды для выделения. Установлено, что сольюбилизация мМГ в присутствии разных концентраций ионов железа позволяет получать сольюбилизированные препараты мМГ с активностью до 45% выше по сравнению с препаратами мМГ, полученными без добавления железа. Введение ионов меди в среды выделения влияет незначительно, но тоже позволяет получать более активные препараты мМГ. По-видимому, медь прочно связана с ферментом и в ходе очистки незначительно теряется.

Процедуру обессоливания, которую многие исследователи выполняли с помощью гель – фильтрации или диализа, заменили на центрифугирование на ячейках Centricon 50000 (Millepore). Это также позволило получить активность сольюбилизированной фракции на 20% выше по сравнению с контролем.

Таким образом, при сольюбилизации мМГ количество стадий очистки должно быть снижено до минимума и очистку для сохранения нативности каталитически активного центра мМГ нужно проводить в присутствии ионов  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{3+}$  (50 мкМ) в средах выделения.

### **ВЛИЯНИЕ НЕДОСТАТКА ТИАМИНА НА МЕТАБОЛИЗМ ПИРОВИНОГРАДНОЙ КИСЛОТЫ У ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ КОРОВ**

**Агафонова А.В.**

ФГБНУ ВНИИ физиологии, биохимии и питания животных, Боровск, Россия

*serna-sun@mail.ru*

Вопрос о витаминном обеспечении организма жвачных животных, в связи с особенностями строения их пищеварительной системы, глубоко не изучался. Микрофлора рубца синтезирует все витамины группы В, которые в дальнейшем всасываются в кровь и используются организмом коровы для поддержания гомеостаза внутренней среды. С повышением молочной продуктивности коров человеком, возросли требования к балансированию рационов не только по питательным, но и по биологически активным веществам, в том числе по витаминам. Тиамин (витамин  $\text{B}_1$ ), является кофактором мультиэнзимного пируватдегидрогеназного комплекса. Пируватдегидрогеназа (ПДГ) и пируваткарбоксилаза (ПК) ответственны за направленность двух альтернативных путей метаболизации пировиноградной кислоты (с образованием ацетил-КоА и оксалоацетата). При нарушении работы ПДГ может наблюдаться накопление пирувата и продуктов его полураспада.

Цель работы - изучение особенностей метаболизма пировиноградной кислоты у коров, в связи с обеспеченностью тиамином в период раздоя (пик продуктивности) в зависимости от уровня продуктивности. Эксперимент проведен на 9-ти коровах с диапазоном молочной продуктивности от 25 до 44



кг/сут. Витамин В<sub>1</sub>, пируват определяли в молоке, плазме крови и моче, в плазме крови определяли – активность ПК и в присутствии НАД лактагдгидрогеназы (ЛДГ). В моче определяли концентрацию ацетальдегида, рассматривая его как продукт недоокисления пирувата.

С повышением удоя наблюдалось увеличение тотального выделения В<sub>1</sub> с молоком. Параллельно с этим происходило уменьшение выделения его с мочой ( $r=-0,709$ ,  $p=0,033$ ). Для данного вида животных наблюдалась низкая активность ПК и ЛДГ ( $25,85 \pm 7,24$  Е/л и  $293,02 \pm 43,35$  Е/л), что дает основание предположить о снижении глюконеогенеза из пирувата и уменьшении его вклада в виде оксалоацетата в поддержание реакций цикла Кребса. При этом с повышением удоя происходило увеличение выделения пирувата с мочой ( $r=,745$ ,  $p=0,022$ ). Данный факт косвенно свидетельствует о дефиците витамина В<sub>1</sub>, что способствовало снижению окисления пирувата пируватдегидрогеназой, вследствие чего он, как токсическое вещество, стал интенсивно выделяться почками. Однако, высокая концентрация ацетальдегида в моче, отсутствие корреляции между ним и тиамином и наличие отрицательной корреляционной связи с концентрацией пирувата в плазме крови ( $r=-0,719$ ,  $p=0,029$ ), косвенно свидетельствует о недостатке, в первую очередь, не тиамин, а рибофлавина – кофермента третьего фермента ПДГ комплекса.

### **ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ ЦИСПЛАТИНА НА АКТИВНОСТЬ ПОЛИ(АДФ-РИБОЗО)ПОЛИМЕРАЗЫ 1 В ЯДРАХ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ КРЫС**

**Асатрян А.Л., Арцруни И.Г., Матинян К.С., Геворкян Э.С.**  
Ереванский государственный университет, Ереван, Армения

*anushassatryan@gmail.com*

В настоящее время совместное применение лекарственных препаратов является общепринятой практикой. Использование фармакологических ингибиторов поли(АДФ-рибозо)полимеразы 1 (ПАРП 1) усиливает терапевтический эффект цисплатина при лечении онкологических заболеваний. Принимая во внимание, что действие лекарственных препаратов имеет выраженную возрастную зависимость, нами было исследовано действие конкурентного ингибитора ПАРП 1 бензамида и аллостерического ингибитора - АТФ на активность фермента в ядрах клеток печени крыс - самцов препубертантного (6 недель) и пубертантного (10 недель) возраста до и после введения животным цисплатина (48 ч, 10мг/1000г веса).

Показано, что в процессе роста животных исходная активность ПАРП 1 в клетках печени уменьшается на 60%. После введения цисплатина активность фермента в ядрах клеток печени 6-и недельных животных уменьшается в 3 раза, в то время как активность ПАРП 1 у 10-и недельных крыс увеличивается вдвое. Возрастная зависимость также была выявлена при изучении действия ингибиторов ПАРП 1. Показано, что эффективность конкурентного ингибитора бензамида выше у крыс старшей возрастной группы как в контроле, так и после действия цисплатина. Эффективность физиологических концентраций АТФ значительно ниже у 10-и недельных крыс. Введение животным цисплатина резко увеличивает эффективность АТФ у 10-и недельных крыс, не влияя на эффективность ингибитора в ядрах 6-и недельных крыс.

Полученные нами данные указывают на необходимость учета возрастных особенностей совместного действия противоопухолевых препаратов, применяемых в клинике.

### **N-АЦИЛДОФАМИНЫ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ПРЕПАРАТЫ**

**Ашба А.М.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН ИБХ РАН им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*alyafonya@mail.ru*

N-ацилдофамины представляют собой семейство эндогенных амидных производных жирных кислот, являющихся важными биорегуляторами и обладающих широким спектром действия, участвуя во многих физиологических и биохимических процессах. Ацилдофамины оказывают цитотоксическое действие на трансформированные клетки, однако механизм его реализации неизвестен. Целью данного исследования было определение влияния структуры жирнокислотной и дофаминовой частей молекулы ацилдофаминов на процессы клеточной гибели в клетках феохромоцитомы РС12, определение возможных путей реализации этого эффекта и выявление возможности использовать N-ацилдофамины как новые цитотоксические и цитостатические противоопухолевые препараты.

Клетки растили в стандартной среде, рекомендованной АТСС. Использовали соединения, синтезированные из соответствующих жирных кислот и дофамина. Оценку пролиферации и гибели клеток проводили с помощью МТТ- и LDH-тестов, для выяснения механизма цитотоксического действия ацилдофаминов проводили ингибиторный анализ с использованием ингибиторов каннабиноидных рецепторов 1 и 2 типа, ванилоидного, дофаминового рецепторов, PPAR-гамма, катехоламиновых

транспортеров и регуляторов окислительного метаболизма, а для выяснения механизма клеточной гибели использовали флуоресцентный краситель AroTrase.

Определены полулетальные дозы используемых веществ в двух видах тестов в диапазоне концентраций от 4 до 65 мкМ. Для производных N-ацилдофаминов значения полулетальных доз, полученные в LDH-тесте превышали значения, полученные в МТТ-тесте, так как данные вещества оказывают двухфазный эффект на клетки: в более низких концентрациях происходит остановка пролиферации (в особых случаях индукция дифференцировки), а повышение концентрации ацилдофаминов приводит к гибели клеток. Из используемых ингибиторов защитное действие оказывали аскорбат и N-ацетил-L-цистеин. При использовании флуоресцентного красителя AroTrase и сравнении с индуктором апоптоза (стауреспорином) было выявлено, что клетки частично гибнут по пути апоптоза.

Для проявления N-ацилдофаминами цитотоксического действия на клетки РС12 критическим элементом молекулы является незамещенная катехольная группа, а структура остатка жирной кислоты оказывает незначительное влияние. Одним из механизмов цитотоксического действия ацилдофаминов является их вмешательство в системы окислительного метаболизма клетки. В случае использования данных соединений в качестве потенциальных противоопухолевых препаратов необходимо повысить концентрации веществ, для того чтобы они оказывали не только антрипролиферативный эффект, но и цитотоксический.

### **ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ АГОНИСТОВ РЕЦЕПТОРА ЛЮТЕИНИЗИРУЮЩЕГО ГОРМОНА *IN VITRO* И *IN VIVO***

**Бахтюков А.А., Деркач К.В., Шпаков А.О.**

ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,  
Санкт-Петербург, Россия

*alex\_shpakov@list.ru*

В последние годы ведется разработка низкомолекулярных агонистов рецептора лютеинизирующего гормона (ЛГ), которые не вызывают десенситизацию рецепторов ЛГ и сохраняют биологическую активность при парентеральном и пероральном способах введения. Наибольшие надежды связывают с тиенопиримидиновыми производными, которые являются структурными гомологами соединения Org 43553. Цель работы состояла в синтезе новых тиенопиримидиновых производных TR03 и TR04, в изучении регуляции ими активности фермента аденилатциклазы (АЦ) в семенниках крыс, а также в оценке их способности стимулировать синтез тестостерона (Т) при различных способах введения самцам крыс. Соединения TR03 и TR04 в концентрациях  $10^{-6}$ – $10^{-3}$  М повышали базальную активность аденилатциклазы (АЦ) в тестикулярных мембранах крыс со значениями  $EC_{50}$  390 и 759 нМ. В концентрации  $10^{-4}$  М стимулирующие АЦ эффекты TR03 и TR04 составили 213 и 122%, что свидетельствует о более высокой активности TR03 в условиях *in vitro*. Повышение уровня Т через 3 ч после однократного в/б введения TR03 в дозе 25 мг/кг на 60% превышало таковое для TR04. Соединение TR03 также повышало уровень Т при пероральном введении (50 мг/кг), в то время как соединение TR04 в этом случае было мало активным. Таким образом, 5-амино-N-трет-бутил-2-(метилсульфанил)-4-(3-(никотинамидо)фенил) тиено[2,3-d]пиримидин-6-карбоксамид (TR03) может быть использован для разработки препаратов, стимулирующих стероидогенез в клетках Лейдига.

Работа поддержана РФФИ (№ 16-04-00126).

### **АКТИВНОСТЬ ДЕТОКСИКАЦИОННОЙ СИСТЕМЫ ПЕЧЕНИ ПРИ БИСФЕНОЛ-ИНДУЦИРУЕМОЙ ГЕПАТОТОКСИЧНОСТИ В УСЛОВИЯХ РАЗЛИЧНОЙ ОБЕСПЕЧЕННОСТИ РЕТИНОИДАМИ**

**Борщовецкая В.Л., Петрив П.Н., Бойчук О.М., Шмараков И.А.**

Черновицкий национальный университет имени Юрия Федьковича, Черновцы, Украина

*vira.borschovetska@gmail.com*

Детоксикационная система печени, занимающая центральное место в метаболизме ксенобиотиков, представлена 3 фазами ферментативных превращений, заключающихся в окислении либо гидролизе (I фаза), конъюгации (II фаза) и экскреции конечных гидрофильных продуктов (III фаза). Актуальным выступает поиск специфических регуляторов данной системы, среди которых особое внимание привлекают ретиноиды – витамин А и его метаболиты, регулирующие транскрипцию генов ключевых ферментов клеточной детоксикации.

Цель работы – оценка активностей компонентов I и II фаз детоксикации в печени при введении бисфенола в условиях различной обеспеченности ретиноидами. Для создания состояний различной обеспеченности витамином А использовали трансгенных мышей, лишенных ретинил эфиров печени в результате нокаута гена лецитин:ретинолацилтрансферазы (*Lrat<sup>-/-</sup>*), а для состояния избытка витамина А дополнительно вводили животным *per os* 3000 МЕ ретинил ацетата (Rac). Введение ксенобиотика

бисфенола проводили *per os* ежедневно в течение 3 суток в дозе 50 мг/кг, соответствующей *LOAEL* (англ. *Lowest Observable Adverse Effect Level*).

Результаты исследований показали, что введение ВРА животным, лишенным эндогенно-депонированных ретиноидов на 72 час эксперимента не приводило к активации детоксикационной системы, в отличие от животных с нормальным обеспечением ретиноидами (дикий тип, ДТ), в которых фиксировалась индукция маркерных активностей цитохрома P450 (CYP) и флавиносодержащих монооксигеназ (FMO). В то же время у животных-нокаутов дополнительное введение 3000 ME Rac приводило к активации компонентов I фазы детоксикационной системы, и еще большему увеличению маркерных активностей CYP и FMO у животных ДТ. Усиленная работа компонентов I фазы детоксикации у животных ДТ сопровождалась увеличением активности компонентов II фазы детоксикационной системы. В отличие от этого, у животных-нокаутов, UDP-глюкуронилтрансферазная активность (UGT) в микросомальной фракции печени и глутатионтрансферазная активность (GST) в микросомальной и цитозольной фракции печени статистически достоверно не отличались от показателей контрольной группы. Одновременно, дополнительное введение 3000 ME Rac у животных обоих генотипов сопровождалось активацией ферментативных активностей II фазы детоксикационной системы. Таким образом, обеспеченность организма эндогенно-депонированными и/или алиментарными ретиноидами, выступает фактором, способным модулировать активность детоксикационной системы печени, индуцированную введением бисфенола.

### БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СТАБИЛЬНОГО ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНОГО БЕЛКОВОГО КОМПЛЕКСА ПЛАЦЕНТЫ ЧЕЛОВЕКА

**Буркова Е.Е.**

ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

*jorochka24@mail.ru*

Многочисленные биологические функции плаценты осуществляются не просто набором индивидуальных белков, а различными олигомерными структурами и комплексами. При этом активности комплексов могут значительно отличаться от активностей индивидуальных белков. Идентификация и характеристика мультибелковых комплексов плаценты позволит получить детальную информацию о функциях плаценты.

Целью настоящей работы было исследование состава и биологических свойств высокомолекулярного белкового комплекса плаценты человека.

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

Показано, что высокомолекулярный белковый комплекс обладает ДНКазной и каталазной активностями. Кроме того, исследование цитотоксического эффекта на линиях раковых клеток человека показало, что данный комплекс проявляет высокую цитотоксичность.

### ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЛИПИДНОГО ПРОФИЛЯ У БОЛЬНЫХ ГЛПС

**Валиуллина А.Х.<sup>1</sup>, Мартынова Е.В.<sup>1</sup>, Хайбуллина С.Ф.<sup>1,2</sup>, Ризванов А.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия; <sup>2</sup>Невадский центр биомедицинских исследований, Рено, США

*aigul1692@mail.ru*

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) - острая вирусная природно-очаговая зоонозная инфекция. Возбудителем заболевания является Пуумала вирус принадлежащий роду *Hantavirus*, семейству *Bunyaviridae*. Республика Татарстан относится к зоонозным очагам ГЛПС, где ежегодно регистрируется около 200 случаев заболевания.

Исследовались сыворотки больных с признаками ГЛПС. Количество больных составило 240 человек. Здоровый контроль составил 55 человек без признаков ГЛПС и поражений почек. Серологическая диагностика ГЛПС проводилась иммуноферментным методом (ВектоХанта-IgG, ВектоХанта-IgM, Вектор-Бест, Новосибирск).

Количественный анализ липидного профиля в сыворотках здорового контроля и больных ГЛПС определяли наборами Новохол-Ново, Триглицериды-Ново, ЛВП-Холестерин-Ново-А (Вектор-бест, Новосибирск).

Используя систему мультиплексного анализа на платформе Luminex 2000 (Bio-Rad) и набора 27-plex проводили количественную оценку цитокинов в сыворотке крови больных ГЛПС.

Серологическая диагностика выявила наличие Ig G и IgM антител к вирусу Пуумала.

В группе больных в период разгара заболевания было выявлено снижение уровня липопротеидов низкой плотности по сравнению с контрольной группой. Данный коэффициент приходил в норму к моменту выписки. Также, увеличение коэффициента атерогенности было выявлено у больных на момент поступления.

Снижение сывороточного уровня IL-2 и IL-12 и увеличение IL-10 и CCL было обнаружено у больных ГЛПС. Уровень IL-1 $\beta$  снижался, в то время как уровень CXCL-8, увеличился по сравнению со здоровым контролем. Эти данные позволяют предположить, что при ГЛПС, происходят существенные изменения в сыворотке крови уровней ряда цитокинов и хемокинов, которые участвуют в регуляции воспаления и активации иммунных реакций.

В настоящее время патогенез ГЛПС остается мало изученным. В особенности, существуют значительные пробелы в нашем понимании молекулярных механизмов ГЛПС, что является основной причиной отсутствия патогномичной терапии и методов предупреждения заболевания. Поэтому существует необходимость всесторонних исследований патогенеза ГЛПС с целью выявления и использования маркеров диагностики, лечения и предупреждения болезни.

### **ОСОБЕННОСТИ ЭНЕРГОЗАВИСИМОГО ТРАНСПОРТА ИОНОВ КАЛИЯ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ И СЕРДЦА ГОЛУБЕЙ И ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС**

**Ведерников А.А., Дубинин М.В., Хорошавина Е.И., Смирнова А.Е., Рыбакова А.Н., Самарцев В.Н.**  
ФГБОУ ВО Марийский государственный университет, Йошкар-Ола, Россия

*aa.vedernikov90@gmail.com*

Хорошо известно, что K<sup>+</sup> является осмотически активным и основным катионом цитозоля и митохондриального матрикса. Следовательно, изменение проводимости внутренней мембраны митохондрий для K<sup>+</sup> может существенно влиять на свойства и функции этих органелл. Одним из наиболее изученных механизмов транспорта этого иона является K<sup>+</sup>-канал, обладающий чувствительностью к АТР. При этом исследования такого АТР-чувствительного K<sup>+</sup> канала выполнены в основном на митохондриях лабораторных крыс. Имеются лишь фрагментарные данные, свидетельствующие о транспорте K<sup>+</sup> в митохондриях других видов животных. В настоящей работе нами изучены особенности энергозависимого транспорта ионов калия (K<sup>+</sup>-унипорт) в митохондриях печени и сердца голубей.

Показано, что митохондрии печени крыс и голубей не отличаются как по показателям дыхания в состояниях 2, 3 и 4, так и по показателям степени сопряжения дыхания с окислительным синтезом АТР (RC2, RC4, ADP/O). Установлено, что внесение сукцината к митохондриям печени голубей, инкубируемых в KCl-среде, индуцирует АТР-зависимое набухание органелл, обусловленное энергозависимым K<sup>+</sup>-унипортом в матрикс митохондрий. При этом активность K<sup>+</sup>-унипорта в присутствии сукцината в митохондриях печени голубей существенно ниже, чем в митохондриях печени крыс. Аналогичная закономерность установлена и для митохондрий сердца крыс и голубей. Кроме того установлено, что в митохондриях печени голубей, окислительный стресс, индуцированный *трет*-бутилгидропероксидом (ТБГ) не влияет на активность K<sup>+</sup>-унипорта как в присутствии так и отсутствии антиоксиданта тиомочевины. Таким образом, в настоящей работе показано, что митохондрии печени и сердца голубей, в отличие от митохондрий печени и сердца крыс, характеризуются более низкой активностью энергозависимого транспорта ионов калия в матрикс.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты № 14-04-00688 и №16-34-00435 мол\_а) и Министерства образования и науки РФ (в рамках государственного задания № 1365).

### **ДОЛГОСРОЧНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ГИППОКАМПА И НЕОКОРТЕКСА КРЫС В МОДЕЛЯХ ПОВРЕЖДАЮЩЕЙ И АДАПТИВНОЙ ГИПОКСИИ**

**Ветровой О.В.<sup>1,2</sup>, Сариева К.В.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*vov210292@yandex.ru*

Настоящее исследование направлено на изучение влияния тяжелой гипобарической гипоксии (ТГ) и тяжелой гипоксии в сочетании с последующим гипоксическим посткондиционированием (ПостК) на динамику маркеров перекисного окисления липидов в гиппокампе и неокортексе крыс в течение четырех дней после ТГ. Для оценки степени постгипоксического повреждения проведен анализ фрагментации ДНК. ТГ индуцирует интенсивную фрагментацию ДНК в гиппокампе, но не в сенсомоторной коре. В то же время в гиппокампе животных, переживших один, два и три сеанса гипоксического ПостК, фрагментация ДНК не

выявлена, что указывает на наличие нейропротективного эффекта гипоксического ПостК. ТГ вызывает устойчивое снижение ТБК-активных продуктов в гиппокампе, но не в неокортексе. Количество Шиффовых оснований после ТГ в гиппокампе существенно не меняется, но уменьшается в неокортексе. Посткондиционирование нормализует гиппокампальный уровень ТБК-активных продуктов и вызывает уменьшение количества Шиффовых оснований. Полученные данные показывают, что прямое нейропротекторное действие гипоксического ПостК в гиппокампе, о котором можно судить по предотвращению фрагментации ДНК, сопровождается нормализацией интенсивности процессов ПОЛ.

Работа поддержана грантом РФФИ (№ 16-34-00027).

### РОЛЬ ГЛЮКОКОРТИКОИДНОГО ОТВЕТА МАТЕРИ В ПАТОГЕНЕЗЕ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ

**Ветровой О.В.<sup>1,2</sup>, Сариева К.В.<sup>1,2</sup>, Киселева Л.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*vov210292@yandex.ru*

Пренатальный период является самым уязвимым периодом в развитии организма. Поражение головного мозга вследствие перенесенной пренатальной гипоксии является одной из основных причин смерти и тяжелых неврологических нарушений у новорожденных детей, а также на более поздних сроках их развития. Среди эффекторов патологического воздействия на плод особое место занимает глюкокортикоидный ответ матери на гипоксический стресс. В настоящей работе представлены результаты сравнения последствий воздействия дексаметазона и гипобарической гипоксии в начале и конце третьей недели пренатального онтогенеза на соматическое и сенсомоторное развитие крыс раннем постнатальном онтогенезе, на двигательное, эмоциональное, исследовательское поведение и способность к обучению взрослых крыс. С применением биохимических, морфологических и иммуноцитохимических методов проведен анализ структурно-функциональных изменений, развивающихся в мозге крыс после предъявления вредоносных воздействий на 14–16-е и 17–19-е сутки пренатального периода развития. Исследовано влияние пренатальной гипоксии и дексаметазона на интенсивность апоптоза клеток мозга, на стресс-реактивность ГАС и на активность кальциевой и фосфоинозитидной внутриклеточных сигнальных систем. Была проведена также оценка влияния указанных воздействия на уровень экспрессии инозитолтрифосфатных рецепторов, глюко- и минералокортикоидных рецепторов. Сходные последствия воздействия гипоксии и введения дексаметазона в пренатальном периоде проявляются в существенной модификации функциональной активности сигнальных систем, обнаруживаются уже на самых ранних стадиях постнатального развития и сохраняются во взрослом состоянии.

Работа поддержана грантом РФФИ (№ 13-04-00812).

### ИЗУЧЕНИЕ РЕГУЛЯТОРНЫХ СВОЙСТВ ИЗОФОРМ МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ИЗ МЕЗОФИЛЛА ЛИСТЬЕВ КУКУРУЗЫ

**Гатауллина М.О., Лященко М.С., Степанова А.В.**

ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

*marina.gataullina@gmail.com*

Малатдегидрогеназа (1.1.1.37) - фермент, играющий важную роль в метаболизме всех живых существ. МДГ катализирует взаимопревращение оксалоацетата и малата и связана с окислением и восстановлением коферментов  $NAD^+$  и  $NADH$ .

Целью нашей работы было исследование регуляции изоформ малатдегидрогеназы из мезофилла листьев кукурузы катионами двухвалентных металлов и интермедиатами окислительного метаболизма.

Объектом исследования являлись 10-ти дневные проростки кукурузы (*Zea mays*), выращенные гидропонным способом при температуре 25°C.

В ходе четырехстадийной очистки МДГ из мезофилла были получены электрофоретически гомогенные препараты двух изоформ фермента с  $R_f = 0,51$  и  $R_f = 0,6$  соответственно.

На высокоочищенных препаратах были изучены регуляторные свойства изоферментов: влияние ионов  $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$  и интермедиатов на их активность. Показано, что присутствие ионов  $Mg^{2+}$  в концентрации от 0,02 до 10 мМ (в первом случае) и до 8 мМ (во втором) активирует реакцию, а повышение концентрации ионов до 40 мМ, напротив, ингибирует её. Ионы кальция и бария оказывают неодинаковое регуляторное действие на изоформы МДГ. Установлено, что изоформа 2 ингибируется данными ионами, а изоформа 1 активируется катионами металлов в концентрации 0,02-1 мМ ( $Ca^{2+}$ ) и 0,02-0,08 мМ ( $Ba^{2+}$ ). Следует отметить, что дальнейшее увеличение концентрации данных ионов ингибирует изоформу 1.  $Mn^{2+}$  является ингибитором обеих изучаемых изоформ.

Активирование и ингибирование магнием, кальцием и марганцем обеих изоформ идет по конкурентному механизму; активирование и ингибирование барием для первой изоформы идет по конкурентному, а для второй - по неконкурентному механизму.

Присутствие таких интермедиатов как сукцинат и цитрат в концентрации от 0,001 до 10 мМ оказывают ингибирующее действие на активность изоформы 2 по конкурентному типу, в то время как изоцитрат влияния на эту изоформу не оказывает. Данный факт является существенным отличием от регулирования активности изоформы 1, так как на нее не выявлено влияния ни одного из изученных интермедиатов.

Таким образом, установлено, что изоформы малатдегидрогеназы, выделенные из мезофилла листьев кукурузы, характеризуются разным типом регулирования ионами металлов и клеточными интермедиатами.

### **ИЗМЕНЕНИЕ АРГИНАЗНОЙ АКТИВНОСТИ И КОЛИЧЕСТВА ПОЛИАМИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЯХ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

**Геворгян Э.Р., Автандилян Н.В., Карапетян С.А.**

Ереванский государственный университет, Ереван, Армения

*hermine.gevorgyan1@ysumail.am*

В последние годы злокачественные новообразования стали частой причиной смертности, при этом у мужчин чаще встречается рак предстательной железы. Наша группа поставила перед собой задачу проследить за активностью аргиназы и за количеством полиаминов в сыворотке крови больных раком простаты, так как мы предполагаем что повышение уровня аргиназы можно использовать как тест для диагностики и лечения рака. Наша главная цель не только открытие нового опухолевого маркера, но также открытие новых механизмов взаимодействия аргиназа-полиамин в здоровых и раковых клетках, которые позволят вмешаться в различные метаболические процессы раковых клеток.

Аргиназа (ЕС 3.5.3.1) катализирует гидролиз L-аргинина в мочевины и в L-орнитин, который является предшественником полиаминов. Полиамины участвуют в регуляции клеточного роста и апоптоза.

В течение нашего исследования мы сравнили аргиназную активность и определили количество полиаминов в плазме 7 здоровых мужчин (стандарт), с аргиназной активностью в плазме 18 пациентов больных раком предстательной железы в разных стадиях, образцы которого нам предоставил Национальный онкологический центр имени В.А. Фанарджяна (из которых у 6 пациентов I стадия ( $62 \pm 7$ ,  $T_{1a}N_0M_0$ ), у 8 - II ( $56 \pm 12$ ,  $T_{1-2}N_0M_0$ ), у 4 - III ( $63 \pm 11$ ,  $T_3N_0M_0$ )).

За аргиназной активностью мы следили при pH 9,5 в 0,2 М глициновом буфере, добавляя в качестве субстрата L-аргинин и в качестве активатора фермента  $MnCl_2$ . Реакционную смесь инкубировали в течение 1 часа при 37°C. Затем реакция была остановлена 20%-ной трихлоруксусной кислотой и после избавления от осадка было определено количество образовавшейся мочевины. Аргиназную активность мы оценили спектрофотометрическим методом, а за количеством полиаминов проследили с помощью тонкослойной хроматографии.

Наши исследования показали, что у мужчин с раком простаты I стадии активность аргиназы в сыворотке крови была увеличена на 68,8%, в группе II стадии на 236,1% и в группе III стадии на 448,4% по сравнению с группой здоровых мужчин, а увеличение общего количества полиаминов по сравнению со стандартом составляло 54,3%, 67,3% и 91,4% соответственно в I, II и III стадиях. Увеличение количества полиаминов совпадает с увеличением активности аргиназы, что подтверждает взаимосвязь между ними во время болезни. Отсюда мы сделали вывод, что ингибирование аргиназы может иметь некоторые защитные эффекты на различных стадиях развития рака. Мы предполагаем что, наши результаты могут оказаться полезными в создании новых лекарственных препаратов.

### **ВЛИЯНИЕ $\omega$ -3 ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ НА ПАРАМЕТРЫ РОСТА КАРЦИНОМЫ ГЕРЕНА В ОРГАНИЗМЕ И ЛИПИДНЫЙ СПЕКТР КРОВИ КРЫС-ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЕЙ**

**Григоряк М.Д., Жмурская О.А., Кеца О.В.**

Черновицкий национальный университет имени Юрия Федьковича, Черновцы, Украина

*ketsa80@mail.ru*

Омега-3 ( $\omega$ -3) полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) являются необходимыми факторами для нормального функционирования клеток, поскольку участвуют в регуляции пролиферации и апоптоза. В отношении злокачественно трансформированных клеток показана противоопухолевая активность  $\omega$ -3 ПНЖК – изменения в свойствах опухолевых клеток (пролиферация, метастазирование, апоптоз). Использование диет с высоким уровнем содержания  $\omega$ -3 ПНЖК представляется как противоопухолевая стратегия профилактики и коррекции онкозаболеваний.

Цель работы – оценить влияние использования  $\omega$ -3 ПНЖК на параметры роста карциномы Герена в организме и липидный спектр крови крыс-опухоленосителей.

С учетом неоднозначности фактов об антипролиферативной и противоопухолевой активности  $\omega$ -3 ПНЖК было исследовано темпы роста карциномы Герена на разных стадиях онкогенеза. Установлено, что предварительное и посттрансплантационное введение в организм  $\omega$ -3 ПНЖК способствует торможению роста карциномы Герена на 32%, 34% и 23% в латентную (7-е сутки), логарифмическую (14-е сутки) и стационарную (21-е сутки) фазы онкогенеза соответственно в сравнении с опухоленосителями не получавшими  $\omega$ -3 ПНЖК. Наряду с торможением темпов роста опухоли, у животных получавших  $\omega$ -3 ПНЖК наблюдается снижение величины и коэффициента массы карциномы Герена, которое наиболее выражено в логарифмическую фазу онкогенеза. Установленный факт является свидетельством того, что снижение параметров карциномы Герена происходит собственно за счет торможения роста неоплазмы, а не является артефактом изменений массы животных в процессе эксперимента.

Известно, что развитие опухоли в организм может способствовать изменениям липидного спектра крови. Для количественной оценки состояния дислипидемии крыс-опухоленосителей нами определен уровень липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) и липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) в сыворотке крови. Установлено, что в логарифмическую фазу онкогенеза в сыворотке крови опухоленосителей повышается уровень ЛПНП и снижается уровень ЛПВП, что может быть связано с нарушениями липидного обмена печени крыс. Введение  $\omega$ -3 ПНЖК приводит к снижению уровня ЛПНП и повышению уровня ЛПВП в сыворотке крови.

Таким образом, в условиях введения  $\omega$ -3 ПНЖК торможение темпов роста и снижение коэффициента массы опухоли наиболее выражено в логарифмическую фазу онкогенеза. Показано, что  $\omega$ -3 ПНЖК не только способствуют торможению роста опухоли в организме, но и нормализуют дислипидемию, наблюдающуюся в сыворотке крови крыс-опухоленосителей.

### **ПРОДУКТЫ $\omega$ -ОКИСЛЕНИЯ ЖИРНЫХ КИСЛОТ КАК ИНДУКТОРЫ СВОБОДНОГО ОКИСЛЕНИЯ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ**

**Дубинин М.В., Танерова Е.А., Самарцев В.Н.**  
ФГБОУ ВО Марийский государственный университет, Йошкар-Ола, Россия

*Dubin1989@gmail.com*

Одним из путей метаболизма длинноцепочечных свободных монокарбоновых жирных кислот в организме млекопитающих и человека является их  $\omega$ -окисление, приводящее к образованию соответствующих  $\omega$ -гидроксимонокарбоновых и  $\alpha,\omega$ -дикарбоновых кислот.  $\omega$ -Окисление значительно усиливается при увеличении содержания свободных монокарбоновых жирных кислот, при различных нарушениях их метаболизма, а также под влиянием ксенобиотиков. В настоящей работе показано, что в отсутствие  $\text{Ca}^{2+}$  пальмитиновая кислота и продукты ее  $\omega$ -окисления, 16-гидроксипальмитиновая (ГПК) и  $\alpha,\omega$ -гексадекандикарбоновая (ГДК) кислоты, способны стимулировать дыхание митохондрий печени. Показано, что ГПК способна стимулировать дыхание митохондрий печени также эффективно, как и ее предшественник пальмитиновая кислота. Выяснено, что в отличие от пальмитиновой кислоты дыхание митохондрий, стимулированное ГПК, не ингибируется карбоксиатрактантом, глутаматом и циклоспорином А (ЦсА). Сделан вывод, что разобшающее действие ГПК в митохондриях печени осуществляется по другому механизму, чем действие пальмитиновой кислоты. Установлено, что ГДК в существенно уступает пальмитиновой кислоте и ГПК по способности стимулировать дыхание митохондрий печени. При этом стимулированное ГДК дыхание митохондрий также не ингибируется карбоксиатрактантом, глутаматом и ЦсА. В то же время ЦсА, будучи добавленным до ГДК, ингибировал дыхание митохондрий печени, стимулированное этой кислотой. Подобного эффекта не наблюдалось в случае ГПК. Следовательно, в случае ГДК имеет значение последовательность добавок этих гидрофобных агентов к митохондриям: вначале ГДК и затем ЦсА, или вначале ЦсА и затем ГДК.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (в рамках государственного задания № 1365) и Российского фонда фундаментальных исследований (гранты № 14-04-00688 и №16-34-00435 мол\_а).

### **ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ БИМЕТАЛЛИЧЕСКИХ НАНОЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ ЗОЛОТА И СЕРЕБРА**

**Жищинская Н.В., Борщовская В.Л., Шмарakov И.А.**  
Черновицкий национальный университет им. Юрия Федьковича, Черновцы, Украина

*nelya1994@ukr.net*

На сегодня значительный научный и технологический интерес представляют наночастицы (НЧ) на основе золота и серебра. Среди физических параметров НЧ, обеспечивающих их биологическую активность, основное внимание уделяется их размерам, форме, составу и заряду, в то время как соотношение компонентов и их топология зачастую остаются без внимания.

В работе протестировано противоопухолевую активность биметаллических НЧ на основе золота и серебра. Использовано НЧ с различной топологией металлов ядро/оболочка ( $Au+Ag$  mixture;  $Au_{core}Ag_{shell}$ ;  $Ag_{core}Au_{shell}$ ) и соотношением компонентов ( $AgAu$  1:3;  $AgAu$  1:1;  $AgAu$  3:1). Как модель роста опухоли использовали карциному Льюиса. Начиная с 5 суток после трансплантации  $2 \cdot 10^6$  клеток мышам линии C57BL/6J ежедневно интраперитонеально вводили НЧ в дозе 100 мкг/кг в течение 16 дней. На 21 сутки роста опухоли рассчитывали показатели торможения роста опухоли (ТРО), торможение роста метастаз (ТРМ) и индекс ингибирования метастазирования (ИИМ).

Результаты исследования показали, что наименьшей противоопухолевой активностью обладают НЧ с соотношением компонентов  $AgAu$  1:1, где наблюдаются отрицательные показатели ТРМ, в то время как процент ТРО и ИИМ составляют не более 19%. Увеличение доли  $Au$  в составе НЧ ( $AgAu$  1:3) незначительно повышает их противоопухолевую активность, при этом ТРО составляет 20%, ТРМ – 15%, а ИИМ = 30%. В случае увеличения концентрации  $Ag$  ( $AgAu$  3:1) показатель ИИМ является самым высоким и составляет 50%, а ТРМ составляет 31%. Однако такое соотношение компонентов НЧ оказывает отрицательный результат относительно ингибирования роста первичной опухоли (ТРО составляет -19%).

При различном топологическом расположении  $Ag$  и  $Au$  в НЧ высшей противоопухолевой активностью обладают НЧ  $Au+Ag$  mixture. При их введении ТРО составляет 35%, ТРМ = 23%, а ИИМ = 46%. При упорядоченном расположении  $Ag$  на поверхности НЧ ( $Au_{core}Ag_{shell}$ ) показатель ТРО значительно уменьшается, и составляет всего 8%, тогда как ТРМ = 25%, а ИИМ = 41%. Для НЧ типа  $Ag_{core}Au_{shell}$  показатель ТРМ составляет всего 4%, хотя наблюдается увеличение процента ТРО и ИИМ до 25% и 27% соответственно.

Таким образом, полученные результаты указывают, что определяющим для достижения противоопухолевого эффекта НЧ является их компонентный состав, а также топология атомов металлов в их составе. В нашем эксперименте наилучшими показателями противоопухолевой активности обладают НЧ с равномерным расположением компонентов и в одинаковых их количествах ( $Au+Ag$  mixture).

## ЗАВИСИМОСТЬ ТЕНЗИОМЕТРИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ МОЛОКА ОТ ПРОЦЕНТНОГО СОДЕРЖАНИЯ ЖИРА И БЕЛКА

Зарудная Е.Н., Зайцев С.Ю.

ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия

*e-n-zarudnaya@mail.ru*

Производство молока является одной из важных областей в сельском хозяйстве и имеет большое значение для экономики страны. Качество молока определяется его химическим составом, а также физико-химическими показателями.

Целью данного исследования было изучение влияния содержания жира и белка в пробах молока на значения его тензиометрических параметров.

Материалом служили пробы молока, полученные от 60 клинически здоровых коз альпийской породы 2-4 лактации, разной жирности: I группа - % жира от 3 до 4; II - % жира от 4 до 5; III группа - % жира от 5 до 8.

Забор молока производили во время утренней дойки. Для физико-биохимических исследований использовали цельное молоко. Тензиометрические параметры рассчитывали на основании измерений поверхностного натяжения (ПН) на тензиометре ВРА-1Р (Sinterface Technologies, ФРГ). Определяли ПН при разных временах «жизни» поверхности:  $t \rightarrow 0$  с (**пн0**),  $t=0,02$  с (**пн0,02**),  $t=1$  с (**пн1**),  $t \rightarrow \infty$  с (**пн $\infty$**  - равновесное ПН), а также коэффициенты наклона тензиограммы (**кн0** и **кн $\infty$** ). Измерение жира и белка в молоке проводили на анализаторе «Клевер-2М».

В результате исследований было выявлено, что с увеличением жирности молока у животных с I по III группу процентное содержание в нем белка плавно снижается ( $p \leq 0,01$ ) и в среднем составляет: 3,4%, 3,2% и 3,0%, соответственно. При анализе тензиометрических параметров в ряду **пн0**  $\rightarrow$  **пн $\infty$**  наблюдается достоверное снижение значений в среднем от 60,0 мН/м до 46,8 мН/м.

Повышение жирности молока от 3-4% до 4-5% ведет к снижению **пн0,02** ( $p \leq 0,05$ ), **пн1** ( $p \leq 0,05$ ), **пн $\infty$**  (с 48,4 до 45,8 мН/м) и **кн $\infty$**  (с 9,7 до 8,8 мН $\cdot$ м $^{-1}$ с $^{-1/2}$ ), значения же **кн0**, напротив, увеличиваются (с 4,3 до 7,8 мН $\cdot$ м $^{-1}$ с $^{1/2}$ ,  $p \leq 0,01$ ), что свидетельствует о более высокой суммарной объемной концентрации поверхностно-активных веществ, таких как белки, липиды и др.

В пробах молока жирностью 4-5% и 5-8% характерные отличия ( $p \leq 0,01$ ) наблюдаются в значениях **кн0** - повышение (до 9,4 мН $\cdot$ м $^{-1}$ с $^{1/2}$ ) и **кн $\infty$**  - снижение (до 5,9 мН $\cdot$ м $^{-1}$ с $^{-1/2}$ ) значений с увеличением жирности; значения **пн1** и **пн $\infty$**  в данных пробах достоверных различий не показали и в среднем составляют 52,0 мН/м (**пн1**) и 45,9 мН/м (**пн $\infty$** ). При проведении корреляционного анализа установлено, что % содержание жира в молоке оказывает большее влияние на **пн0,02** и **кн0**, а % содержание белка - на **пн $\infty$**  и **кн $\infty$** .



Проанализировав полученные результаты можно указать, что с увеличением жирности молока коз, сопровождающейся уменьшением % содержания общего белка, наблюдается прямое снижение ПН при разных временах «жизни» поверхности.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №14-16-00046).

### **СОДЕРЖАНИЕ ДИОКСИНОВ И ДИОКСИНОПОДОБНЫХ ВЕЩЕСТВ В ПЕЧЕНИ И МОЛОКЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

**Зарудная Е.Н., Прокушина К.С.**

ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени  
К.И. Скрябина, Москва, Россия

*raven-a@list.ru*

Диоксины - обширная группа полихлорированных полициклических соединений, к которым относятся дибензо-*p*-диоксины, дибензофураны и бифенилы. Диоксины являются кумулятивными ядами и входят в группу опасных ксенобиотиков, образующихся в качестве побочного продукта отдельных видов промышленности.

Материалом для исследований служили пробы печеночной ткани, полученные непосредственно после убоя от бычков массой около 500 кг, и пробы коровьего молока. В исследовании участвовали 40 клинически здоровых животных черно-пестрой породы, подобранных в группы по принципу аналогов (пол, возраст, вес, содержание, рацион), принадлежащих фермерским хозяйствам тверской области.

Данный материал был выбран для исследования как наиболее специфичный для определения наличия и показателя кумуляции диоксинов и их аналогов, т.к. будучи липофильными веществами диоксины интенсивно накапливаются в липидной фракции молока и печени. Кроме того, с данными продуктами исследуемые токсиканты легко передаются от животного к человеку.

Диоксины и диоксиноподобные вещества (ДПВ) определяли на базе ФГБУ ЦНМВЛ (отдел химических исследований) по методу DR CALUX<sup>®</sup>, позволяющему исследовать широчайший спектр матриц в сжатые сроки, с высокой производительностью, точностью и чувствительностью. Принцип метода DR CALUX<sup>®</sup> основан на использовании специализированных генно-модифицированных клеток опухоли печени крысы со встроенным геном светлячка. Диоксины связываются в клетке с цитоплазматическим арилгидрокарбонным рецептором, образовавшийся комплекс переносится в ядро и взаимодействует со специфической последовательностью ДНК. Это запускает процесс экспрессии генов фермента люциферазы. Затем клетки лизируют, освобождая тем самым люциферазу, и добавляют пигмент люциферин. Он инициирует свечение люциферазы, интенсивность которого пропорциональна содержанию диоксинов в исследуемой пробе.

В результате эксперимента было показано, что в исследованных пробах печени содержание диоксинов и ДПВ колеблется в пределах от 0,67 нг ТЭК ВОЗ/кг жира до 6,89 нг ТЭК ВОЗ/кг жира (при норме 10 нг ТЭК ВОЗ/кг жира), в исследуемых пробах молока - в пределах от 1,08 нг ТЭК ВОЗ/кг жира до 3,32 нг ТЭК ВОЗ/кг жира (при норме 5,50 нг ТЭК ВОЗ/кг жира). При этом содержание диоксинов и ДПВ в исследуемых пробах положительно коррелирует с их содержанием в образцах воды, используемой для питья животным данных фермерских хозяйств.

Во всех исследуемых пробах содержание диоксинов и ДПВ сопоставимо с нормативными, утверждёнными регламентом комиссии ЕС №1259/2011.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №14-16-00046).

### **ДИНАМИКА МЕТИЛИРОВАНИЯ ПРОМОТОРА ГЕНА SDH2-2 СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ЩИТКАХ ПРИ ПРОРАСТАНИИ СЕМЯН КУКУРУЗЫ**

**Зенищева М.А., Покусина Т.А., Селиванова Н.В., Федорин Д.Н., Епринцев А.Т.**

ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

*rybolov@mail.ru*

Метилирование генома один из механизмов эпигенетического контроля за такими процессами, как транскрипция и репликация. Избирательная регуляция метилирования ДНК может быть эффективным способом контроля за метаболическими процессами клетки. Наиболее часто метилирование связанос CpG-островками, обнаруживаемыми в 5'-регуляторных участках генов.

В адаптации к смене метаболизма при развитии растительного организма может играть сукцинатдегидрогеназа (СДГ), компоненты, которой участвуют в метаболических процессах, поставляя энергию и биосубстраты на стадии гетеротрофного типа питания. Полиморфизм генов комплекса СДГ

растений обуславливает необходимость скоординированной регуляции экспрессии генов отдельных субъединиц, в том числе и с помощью эпигенетических факторов.

В качестве объектов исследования использовали семена кукурузы (*Zea mays L.*, сорт Воронежская 76). Растения выращивали гидропонным методом при 25°C, 12-часовом световом дне с интенсивностью света 25 Вт/м<sup>2</sup>. Щитки для анализа отбирали через каждые 24 ч в течение десяти дней с начала эксперимента. Выделенную ДНК обрабатывали бисульфитом. Далее с этой модифицированной ДНК был осуществлен метил-специфичный ПЦР-анализ с праймерами для гена *sdh2-2* субъединицы В сукцинатдегидрогеназы.

Исследование нуклеотидного состава промотора гена *sdh2-2* сукцинатдегидрогеназы позволило выявить наличие CG-динуклеотидов в его составе. Установлена неоднородность их распределения по нуклеотидной последовательности промотора гена *sdh2-2*. Установлено, что начальный этап онтогенеза характеризуется низкой степенью метилирования соответствующего промотора. Степень метилирования промотора гена *sdh2-2* определяли у трех CG-динуклеотидов. В сухих семенах два исследуемых CG-динуклеотиды были неметилированы и один частично. Однако по мере прорастания семян происходит увеличение степени метилирования CG-динуклеотидов, входящих в состав промотора исследуемого гена. Максимальное значение метилирования промотора исследуемого гена достигается к 9 дню прорастания. Вероятно, метилирование отдельных CG-динуклеотидов изучаемого промотора, может приводить к нарушению связывания транскрипционного фактора в конкретном месте, что играет значительную роль в регуляции экспрессии гена *sdh2-2* сукцинатдегидрогеназы. Полученные данные коррелируют с результатами ряда исследователей, показывающих изменение статуса метилирования ДНК при развитии семян растений.

## **ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ ГИДРОКСИАПАТИТА ИЗ КОСТНОЙ ТКАНИ ПТИЦ**

**Зубкова Ю.В.**

ФГАОУ ВО Самарский государственный аэрокосмический университет  
им. академика С.П. Королева, Самара, Россия

*aislushka\_92@mail.ru*

Биологический гидроксиапатит (ГАП) имеет широкий спектр применения в медицине, стоматологии, травматологии, косметологии. Имплантаты, применяемые на основе ГАП, стали незаменимы, они не требуют повторных вмешательств, их последующих удалений. Гидроксиапатит имеет хорошую биосовместимость, не вызывает аллергических реакций. На сегодняшний день ГАП получают из костной ткани крупнорогатого скота и трупного материала.

Целью нашего исследования является изучение свойств ГАП, полученного из костной ткани птиц и выделение. Объектом исследования являлась костная ткань разных видов птиц: курица - *Gallus gallus*, гусь - *Anser anser*, утка - *Anas platyrhynchos*, индейка - *Meleagris gallopavo*.

Провели деминерализацию костной ткани по методике, разработанной в Институте экспериментальной медицины и биотехнологии (ИЭМБ). Произвели оценку выхода макроэлементов в деминерализующий раствор. В деминерализатах определяли кальций и магний титриметрическим методом, фосфат-ион – фотометрически по реакции с молибдатом аммония. Содержание железа – по реакции с роданидом натрия. Определили содержание кальция в деминерализованных растворах. Наиболее насыщенный раствор оказался компактной костной ткани утки – 148,0 мг/ 100 мл.

Полученный порошок ГАП анализировали на рентгено-флуоресцентном анализаторе. Были выявлены основные компоненты костной ткани, такие как кальций, фосфор, магний. Анализ также показал наличие элементов хрома, цинка, стронция и кобальта.

Полученные результаты могут быть использованы в медицинских целях при изготовлении костных имплантатов и препаратов, предотвращающих резорбцию костной ткани. ГАП костной ткани птиц, возможно, использовать как аналог гидроксиапатита человека, это более доступно и не требует юридических вмешательств.

## **УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ БЕЛКОВ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ МЕДИ В ПЕЧЕНИ И КЛЕТКАХ ПОДКОЖНОГО ЖИРА КРЫС, ДЛИТЕЛЬНОЕ ВРЕМЯ ПОЛУЧАВШИХ С КОРМОМ ХЛОРИД СЕРЕБРА**

**Канаш Л.А.**

ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия

*kanash2221@yandex.ru*

Медь – микроэлемент, который у млекопитающих входит в состав ряда жизненно важных ферментов. В то же время в свободном состоянии ионы меди являются токсичными агентами для всех типов биомолекул, вызывая образование гидроксильных радикалов. Поэтому, как врожденные ошибки

метаболизма меди, так и ее экологический избыток или недостаток, приводят к развитию тяжелых заболеваний (нейродегенеративные заболевания, рак, остеопороз, болезни Альцгеймера и Паркинсона и др).

Одним из подходов к исследованию метаболизма меди является использование ионов серебра Ag(I). Ионы Ag(I) изoeлектронны ионам меди Cu(I), могут связываться медьтранспортными белками и переноситься по тем же путям, что и медь. Ранее нами было показано, что у взрослых крыс, получавших с пищей AgCl в течение месяца, происходит значительное снижение статуса меди (оксидазная активность практически полностью исчезает, концентрация меди в сыворотке крови снижается в 10 раз, содержание церулоплазмينا (ЦП) – основного медьтранспортного белка сыворотки крови - не изменяется). Кроме того, в печени таких животных не происходит изменения уровня экспрессии генов, кодирующих белки метаболической системы меди (МСМ). В то же время у крыс, получавших хлорид серебра с пищей в течение 6 месяцев с рождения (Ag-N180 крысы), активируется синтез не печеночной изоформы ЦП клетками подкожного жира (ПЖ), благодаря чему статус меди в сыворотке крови снижается только в два раза. Целью данной работы было изучение уровня экспрессии генов белков МСМ в печени крыс, длительное время получавших с пищей хлорид серебра, в онтогенезе (5-, 20-, 40, 180-й дни жизни – Ag-N5, 20, 40, 180 крысы, соответственно), а также в клетках подкожного жира у Ag-N180 крыс.

Полученные с помощью ОТ-ПЦР анализа результаты показывают, что в печени 5- и 20-дневных Ag-крыс активность генов МСМ по сравнению с крысами контрольной группы не меняется. В печени 40-дневных Ag-животных происходит достоверное снижение уровня мРНК, кодирующих *Ctr2*, *Atp7B*, *Commd1*. К 180-му дню жизни в печени Ag-крыс снижается уровень экспрессии генов, кодирующих *Ctr1*, *Ctr2*, *Mt1a*, *Commd1*, *Cox4i1*, *Ccs*. Уровень экспрессии других исследованных генов достоверно не изменяется. ОТ-ПЦР анализ клеток подкожного жира Ag-N180 крыс показал достоверное увеличение активности генов секреторного ЦП и ЦП, заякоренного в мембране – ГФИ-ЦП. Кроме того, в клетках подкожного жира происходит увеличение уровня экспрессии генов *Ctr1*, *Dmt1*, *Atp7a*. Обсуждается роль ПЖ в адаптации Ag-крыс к дефициту холо-ЦП в печени.

#### МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА К ЭКЗОПОЛИСАХАРИДУ *LYSOBACTER SP.XL1*

Каратовская А.П.<sup>1,2</sup>, Руденко Н.В.<sup>1,2</sup>, Цфасман И.М.<sup>3</sup>, Ламан А.Г.<sup>2</sup>, Бровко Ф.А.<sup>1,2</sup>, Васильева Н.В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>Филиал ФГБУН Института биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пушкино, Россия; <sup>3</sup>ФГБУН Институт биохимии физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино, Россия

*annakaratskaya@mail.ru*

Грамотрицательная бактерия *Lysobacter* sp. XL1 выделяет в окружающую среду комплекс литических ферментов, электростатически связанных с кислым экзополисахаридом, состоящим из трех повторяющихся звеньев: N-ацетил маннуриновой и N-ацетил глюкуроновой кислот, и N-ацетилглюкозамина. Взаимодействие положительно заряженных белков с отрицательно заряженным полисахаридом стабилизирует литические ферменты. Полисахарид регулирует активность бактериолитических ферментов, удерживает и перемещает их в околоклеточном пространстве. На основе литического комплекса, секретируемого бактерией, разработан антимикробный препарат лизоамидаза.

Для исследования процесса сборки полисахарид-ферментного комплекса в данной работе получено моноклональное антитело к полисахариду бактерии *Lysobacter* sp. XL1. Полисахариды относятся к тимус-независимым антигенам, имеют медленно распадающуюся в организме линейную структуру с повторяющимися эпитопами. В ответ на такие антигены в организме животного преимущественно синтезируются низко аффинные антитела IgM, иммунный ответ, индуцируемый ими, практически не сопровождается формированием клеток памяти. В связи с этим получение высоко аффинных антител класса G к полисахаридам представляет собой интересную научную задачу.

Для иммунизации полисахарид конъюгировали с белками-носителями - бычьим сывороточным альбумином и овалбумином. Для активирования карбоксильных групп к раствору полисахарида в 0,1 М Na-фосфате, pH 5,5, добавляли 20 кратный молярный избыток N-(3-диметиламинопропил)-N-этилкарбодиимид гидрохлорида. Активированный полисахарид конъюгировали с белками-носителями в соотношении 1:5 (w/w) в присутствии 50 мМ триэтиламина, pH 8,0.

Были разработаны оптимальные схемы иммунизации мышей и способы скрининга препаратов, содержащих антитела к полисахариду. Гибридомный клон, секретирующий моноклональные антитела, был получен путем слияния полиэтиленгликолем иммунных спленоцитов и миеломной линии SP2/0. Моноклональное антитело PS-6 принадлежало к классу IgG1 и содержало легкую цепь k. PS-6 узнавали исследуемый полисахарид в вестерн-блотт-анализе в клетках и культуральной жидкости *Lysobacter* sp. XL1, не окрашивая при этом клетки *E.coli*.

На основе PS-6 была разработана тест система в формате сэндвич- иммуноферментного анализа для количественного определения полисахарида с минимальным пределом детекции 0,2 нг/мл. Исследованные культуральные жидкости содержали от 50 до 100 мкг/мл экзополисахарида.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 13-04-00644.

### **ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ БЕЛКОВ ПРОМЕЖУТОЧНЫХ ФИЛАМЕНТОВ НА АТФ-ЗАВИСИМЫЙ ТРАНСПОРТ ИОНОВ K<sup>+</sup> И ПАРАМЕТРЫ ДЫХАНИЯ И ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС**

**Коробейникова М.О.<sup>1,2</sup>, Горбачева О.С.<sup>1</sup>, Валув Т.<sup>1</sup>, Хмиль Н.В.<sup>1,3</sup>, Минин А.А.<sup>4</sup>, Миронова Г.Д.<sup>1,2</sup>**  
<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия; <sup>3</sup>Харьковский национальный университет им. В.Н.Каразина, Харьков, Украина, <sup>4</sup>ФГБОУ Институт белка РАН, Пушкино, Россия<sup>4</sup>

*mariya\_korobeini@mail.ru*

Промежуточные филаменты (ПФ) являются одним из трех компонентов цитоскелета в эукариотических клетках. Несмотря на большое число работ, посвященных изучению ПФ, их функции и регуляция их работы остаются в настоящее время не полностью выясненными. Считается, что ПФ помимо своих основных функций играют важную роль в транслокации и функционировании митохондрий. Предварительные исследования, проведенные в нашей лаборатории, позволяют предположить участие белков промежуточных филаментов (виментина, тубулина) в механизме движения митохондрий к клеточной мембране в условиях гипоксии.

Цель исследования: изучение влияния белка ПФ клетки (виментина) на функционирование АТФ-зависимого транспорта калия, а также на дыхание и фосфорилирование в митохондриях печени и сердца крыс.

Исследования проводились на самцах крыс линии Wistar массой 220-250 г. Выделение митохондрий проводили методом дифференциального центрифугирования с модификациями, разработанными в нашей лаборатории. Параметры дыхания и фосфорилирования митохондрий измеряли полярографическим методом с использованием платиновых электродов (Охуграф-2к, Австрия). Активность митоКАТФ-канала регистрировали спектрофотометрически по энергозависимому набуханию митохондрий.

Показано, что нативный виментин не оказывает существенного влияния на частоту дыхания митохондрий, но снижает К<sub>m</sub> для АДФ. В то же время показано, что нативный виментин ингибирует АТФ-зависимый транспорт K<sup>+</sup> в митохондриях, осуществляемый АТФ-зависимым калиевым каналом. Эффект виментина на транспорт является специфичным, так как модифицированный по одной аминокислоте виментин, который в отличие от нативного виментина, не оказывает влияние на формирование в клетке промежуточных филаментов, не влияет на этот транспорт.

Таким образом, в работе обнаружено ингибирующее действие виментина на АТФ-зависимый транспорт калия в митохондриях, что не связано с работой дыхательной цепи.

Работа поддержана грантом Правительства РФ (№ 14.Z50.31.0028).

### **ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКАЯ СИСТЕМА НА ОСНОВЕ ЦИТОХРОМА P450 17A1 ДЛЯ СКРИНИНГА ИНГИБИТОРНОЙ АКТИВНОСТИ И ПОИСКА ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА ПРОСТАТЫ**

**Кузиков А.В.<sup>1,2</sup>, Масамрех Р.А.<sup>1,2</sup>, Шумянцева В.В.<sup>1,2</sup>, Мишарин А.Ю.<sup>1</sup>, Арчаков А.И.<sup>1,2</sup>**  
<sup>1</sup>ФГБНУ Институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича, Москва, Россия; <sup>2</sup>ТБОУ ВПО Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия

*alexeykuzikov@gmail.com*

Цитохром P450 17A1 (CYP17A1) – гем-содержащий бифункциональный фермент, катализирующий 17 $\alpha$ -гидроксилазную и 17,20-лиазную реакции по отношению к прегненолону и прогестерону в метаболическом пути биосинтеза андрогенов. CYP17A1 является молекулярной мишенью при разработке потенциальных противоопухолевых лекарственных препаратов, так как снижение уровня андрогенов в организме является эффективным способом лечения андроген-зависимого рака простаты. Электрохимические системы на основе рекомбинантных изоферментов цитохрома P450 являются современным аналитическим высокочувствительным методом анализа субстрат-ингибиторного потенциала этого класса гемопротеинов.

Целью работы явилось создание высокочувствительной электрохимической системы на основе рекомбинантного CYP17A1 для скрининга потенциальных ингибиторов каталитической активности.

В работе использовались планарные графитовые электроды, полученные методом трафаретной печати. CYP17A1 был иммобилизован на поверхности рабочего графитового электрода (диаметр 2 мм), модифицированного жидкокристаллическим мембраноподобным дидодедилдиметиламмония бромидом.

Электрохимический анализ каталитической активности иммобилизованного фермента проводился методами циклической вольтамперометрии и амперометрического титрования растворами субстратов (прегненолона или прогестерона). На основе анализа электрохимических характеристик с помощью электрохимической модели уравнения Михаэлиса-Ментен были рассчитаны кинетические параметры ( $K_M$ ,  $k_{кат}$ ,  $k_{кат}/K_M$ ) по отношению к прегненолону и прогестерону. Масс-спектрометрический анализ продуктов СУР17А1-зависимой электрокаталитической реакции показал, что конверсия прегненолона и прогестерона протекает в соответствии с природным каталитическим циклом СУР17А1.

Разработанная электрохимическая система на основе СУР17А1 применялась для скрининга ингибиторной активности полученных в лаборатории синтеза физиологически активных соединений ИБМХ оксазолин-содержащих производных [17(20)E]-прегнена, различающихся заместителями в оксазолиновом цикле и структурой колец А и В. С помощью регистрации каталитического тока в присутствии тестируемых соединений были рассчитаны константы ингибирования. Среди новых оксазолин-содержащих производных [17(20)E]-прегнена выявлены эффективные ингибиторы каталитической активности СУР17А1.

Работа выполнена в рамках гранта РФФИ № 15-54-04090 Бел мол а и Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 годы.

### **ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ NAD-НЕЗАВИСИМОЙ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ У НЕСЕРНОЙ ПУРПУРНОЙ БАКТЕРИИ RHODOVULUM STEPPENSE ШТАММ А-20S ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПАХ ПИТАНИЯ**

**Ларченков В.М., Целуйко Ж.А., Ковалёва Е.В., Миткевич А.В., Сорокина Т.В.**  
ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

*larchenkoff.vladimir@yandex.ru*

Пурпурные альфа-протеобактерии считаются важным звеном в эволюции органического мира. Предполагается, что именно их предшественники стали предками митохондрий. Кроме того, расширяются возможности практического применения данных микроорганизмов. В связи с этим возрастает значимость изучения обмена веществ пурпурных бактерий, в частности – метаболизма пирувата.

Ранее нами была исследована NAD-зависимая L-лактатдегидрогеназа (ЛДГ) несерной пурпурной бактерии *Rhodovulum steppense*. Целью данной работы было изучение NAD-независимой L-лактатдегидрогеназы (название по систематической номенклатуре – L-лактат:цитохром С-оксидоредуктаза (ЛЦО)), функционирование которой может быть сопряжено с работой ЛДГ.

Для исследований были получены культуры *Rhodovulum steppense* с фотолитоавтотрофным, миксотрофным (рост в присутствии ацетата натрия) и фотоорганогетеротрофными типами питания в анаэробных условиях и с хемоорганогетеротрофным типом питания в аэробных условиях. Специфическое проявление ЛЦО в ходе электрофоретических исследований проводили тетразолиевым методом по модифицированной методике, очистку фермента проводили с помощью ионообменной хроматографии на DEAE-Sephacel.

Было установлено, что ЛЦО у *Rhodovulum steppense* функционирует при всех типах питания. Для культур, выращенных при фотолитоавтотрофном и фотоорганогетеротрофном типах питания, величина удельной активности ЛЦО составила 0,0033 и 0,0035 Е/мг белка соответственно, в условиях миксотрофного роста – 0,0225 Е/мг белка, для аэробной культуры – 0,0257 Е/мг белка. Из миксотрофной культуры был получен частично очищенный препарат ЛЦО, очищенный в 18,3 раза.

Полученные данные могут указывать на наличие тесной функциональной связи лактатдегидрогеназы и лактат:цитохром С-оксидоредуктазы и на сопряженность катализируемых ими реакций. Эти ферменты вместе могут участвовать в быстром вовлечении пирувата, формирующегося в ходе гликолиза, в работу электронтранспортной цепи, а также обеспечивать вовлечение в обмен веществ лактата, формирующегося в ходе метилглиоксалевого пути, являющегося ответвлением метаболизма аминокислот.

### **ПОДБОР УСЛОВИЙ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ПРОТЕИНАЗ С1r И С1s ИЗ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА**

**Леонова Т.С.<sup>1</sup>, Умнякова Е.С.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

*tanyaleonova2710@gmail.com*

Протеиназы С1r и С1s входят в состав комплекса С1, первого компонента классического пути системы комплемента. Изучение функционирования этого комплекса является важной фундаментальной и прикладной задачей, поскольку нарушения активации комплемента по классическому пути вызывают заболевания, которые в настоящее время не имеют адекватного лечения. Получение протеиназ

сопровождается рядом сложностей, обусловленных высокой способностью этих белков к аутоактивации. Используемые нами подходы предполагали предотвращение активации:

- 1) понижение температуры и pH растворов на всех этапах получения белков;
- 2) использование малого объема исходного материала и проведение двух этапов выделения за максимально короткое время.

Источником протеиназ была сыворотка крови здоровых доноров. Для снижения pH сыворотки до значения 6,1 добавляли 1 М HCl. Затем сыворотку наносили на колонку для аффинной хроматографии. В качестве матрицы использовали агарозу с ковалентно присоединенным белком А, который связывал полученные нами ранее антитела кролика к С1q человека через Fc-фрагмент. Задерживающийся на колонке С1 не должен активироваться от взаимодействия с комплексом антиген-антитело. После нанесения сыворотки колонку промывали буфером 10 мМ имидазол-HCl pH 6,1 в присутствии ионов Ca<sup>2+</sup> и Mg<sup>2+</sup>. Протеиназы смывали буфером, содержащим 10 мМ имидазол и 25 мМ ЭДТА. Проводили диализ элюата против 20 мМ ацетатного буфера pH 4,5. Полученный материал наносили на заранее подготовленную колонку для ионообменной хроматографии с CM52, уравновешенной 20 мМ ацетатным буфером pH 4,5. После промывания колонки проводили градиентную элюцию, увеличивая ионную силу элюирующего буфера от 0 до 0,8 М NaCl. Полученные фракции были проанализированы при помощи электрофореза в ПААГ при денатурирующих условиях в присутствии SDS. Впоследствии образцы, электрофоретические свойства которых сходны со свойствами протеиназ С1r и С1s, будут проанализированы при помощи масс-спектрометрии.

### УСТАНОВЛЕНИЕ СВЯЗИ МЕЖДУ ИЗМЕНЕНИЕМ ЭКСПРЕССИИ ПАРВАЛЬБУМИНА И ПРОДУКЦИЕЙ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В НЕЙРОНАХ

Майоров С.А.<sup>1,2</sup>, Авхачева Н.В.<sup>1</sup>, Софин А.С.<sup>1</sup>, Пермяков С.Е.<sup>1,2</sup>, Пермяков Е.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биологического приборостроения с опытным производством РАН, Пушкино, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия

*dikyagux@mail.ru*

ГАМК-эргические интернейроны гиппокампа являются основными тормозными клетками в головном мозге. Эти нейроны осуществляют соматические и проксимальные контакты с окружающими пирамидальными клетками, и производят сильный ингибиторный контроль основных нейронов. ГАМК-эргические нейроны содержат в высоких концентрациях небольшой кальцийсвязывающий белок парвальбумин. Несмотря на то, что парвальбумин является одним из основных нейрональных маркеров, его точная функция в мозге до сих пор не ясна. Предположительно в ГАМК-эргических нейронах парвальбумин регулирует кальций-зависимые обменные и электрические процессы и утилизирует избыток Ca<sup>++</sup>, возникающий при массовой активации N-метил-D-аспартатных рецепторов (NMDA-рецепторов), тем самым защищая интернейроны и пирамидальные клетки от перевозбуждения и гибели.

Показано, что активация NMDA-рецепторов нейронов головного мозга приводит к изменению уровня активных форм кислорода (АФК), причем усиление продукции АФК ГАМК-эргическими интернейронами гиппокампа приводит к потере парвальбуминового фенотипа нейронов. Это явление противоречит предполагаемой функции парвальбумина, поэтому выяснение взаимосвязи между уровнями парвальбумина и АФК в модельной системе важно для выявления его функции в нейронах, а также для изучения функциональной роли маркерных кальцийсвязывающих белков мозга

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 16-04-00226 А.

### ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РОЛИ ИЗОФЕРМЕНТОВ ЦИТОХРОМА P450 SORANGIUM CELLULOSUM SO CE56 ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

Масамрех Р.А.<sup>1,2</sup>, Кузиков А.В.<sup>1,2</sup>, Шумянцева В.В.<sup>1,2</sup>, Хатри Й.<sup>3</sup>, Бернхардт Р.<sup>3</sup>, Арчаков А.И.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича, Москва, Россия; <sup>2</sup>ГБОУ ВПО Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия; <sup>3</sup>Институт биохимии Саарского университета, Саарбрюккен, Германия

*rami.masamreh@yandex.ru*

Цитохромы P450 (CYP) – суперсемейство гем-содержащих монооксигеназ, присущих всем живым организмам. CYP участвуют в метаболизме ксенобиотиков, а также ряда физиологически активных эндогенных соединений, катализируя широкий спектр химических реакций. Исследование бактериальных CYP-зависимых систем представляет интерес с точки зрения биотехнологического использования бактерий.

Миксобактерия *Sorangium cellulosum* – Грам-отрицательная δ-протеобактерия, различные штаммы которой продуцируют ряд биологически активных соединений (противоопухолевых, антибактериальных, антиоксидантных и др.). Геном *S. cellulosum* So ce56 содержит 21 ген изоферментов CYP. Функциональная роль изоферментов CYP *S. cellulosum* активно изучается. Жирные кислоты играют ключевую роль в

жизненном цикле миксобактерий. Ранее показано, что СУР109С1, СУР109С2 и СУР109D1, несмотря на высокую гомологию, проявляют различную каталитическую активность по отношению к жирным кислотам. СУР260А1 – недавно обнаруженный первый СУР, способный катализировать 1 $\alpha$ -гидроксирование ряда С19 стероидов.

Электрохимические методы перспективны для исследования функциональной роли и каталитической активности малоизученных изоферментов СУР, так как не требуют сложного реконструирования электрон-транспортной цепи с использованием редокс-партнёрных белков и коферментов; донором электронов для восстановления СУР и инициирования каталитической реакции служит электрод.

Цель работы: создание электрохимических моделей для исследования функциональной роли изоферментов СУР бактерии *S. cellulosum* So ce56 на примере СУР109С1, СУР109С2, СУР109D1, СУР260А1.

В работе использовались рекомбинантные СУР109С1, СУР109С2, СУР109D1, СУР260А1, иммобилизованные на поверхности печатных графитовых электродов (диаметр 2 мм), модифицированных мембраноподобным дидодецилдиметиламмония бромидом. Электрохимический анализ каталитической активности исследуемых СУР проводился методами циклической вольтамперометрии и амперометрии. Продукты электрокаталитической реакции анализировались масс-спектрометрическим методом. На основе анализа электрохимических характеристик определены кинетические параметры исследуемых СУР ( $K_M$ ,  $k_{cat}$ ,  $k_{cat}/K_M$ ) по отношению к субстратам. Показано, что электрокаталитические реакции протекают в соответствии с каталитическим циклом в реконструированных системах.

Таким образом, разработанные электрохимические модели являются адекватной заменой реконструированным системам анализа функциональной роли и каталитической активности изоферментов СУР *S. cellulosum* So ce56.

Работа выполнена в рамках гранта РФФИ №14-04-91337 ННИО\_а.

## ИЗУЧЕНИЕ ЗАЩИТНЫХ СВОЙСТВ ГЛЮКУРАЛА ПРИ ПОВРЕЖДЕНИИ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ

Матейкович П.А.<sup>1</sup>, Морозов В.И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН  
Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,  
Санкт-Петербург, Россия

sandhani@yandex.ru

Детальное изучение защитных механизмов уже проверенных и применяемых лекарственных препаратов дает возможность расширения областей их применения. В настоящее время в аптеках по рецепту продается препарат «Амиглурацил», он содержит 1 часть метилурацила и 3 части N-метилглюкозамина. Данное действующее вещество также называется глюкурал. Показания к применению включают вялозаживающие раны, трофические язвы, переломы костей, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки; лучевые пневмониты и др. Глюкурал стимулирует репаративные процессы в тканях, активизирует неспецифический иммунитет, оказывает противовоспалительное действие. Однако механизм действия глюкурала подробно не изучен. Есть данные, что глюкурал взаимодействует с клеточными мембранами и влияет на морфологию клеток. Целью наших исследований было выяснить, оказывает ли глюкурал защитное действие на мембраны эритроцитов человека. В работе мы изучали влияние химически синтезированной субстанции глюкурала (водорастворимый комплекс 2,4-дигидрокси-6-метилпиримидина и N-метил-D-глюкозамина) на мембраны эритроцитов в условиях повреждающих воздействий, механического и воздействия экзогенного пероксида водорода. В исследовании влияния глюкурала на механическую резистентность эритроцитов интенсивность гемолиза в пробах с концентрациями глюкурала 25 и 250 мкг/мл (подвергшихся механическому повреждению) оказалась достоверно ниже не только группы с механически поврежденными эритроцитами, но также и контрольной группы, не подвергавшейся механическому воздействию. Это указывает на очень мощную способность глюкурала защищать эритроциты от механического гемолиза. В опытах по изучению резистентности эритроцитов к повреждающему действию H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (10 мМ) глюкурал также проявил цитопротекторные свойства, снизив интенсивность гемолиза до показателя контроля, не подвергавшегося воздействию H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Этот факт открывает возможность изучения влияния глюкурала на процессы перекисного окисления липидов в эритроцитах. Таким образом, одним из механизмов действия глюкурала можно считать стабилизацию клеточной мембраны. Кроме того результаты исследования дают основание расширить клиническое использования глюкурала для случаев, в которых встает необходимость защиты мембран эритроцитов крови.

**РАЗРАБОТКА СЕРИИ НОВЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПРОДУКТОВ НА ПРОТЕИНОВОЙ  
ОСНОВЕ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ**

**Махортова Н.В., Винокуров А.Ю.**

ФГБОУ ВО Приокский государственный университет, Орел, Россия

*makhortva.natalya@yandex.ru*

С развитием популярности здорового образа жизни, а также активной борьбой с избыточным весом в последние десятилетия встала острая необходимость в разработке серии недорогого специализированного питания, способного удовлетворить потребности отдельных групп населения, в частности спортсменов.

В связи с невысокой покупательской способностью населения невозможно полностью удовлетворить спрос на эту продукцию. Удовлетворение в спросе осуществляется исключительно за счет импорта.

Наиболее перспективным вариантом предлагается использовать белково-углеводные концентраты, которые могут выступать в качестве основы для напитков различного назначения. В зависимости от используемого соотношения компонентов продукта планируется создание серии коктейлей для спортивного, диетического и лечебного питания.

В качестве сырья для концентратов предлагается использование фасоли, т.к. данная культура обладает высокой пищевой ценностью, отличаясь большим содержанием белка, крахмала, минеральных веществ, необходимых в рационе питания.

Фасолевый концентрат является альтернативой соевых изолятов, используемых в протеиновых коктейлях зарубежного производства. Получение соевого изолята (белка более 90%) – многостадийная и дорогостоящая операция. Однако соевые изоляты обладают низкой пищевой ценностью, т.к. помимо белка в них не содержится необходимых организму элементов питания. Соевый концентрат (белка более 70%) имеет характерный запах и вкус, что вызывает потребность в дополнительной технологической операции – дезодорировании.

Получение фасолевого концентрата предполагает несколько операций, не требующих высоких затрат. При этом содержание белка в концентрате составляет 55-60%, углеводов – 25-40%, остальное приходится на содержание минеральных веществ и жиров. Таким образом, концентрат представляет собой комбинацию необходимых человеку факторов питания, что предполагает применение такой добавки во многих целях.

В связи с вкусовой нейтральностью фасоли, при получении данного концентрата также нет нужды в использовании технологии дезодорирования исходного сырья, что делает фасолевый концентрат универсальной добавкой и удешевляет процесс производства.

Вопросом перспективных исследований является доступность содержащегося в фасоли крахмала для пищеварительных ферментов организма. Судя по данным последних исследований, он может приобрести пребиотические свойства в результате формирования резистентности при проведении ряда технологических операций.

**АУТОАНТИТЕЛА К ПЛАЗМИНОГЕНУ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У МЫШЕЙ  
ЛИНИИ BALB/C**

**Моисеева Н.В.<sup>1,2</sup>, Тихонова Н.Б.<sup>2</sup>, Гоуфман Е.И.<sup>2</sup>, Алексанкин А.П.<sup>2</sup>, Зарудная Е.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБНУ Научно-исследовательский институт морфологии человека, Москва, Россия

*natalesko93@mail.ru*

Плазминоген является одним из основных компонентов фибринолитического звена системы гемостаза. Показано, что повышенное содержание аутоантител класса IgG к плазминогену в плазме крови у человека появляется при аденокарциноме молочной железы, однако подобное исследование у лабораторных животных не проводилось.

Целью работы было провести сравнительный анализ уровня содержания аутоантител к плазминогену в образцах плазмы крови мышей линии Balb/c (возраст 10-12 месяцев): здоровых (1-ая контрольная группа, n=20) и мышей со спонтанной опухолью молочной железы (2-ая группа, n=25).

Работа с экспериментальными животными осуществлялась в соответствии с положениями нормативно-правовых актов по защите прав лабораторных животных. Животных содержали в стандартных условиях без ограничения доступа к воде и пище.

Образцы крови брали из хвостовой вены раз в неделю в течение 4 недель, для получения плазмы крови использовали антикоагулянт К<sub>3</sub>ЭДТА. Уровень содержания аутоантител класса IgG, связывающихся с иммобилизованным на полистироловом планшете glu-плазминогеном, определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА).



Животные 2-ой группы содержали единичные или множественные опухолевые образования в области живота и/или груди, гистологическое исследование материала которых, полученного методом биопсии, показало наличие аденокарциномы молочной железы.

В результате ИФА образцов плазмы крови установлено значительное повышение уровня IgG, связывающихся с glu-плазминогеном, у 2-ой группы животных по сравнению со здоровыми ( $p < 0,01$ ). Уровень IgG к glu-плазминогену у животных контрольной группы не показал достоверных изменений, а у животных 2-ой группы выявлено его увеличение в течение эксперимента, что коррелировало с ростом новообразований. Среднее значение оптической плотности в ИФА образцов плазмы крови животных, больных раком, по сравнению со здоровыми животными было в 3 раза выше в начале эксперимента и в 4 раза выше в конце.

Методом построения ROC-кривых установлено, что тест на уровень содержания аутоантител к glu-плазминогену в качестве маркера рака молочной железы у мышей линии Balb/c характеризуется специфичностью 100%, чувствительностью 72% и имеет клиническую значимость (AUC) 0,93.

Наши результаты, полученные на лабораторных белых мышах линии Balb/c, согласуются с данными, обнаруженными ранее при исследовании образцов плазмы крови человека. Таким образом, мыши линии Balb/c могут быть использованы в качестве модели для исследования механизма повышения уровня IgG к плазминогену у больных раком молочной железы и роли данного показателя в развитии заболевания.

### **РОЛЬ ЦИТОХРОМ $b_5$ РЕДУКТАЗЫ В АКТИВАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ**

**Никифорова А.Б., Куприянова Е.С., Круглов А.Г.**

ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия

*nikiforanna@yandex.ru*

Цитохром  $b_5$  редуктаза и цитохром  $b_5$  – ферментная система способная окислять НАДН и восстанавливать ряд эндогенных и экзогенных соединений. В клетке существует две изоформы цитохром  $b_5$  редуктазы: растворимая и мембраносвязанная. Вторая изоформа находится в микросомах и на внешней поверхности внешней мембраны митохондрий. В микросомах цитохром  $b_5$  редуктаза связана с системой цитохрома P450, через которую принимает участие в метаболизме различных веществ. В митохондриях функции цитохром  $b_5$  редуктазы изучены слабо.

В нашей лаборатории показано, что митохондриальная цитохром  $b_5$  редуктаза (R3) способна окислять цитозольный НАДН и восстанавливать различные соединения, образуя при этом активные формы кислорода (АФК), и вызывая открытие неспецифической митохондриальной поры (mPTP), что может привести клетку к апоптозу. Мы проверили способность цитохром  $b_5$  редуктазы активировать различные ксенобиотики и лекарственные препараты и показали, что в присутствии соединений со стандартным редокс-потенциалом  $\geq -270$  мВ, цитохром  $b_5$  редуктаза продуцирует АФК и вызывает открытие mPTP, главным образом, посредством действия радикалов ксенобиотиков, (но не АФК), на редокс-сенсоры mPTP. Данные процессы могут лежать в основе негативных побочных эффектов лекарственных препаратов и ксенобиотиков.

Работа поддержана грантом РФФИ № 16-34-01158 мол\_а, грантом правительства РФ (проект № 14.Z50.31.0028).

### **СИСТЕМА ГЕМОГЛОБИНА И МЕМБРАНА ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ГИПЕРГЛИКЕМИИ *IN VITRO***

**Пестрякова А.А.<sup>1</sup>, Панарина А.А.<sup>1</sup>, Садыхова А.В.<sup>1</sup>, Кленова Н.А.<sup>1</sup>, Лебедева Е.А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Самарский национальный исследовательский университет им. акад. С.П.Королева, Самара, Россия; <sup>2</sup>ГБОУ ВПО Самарский государственный медицинский университет, Самара, Россия

*anpestryakova@yandex.ru*

Различные физиологические и патологические состояния сопровождаются увеличением содержания глюкозы в плазме крови. Гликирование белков мембран эритроцитов (Er) и гемоглобина (Hb) в условиях гипергликемии (ГГ) увеличивает тенденцию адгезии к эндотелиальным клеткам, дестабилизирует мембрану, изменяет вязкоэластические свойства Er и их форму. Все это может приводить к снижению кислородтранспортной функции Er и снижению времени их жизни за счёт развития апоптоза или гемолитического разрушения клеток.

Целью данного исследования стало изучение влияния ГГ на кислородтранспортную функцию и мембранную проницаемость Er человека.

Исследования проводили на фракции чистых Er, полученных из свежезабранной с антикоагулянтом донорской крови. Средний возраст доноров составил  $28,4 \pm 1,7$  лет. Er отмывали 4-хкратно до получения чистых фракций раствором PBS в режиме 600 g, 10 минут,  $t +4^\circ\text{C}$ . Инкубацию Er проводили в растворе Рингера-Локка в соотношении 2:1 при  $37^\circ\text{C}$  в течение 30 минут, при осторожном перемешивании каждые

5 минут. Используемый раствор Рингера-Локка различался содержанием глюкозы (нормогликемия (НГ) – 5 мМ/л глюкозы; ГГ – 10; 15 и 20 мМ/л глюкозы). Инкубационную среду отделяли центрифугированием в том же режиме, в Ег определяли показатели состояния Нб (методом спектрофотометрии и рамановской спектрометрии), степень гликированности Нб и мембран Ег. Содержание пептидов в инкубационной среде и Ег определяли по методу Лоури, используя набор реагентов Protein assay Dc (Bio-Rad). Содержание пептидов в Ег определяли после депротонизации 5%-ной трихлоруксусной кислотой. Для регистрации показателей использовали также спектрофотометр фирмы Shimadzu 1200 (Япония) и Раман спектрометр *in via Raman Microspore* (Renishaw, Англия). Для возбуждения рамановских спектров использовался лазер (длина излучения 532 нм, мощность излучения 5 мВт, объектив 5х).

В ходе исследования выяснено, что инкубация Ег в условиях ГГ 15 и 20 мМ/л сопровождается увеличением содержания метНб и снижением оксиНб. Содержание гликированного Нб увеличивается при ГГ 15 мМ/л на 13%, при ГГ 20 мМ/л на 73%. Степень гликирования белков мембран Ег увеличивается с ростом ГГ. Сродство Нб к лигандам растет в условиях ГГ 15 и 20 мМ/л на 6% и на 19% соответственно. Содержание белков и пептидов в инкубационной среде возрастает в зависимости от степени ГГ на 60% (15 мМ/л) и 42% (20 мМ/л). Содержание пептидов в Ег возрастает относительно НГ на 78% (10 мМ/л), 51% (15 мМ/л) и 18% (20 мМ/л). Подобные изменения в условиях ГГ 15-20 мМ/л характеризуют увеличение вероятности гемолитического разрушения Ег.

### ПОРФИРИНАТЫ ПЕРЕХОДНЫХ МЕТАЛЛОВ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ЦИТОСТАТИКИ

Пылина Я.И.<sup>1</sup>, Велегжанинов И.О.<sup>1</sup>, Шадрин Д.М.<sup>1</sup>, Шевченко О.Г.<sup>1</sup>,  
Худяева И.С.<sup>2</sup>, Белых Д.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, Сыктывкар, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт химии Коми научного центра Уральского отделения РАН,  
Сыктывкар, Россия

*yanarylina@yandex.ru*

Известно, что порфирины могут обладать способностью избирательно накапливаться в быстрорастущих и регенерирующихся тканях, что в свою очередь служит основой для клинического применения данных соединений в диагностике и лечении онкологических заболеваний. В настоящее время доказана клиническая эффективность фотодинамической терапии с использованием порфиринов. Однако потенциал и механизм действия темновой цитотоксической активности порфиринов изучены не достаточно. Целью данной работы было исследование механизма темновой цитотоксической активности соединения Zn (II) хлорина еб 13-N-метиламида 15,17 диметилового эфира в экспериментах *in vitro*. Показано, что исследуемое соединение активно по отношению к биологическим мембранам, проникает в клетки и активирует каспаза-зависимый апоптоз, высокая скорость развития которого позволяет предположить, что это происходит в результате пермеабиллизации митохондриальных мембран. Новое соединение характеризуется чрезвычайно резким приростом токсического эффекта с изменением концентрации, что может служить преимуществом, увеличивающим эффективность возможной таргетной доставки соединения в опухоль.

### СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕТОДОВ ПРИГОТОВЛЕНИЯ МОНОМЕРОВ БЕТА-АМИЛОИДНОГО ПЕПТИДА

Ромашова Ю.А., Хмельва С.А., Радько С.П., Супрун Е.В.

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

*juliademich@gmail.com*

Болезнь Альцгеймера (БА) является прогрессирующим нейродегенеративным заболеванием, которым страдают десятки миллионов человек в мире. Согласно ведущей гипотезы возникновения и развития БА, известной как «амилоидный каскад», в основе патогенезе БА лежит агрегация бета-амилоидного пептида (Абета). Общепринято, что полноразмерный Абета длиной 42 аминокислотных остатка (Абета42) играет центральную роль в формировании патогенных агрегатов Абета. Подавляющее большинство исследований, посвящённых механизмам агрегации Абета, а также нейротоксичности различных типов агрегатов, выполнено в условиях *in vitro* с использованием синтетических пептидов. В силу высокой склонности синтетических пептидов Абета42 к агрегации, получение водно-солевых растворов Абета42 в мономерной форме является сложной задачей.

Используя метод фото-индуцированной ковалентной стабилизации («сшивки») агрегатов Абета с использованием трис-(бипиридил)-рутения(II) с последующим их фракционированием денатурирующим ПААГ-электрофорезом, был проведён экспериментальный анализ агрегатного состояния Абета42. Анализ показал, что в растворах пептида происходит практически мгновенное формирование низкомолекулярных олигомеров Абета, до гептамеров включительно, которые находятся в динамическом равновесии с

мономерами. Формирование олигомеров происходит одинаково в растворах Абета42, полученных как растворением пептида в диметилсульфоксиде, так и растворением в щёлочи с последующей ультрафильтрацией, позволяющей удалить все олигомеры пептида выше димеров. Установлено, что доля пептидов Абета42, находящихся в составе олигомеров, составляет 17-24%, при этом количественно доминируют такие олигомеры, как тетрамеры, пентамеры, гексамеры и гептамеры. При повышении размера агрегатов Абета42 (определённого как кажущийся диаметр агрегатов методом корреляционной спектроскопии) выше 10 нм спектр олигомеров сдвигался в область высокомолекулярных олигомеров. Показано, что формирование фибриллярных агрегатов приводит к уменьшению доли Абета42 в мономерном и олигомерном состоянии и появлению фракции пептида, трудно растворимой в ионном детергенте Na-SDS. Транкированная форма Абета длиной 16 аминокислотных остатков (Абета16), представляющая его металл-связывающий домен, формирует SDS-индуцированные мицеллы, что делает невозможным исследование цинк-индуцированной олигомеризации Абета16 методом ковалентной фотоиндуцированной «сшивки».

Исследование поддержано Министерством науки и образования РФ (Соглашение № 14.604.21.0074, уникальный идентификатор RFMEFI60414X0074).

### РАСПРЕДЕЛЕНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА В ОТДЕЛАХ МОЗГА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБАХ ВВЕДЕНИЯ

Скоморохова Е.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский национальный университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБУ Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины Северо-Западного отделения РАМН, Санкт-Петербург, Россия

*ekaterina-skomorohova@mail.ru*

Серебряные наночастицы (СНЧ) — новый высокотехнологичный материал, обладающий особыми физико-химическими свойствами и обусловленной ими биологической активностью. Так, СНЧ имеют антибактериальные свойства (частицы способны проникать через мембраны бактериальных клеток, генерировать свободные радикалы и вызвать окислительный стресс, который приводит к перекисному окислению липидов, повреждению ДНК, изменению функций белков и, в итоге, к гибели бактериальных клеток). Поэтому СНЧ все шире используются в современном производстве, особенно в пищевой промышленности для изготовления упаковки и как консервант, для обеззараживания медицинских изделий. Однако СНЧ являются неприродным, материалом, и у млекопитающих не существует эффективных механизмов для их выведения из организма. Кроме того, показано, что СНЧ способны проникать через биологические мембраны и, вероятно, накапливаться в различных органах, вызывая патологические изменения, которым особенно подвержены нейроны. Тем не менее, действие СНЧ на клетки млекопитающих до сих пор мало изучено. Целью данной работы было исследовать биодоступность и распределение СНЧ в отделах мозга лабораторных крыс при различных способах их введения.

Работа была выполнена на 13 самцах крыс породы Вистар  $n=200$  г. Животным СНЧ вводили интраперитонеально (i.p.) ( $n=5$ ) в дозе 100 мкг/кг массы тела раз в день в течение 4 дней (кумулятивная доза — 400 мкг/кг); интраназально (i.n.) ( $n=5$ ) в дозе 40 мкг/кг массы тела раз в день в течение 4 дней (кумулятивная доза — 160 мкг/кг); интрацеребрально (i.c.) ( $n=3$ ) в дозе 10 мкг/кг веса животного однократно в четвертый желудочек. Затем концентрация серебра в различных отделах мозга была измерена методом атомно-сорбционной спектрометрии. Распределение СНЧ в отделах мозга было следующим: (1) при i.p. в обонятельных луковицах (OB) — 1,7% всего введенного серебра, во фронтальной коре (PFC) — 3,3%, в гиппокампе (Hip) — 2,1%, в стриатуме (S) — 2,5%, в спинном мозге (CSC) — 3,0%; (2) при i.n.: OB — 3,2%, FC — 9,2%, Hip — 2,2%, S — 2,8%, CSC — 3,9%; (3) при i.c.: OB — 3,6%, PFC — 1,8%, Hip — 5,6%, S — 2,6%, в гипоталамусе (H) — 3,4%, в мозжечке (C) — 1,4%. При этом наибольшая концентрация серебра в печени обнаруживается при i.p. введении (50% всего введенного серебра), а при i.n. введении — в легких (20%). При i.c. введении СНЧ на периферии обнаружены не были.

Таким образом, распределение СНЧ в отделы мозга зависит от их способа введения; примечательно, что при i.c. введении гиппокамп, отдел мозга, отвечающий за процессы обучения и памяти, аккумулирует наибольшее количество серебра.

Работа поддержана грантом РФФИ №14-04-00587.

### ГЕН РИБОНУКЛЕАЗЫ *BACILLUS LICHENIFORMIS* И ЕГО БЕЛКОВЫЙ ПРОДУКТ

Сокуренок Ю.В., Надырова А.И., Ульянова В.В., Ильинская О.Н.

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

*sokurenko.yulia@gmail.com*

Микробные ферменты рибонуклеазы являются одними из перспективных объектов, обладающих свойствами потенциального противоопухолевого терапевтического средства. Было показано, что РНКазы могут избирательно атаковать именно злокачественные клетки, вызывая их апоптическую гибель.

Наиболее изученными представителями низкомолекулярных гуанилспецифичных РНКаз являются биназа I и барназа, синтезируемые *Bacillus pumilus* и *B. amyloliquefaciens*, соответственно. Эти два фермента весьма идентичны по первичной структуре и схожи по физико-химическим и каталитическим свойствам.

В секвенированном геноме *B. licheniformis* ATCC 14580 с использованием алгоритма BLAST была выявлена нуклеотидная последовательность, характерная для гуанилспецифичных РНКаз бацилл. Исследуемая РНКазы *B. licheniformis* состоит из 109 аминокислот (зрелый белок) и гомологична генам биназы и барназы на 74% и 73%, соответственно. Проведенный анализ первичной структуры РНКазы *B. licheniformis*, в сравнении с биназой и барназой, показал, что основные различия находятся в районе сигнального пептида (одинаковы только в 3 аминокислотных остатках). Область зрелого белка более консервативна: найденная РНКазы отличается только 30 аминокислотами от барназы и 28 от биназы.

При сравнении генетических контекстов генов низкомолекулярной РНКазы *B. licheniformis* (BLi03719) и гуанилспецифичных РНКаз было показано, что окружение гена РНКазы *B. licheniformis* сильно отличается от такового у близкородственных видов бацилл. Было замечено, что ген исследуемой РНКазы образует оперон с геном внутриклеточного ингибитора YrdF.

С использованием программы ProtParam были выявлены основные физико-химические параметры РНКазы *B. licheniformis*.

В дальнейшем, планируется очистка белка, кодируемого геном BLi03719 и изучение его биологических свойств, что позволит разработать новые препараты, обладающие разными видами биологической активности.

### ВЛИЯНИЕ ГЛЮКОКИНАЗЫ НА НАКОПЛЕНИЕ ЗАПАСНЫХ УГЛЕВОДОВ У *METHYLOMICROBIUM ALCALIPHILUM* 20Z

Солнцева Н.П.<sup>1,2</sup>, Мустахимов И.И.<sup>1,2</sup>, Хмеленина В.Н.<sup>1</sup>, Розова О.Н.<sup>1</sup>, Троценко Ю.А.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>ФГБУН Институт биологии и физиологии микроорганизмов РАН, Пушино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО  
Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушино, Россия

natalia.solntseva.nn@gmail.com

Метанотрофы – физиологическая группа аэробных бактерий, использующих метан в качестве источника углерода и энергии. Метанотрофы не способны утилизировать сахара в качестве ростовых субстратов, однако в большинстве их геномов аннотированы гены, кодирующие предполагаемую глюкокиназу (*glk*), фосфорилирующую глюкозу до глюкозо-6-фосфата. Роль глюкокиназы в метаболизме метанотрофов не ясна. Нами были изучены свойства и роль глюкокиназы у модельного галотолератного метанотрофа *Methylobacterium alcaliphilum* 20Z.

Гетерологичной экспрессией гена *glk* из *M. alcaliphilum* 20Z был получен гомологичный препарат рекомбинантной глюкокиназы и охарактеризованы ее свойства. Глюкокиназа (2х35 кДа) – высокоактивный фермент ( $V_{max}$  131 Е/мг) с щелочным оптимумом рН (9,5 – 10), что коррелирует с алкалофильной природой метанотрофа. Активность фермента зависит от двухвалентных металлов  $Mg^{2+}$  или  $Mn^{2+}$ . Глюкокиназа строго специфична к АТФ и глюкозе ( $K_m$  АТФ 0.30 и  $K_m$  глюкозы 0.21). Продукт реакции АДФ ингибирует активность фермента ( $K_i$  АДФ = 2.34).

Делеция по гену *glk* вызывала замедление скорости роста мутантного штамма на метане и метаноле. Методом  $^1H$ -ЯМР у дикого и мутантных штаммов *M. alcaliphilum* 20Z было проанализировано внутриклеточное содержание сахарозы, гликогена, глюкозы и трегалозы. Показано, что содержание свободной глюкозы и трегалозы существенно возрастает у мутанта по глюкокиназе на фоне резкого снижения количества сахарозы и гликогена.

Присутствие глюкокиназы у метанотрофных бактерий, не растущих на сахарах, коррелирует с наличием генов синтеза и деградации сахарозы и гликогена (единственное исключение - *Methylocapsa acidiphila*). Таким образом, можно полагать, что функция глюкокиназы у метанотрофов связана с реутилизацией свободной эндогенной глюкозы, образующейся в клетках при катаболизме запасных углеводов, таких как сахароза и гликоген. Полученные данные свидетельствуют о том, что глюкокиназа выполняет важную функцию в метаболизме сахаров у метанотрофов.

### ВЛИЯНИЕ СФИНГОЗИНА НА СТИМУЛЯЦИЮ ДЫХАНИЯ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ ПРОДУКТАМИ $\omega$ -ОКИСЛЕНИЯ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

Степанова А.Е., Дубинин М.В., Самарцев В.Н.  
ФГБОУ ВО Марийский государственный университет, Йошкар-Ола, Россия

lady.stepanowa2010@yandex.ru

Известно, что сфинголипиды, в частности, церамид и сфингозин, являются эффективными регуляторами энергетических процессов в клетках. При действии на клетки различных стрессорных факторов: ионизирующей и ультрафиолетовой радиации, различных лекарственных средств, окислительного стресса и некоторых других воздействий, аккумуляция церамида и его метаболитов

наблюдается в различных клеточных компартментах и в том числе в митохондриях. Все еще не известно, какие эффекты на разобщающее действие свободных жирных кислот и их метаболитов оказывают амфипатические соединения природного происхождения, в частности положительно заряженный сфингозин. В настоящей работе нами изучено влияние сфингозина на разобщающее действие продуктов  $\omega$ -окисления пальмитиновой кислоты - 16-гидроксипальмитиновой (ГПК) и  $\alpha,\omega$ -гексадекандикарбоновой (ГДК) кислот. Установлено, что сфингозин в высокой концентрации (100 мкМ и выше) существенно стимулирует дыхание митохондрий печени. Однако в концентрации 50 мкМ сфингозин увеличивал скорость дыхания митохондрий не более чем на 15%. Показано, что в присутствии 50 мкМ сфингозина эффективность ГДК как активатора свободного окисления существенно ниже, чем в отсутствие этого сфинголипида. В случае ГПК, который способен стимулировать дыхание митохондрий более эффективно, чем ГДК, сфингозин обладает подобным ингибирующим эффектом. Установлено, что сфингозин снижает удельные активности ГПК и ГДК в 4,1 и 3,0 раза соответственно.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (в рамках государственного задания № 1365) и Российского фонда фундаментальных исследований (гранты № 14-04-00688).

### **ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ИОНОВ СВИНЦА И МОЛЕКУЛ ПАВ НА ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ *CERATOPHILLUM DEMERSIUM*, С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА ПАМ-ФЛУОРИМЕТРИИ**

**Степанова В.А., Шаповалова А.С., Шаланов В.В., Порочкин А.В.**

ФГАОУ ВО Самарский национальный исследовательский университет им. акад. С.П. Королева,  
Самара, Россия

*vera\_stepanova\_94@list.ru, shalanov95@yandex.ru, avporochkin@ya.ru, komarikAnn@yandex.ru*

Изучение воздействия ионов свинца и ПАВ на показатели флуоресценции хлорофилла тканей высшего водного растения *Ceratophyllum demersium* с помощью метода ПАМ-флуориметрии. При этом обнаружено различие в показателях флуоресценции фотосинтетических пигментов при воздействии молекул ПАВ и при воздействии ионов свинца, являющихся поллютантами для данного гидробионта.

Для исследования изменений показателей флуоресценции хлорофилла в различных средах использовался метод ПАМ-флуориметрии.

При проведении лабораторных опытов мы измерили показатель максимального квантового выхода флуоресценции, характеризующих долю открытых реакционных центров и готовых к акту разделения зарядов. Проведя пять измерений данного параметра, мы вычислили его среднее значение: 0,771 для пробы контроля, 0,782 для пробы с ПАВ, 0,775 для пробы с ионами свинца. Тот факт, что данный параметр различен для одной и той же пробы гидробионта находящейся в разных средах, отражает изменение квантового выхода флуоресценции при переходе фрагментов гидробионта из одного состояния в другое.

Мы установили изменение показателей флуоресценции хлорофилла гидробионта *Ceratophyllum demersium* подвергнувшегося обработке ионами свинца и ПАВ при помощи метода ПАМ-флуориметрии. Установлено, что действие данных поллютантов отрицательно влияет на поглотительную способность хлорофилла, наименьшее воздействие оказывают ионы свинца, наибольшее отрицательное воздействие обнаружено в пробе с ПАВ. Данные химические элементы оказывают негативное воздействие на механизм резонансной миграции энергии электрона в светособирающем комплексе, изменяют начальный уровень флуоресценции хлорофилла. Изменение поглотительной способности хлорофилла гидробионта *Ceratophyllum demersium* свидетельствует о нарушении функционирования фотосинтетического аппарата и снижении жизнеспособности данного растения.

Испускаемый при флуоресценции свет всегда имеет большую длину волны, чем поглощенный, так как часть поглощенной энергии превращается в тепловую, наряду с этим, хлорофилл флуоресцирует красным светом. Флуоресценция доказывает, что не вся энергия поглощенная хлорофиллом используется в процессе фотосинтеза. Флуоресценция тем сильнее, чем меньше поглощенной энергии света используется для фотосинтеза.

### **БИОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ СЕРОСОДЕРЖАЩИХ 3,5-ДИНИТРО-6-R-1,2,3,4-ТЕТРАГИДРОПИРИДИНОВ НА ПРОРОСТКИ ОВСА ПОСЕВНОГО *AVENA SATIVA L***

**Сулова И.И., Курочкина С.И., Атрощенко Ю.М.**

ФГБОУ ВПО Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого, Тула, Россия

*eledhwen\_1@mail.ru*

Рост – интегральное явление в жизни растений – подвержен влиянию внешних условий и зависит от эндогенных факторов. Семена культурных растений при отсутствии воды и низкой температуры находятся в состоянии вынужденного покоя. В основе действия механизмов покоя заложено функционирование различных физиолого-биохимических процессов. Контроль за этими процессами осуществляется

комплексом биологически активных веществ, которые регулируют рост и развитие растительного организма, обеспечивая сохранение его жизнеспособности. В настоящее время актуальной проблемой науки является поиск новых технологий для целенаправленного воздействия на животные и растительные организмы.

Исследование проводили в лаборатории биохимии Тульского государственного педагогического университета им. Л. Н. Толстого. Объектами исследования являлись побеги и корни овса посевного. Семена предварительно стерилизовали в 2,5%-ном растворе  $KMnO_4$ , после чего проращивали на фильтровальной бумаге в присутствии 1/10 среды Кнопа с микроэлементами по Хогланду, содержащей исследуемых веществ в концентрациях  $10^{-4}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-10}$ ,  $10^{-12}$ ,  $10^{-14}$  М. В контрольных экспериментах использовали дистиллированную воду. Проведенное исследование показало, что влияние 3,5-динитро-6-R-1,2,3,4-тетрагидропиридина на ростовые процессы овса носило концентрационный характер. Исследуемые вещества оказывают достоверное ингибирующее влияние на энергию прорастания и всхожесть, характеризующих жизнеспособность и дружность всходов, в концентрации  $10^{-4}$  и  $10^{-2}$  М. А энергия прорастания семян была выше в среде, содержащей  $10^{-12}$  и  $10^{-14}$  М вещества, в 1,5 раза относительно контроля. Так же нами было изучено воздействие исследуемого соединения на митотический индекс. Исследование показало, что 3,5-динитро-6-R-1,2,3,4-тетрагидропиридина оказывают неоднозначное влияние на митотический индекс гипокоты пшеницы. Достоверный цитотоксический эффект был зафиксирован в концентрациях  $10^{-2}$ ,  $10^{-10}$  и  $10^{-4}$ .

Таким образом, проведенное исследование позволило оценить влияние 3,5-динитро-6-R-1,2,3,4-тетрагидропиридинов на рост прорастающих семян овса. Было показано, что данные вещества оказывают ингибирующее влияние на прорастание семян, что могло быть обусловлено влиянием азотсодержащего гетероциклического соединения на процессы деления клеток.

### ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА ЦЕРУЛОПЛАЗМИНА (ЦП) В КЛЕТКАХ ЖИРОВОЙ ТКАНИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ДЕФИЦИТЕ ПЕЧЕНОЧНОГО ХОЛО-ЦП

Суханова А.С.

ГБОУ ВПО Санкт-Петербургская химико-фармацевтическая академия,  
Санкт-Петербург, Россия

*alsukhanowa@yandex.ru*

Медь (Cu) является обязательным микроэлементом для клеток всех филогенетических групп. У млекопитающих она включена в состав каталитических центров жизненно важных ферментов и выполняет функции вторичного мессенджера, для чего необходим межорганный контроль над уровнем биодоступной Cu вне и внутри клетки. Центральным органом, осуществляющим баланс Cu в кровотоке, является печень, синтезирующая секреторную форму церулоплазмينا (ЦП)-мультимедной голубой (ферр)оксидазы, транспортера Cu к клеткам негепатоцитарных рядов, содержащей 95% внеклеточной Cu. Содержание в крови холо-ЦП является главным показателем статуса меди. Известно, что активность гена ЦП в печени и секреция холо-ЦП в кровотоки стимулируются органами, нуждающимися в Cu, а также растущими опухолями.

В работе хронический дефицит холо-ЦП вызывали длительным (в течение 6 месяцев от рождения) добавлением в корм  $AgCl$ .  $Ag(I)$  и  $Cu(I)$  изоэлектронны, поэтому  $Ag(I)$  переносится системой транспорта Cu, встраивается в ЦП, вызывая исчезновение его энзиматической активности. Ранее мы показали, что кратковременная Ag-диета приводит к снижению уровня холо-ЦП до нуля. При хронической Ag-диете происходит компенсация уровня холо-ЦП за счет его эктопического синтеза. Цель работы – установить место синтеза холо-ЦП крови при блокировании его синтеза в печени.

В работе использованы методы ОТ-ПЦР, иммуноблотинг, метаболическое мечение, выявление оксидазной активности в геле и ААС для определения атомной концентрации металлов. Внутренние органы были проверены на способность аккумулировать Ag, экспрессировать ген ЦП и увеличение экспрессии гена ЦП в ответ на Ag-диету. Результаты показали, что ген ЦП экспрессируется в клетках почек, легких, селезенки, лейкоцитах и подкожного жира (ПЖ). Во всех органах найдены мРНК, кодирующие секреторный и заякоренный в мембране ГФИ-ЦП. Повышение активности гена ЦП наблюдали только в клетках ПЖ. Только клетки ПЖ не аккумулировали Ag. Проведенный скрининг показал, что ПЖ является органом, компенсирующим дефицит печеночного холо-ЦП. В клетках ПЖ Ag-диета стимулирует формирование и растворимого, и мембранного ЦП примерно в 2 раза. Параллельно в клетках ПЖ активируются гены, чьи продукты участвуют в металлизации ЦП (STR1 и АТР7А/В). Иммунореактивные полипептиды ЦП и холо-ЦП найдены в аппарате Гольджи и на плазматической мембране клеток ПЖ. Срезы ПЖ в условиях для метаболического мечения белков секретируют [ $^{14}C$ ]ЦП в среду инкубации. Обсуждается потенциальная роль ПЖ в поддержании гомеостаза Cu.

**ДЛИТЕЛЬНАЯ ОБРАБОТКА КРЫС С НЕОНАТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-ГО ТИПА  
ИНТРАНАЗАЛЬНО ВВОДИМЫМИ ИНСУЛИНОМ И СЕРОТОНИНОМ ВОССТАНАВЛИВАЕТ  
АКТИВНОСТЬ ГИПОТАЛАМИЧЕСКИХ СИГНАЛЬНЫХ СИСТЕМ И МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ  
ПОКАЗАТЕЛИ**

**Сухов И.Б., Деркач К.В., Чистякова О.В., Шпаков А.О.**

ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия

*sukhov.ivan@gmail.com*

В настоящее время интраназально вводимый инсулин (ИИ) применяют для лечения болезни Альцгеймера и предотвращения когнитивного дефицита, но практически не используют для лечения диабетической патологии, в том числе сахарного диабета 2-го типа (СД2). Это в значительной степени связано с недостаточной изученностью механизмов действия ИИ на гормональные сигнальные системы, в том числе на гипоталамические сигнальные системы, играющие ключевую роль в центральной регуляции энергетического гомеостаза. В последние годы появились данные о том, что повышение уровня серотонина в ЦНС, сниженного при СД2, приводит к восстановлению энергетического обмена и улучшению инсулиновой чувствительности. Цель работы состояла в изучении влияния длительной обработки самцов крыс с неонатальной моделью СД2 с помощью ИИ в суточной дозе 0.48 ЕД/крысу и интраназально вводимого серотонина (ИС) в суточной дозе 20 мкг/крысу на метаболические показатели и активность аденилатциклазной сигнальной системы (АЦСС) в гипоталамусе животных. Продолжительность обработки в обоих случаях составила 5 недель. Обработка ИИ снижала уровень глюкозы в крови, восстанавливала толерантность к глюкозе и ее утилизацию под влиянием инсулина, что указывает на повышение чувствительности тканей к инсулину. Эффект обработки диабетических крыс ИС на гликометаболические показатели был выражен слабее. Обработка диабетических крыс ИИ и, в меньшей степени, ИС нормализовала функции меланокортиновой системы, восстанавливая экспрессию гена *Mc4r* и стимулирующий аденилатциклазу (АЦ) эффект агонистов МК4-меланокортиновых рецепторов. При этом повышалась экспрессия гена *Htr1b*, кодирующего серотониновый рецептор 1В-подтипа (5-НТ<sub>1В</sub>R), и восстанавливались ингибирующие АЦ эффекты 5-НТ<sub>1В</sub>R-агонистов. Обработка крыс ИИ и ИС меняла соотношение экспрессии генов для дофаминовых рецепторов 1-го (*Drd1*) и 2-го типов (*Drd2*) в пользу *Drd2* и восстанавливала ингибирующий АЦ эффект агонистов ДА<sub>2</sub>Р. Таким образом, длительная обработка ИИ и ИС крыс с неонатальным СД2 восстанавливала активность чувствительной к меланокортинам и моноаминам гипоталамической АЦСС, что является одним из механизмов положительного влияния ИИ и ИС на энергетический обмен и резистентность к инсулину.

Работа поддержана Российским Научным Фондом (проект 14-15-00413).

**ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ СИСТЕМЫ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА У  
НАЗЕМНЫХ МИКРОСПОРИДИЙ**

**Тимофеев С.А., Сендерский И.В., Царев А.А., Игнатъева А.Н., Долгих В.В.**

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург, Россия

*ts-bio@ya.ru*

Микроспоридии – группа облигатных внутриклеточных паразитов, освоивших чрезвычайно широкий круг хозяев, от протистов до млекопитающих. В процессе адаптации к внутриклеточному паразитизму, метаболический аппарат данных организмов подвергся чрезвычайной редукции и специализации. Развиваясь внутри клетки хозяина, микроспоридии не используют собственную систему энергетического метаболизма, полностью полагаясь на транспорт АТФ из зараженной клетки с помощью уникальных АТФ-переносчиков. На стадии споры, способной существовать вне инфицированной клетки, данные патогены продуцируют АТФ с помощью гликолиза. Для реокисления восстановленных эквивалентов, таких как НАДН, образующихся в ходе гликолиза, большинство микроспоридий используют альтернативную дыхательную цепь. Ключевыми компонентами данной системы являются глицеролтрифосфатный челночный механизм, переносящий электроны из цитоплазмы с НАДН в митосомы (редуцированные митохондрии), а также альтернативная оксидаза, транспортирующая электроны на их конечный акцептор – кислород.

Однако, в геномах микроспоридий из группы *Terresporidia*, паразитирующих в наземных хозяевах, не было обнаружено гена, кодирующего альтернативную оксидазу. При этом в геномах данных видов сохранились все компоненты глицеролтрифосфатного челнока. Мы предположили, что переход из водной среды в другую экологическую нишу мог бы затруднять газообмен спор с внешней средой и приводить к невозможности переноса электронов на окончательный акцептор – кислород. При этом, сохранившийся у данных видов глицеролтрифосфатный челночный механизм вероятно задействован в переносе электронов с НАДН на некоторый другой конечный акцептор электронов, возможно не локализованный в митосомах.

Для того чтобы проверить данную гипотезу, мы получили антитела к белкам – компонентам альтернативной дыхательной цепи трех видов микроспоридий: *Glugea gasterostei* (паразит рыб), *Paranosema locustae* (паразит наземных прямокрылых не принадлежащий к кладе *Terresporidia*) и *Nosema ceranae* (паразит пчел из группы *Terresporidia*) и сравнили их локализацию в клетках данных микроспоридий. Кроме того, в клетках *N. ceranae* был осуществлен поиск потенциальных терминальных акцепторов электронов. По предварительным данным, реокисление НАДН у представителей *Terresporidia* осуществляется по сходным с другими микроспоридиями механизмам, однако конечным акцептором является не кислород, а расширенный пулл убихинонов или подобных им соединений.

Работы выполнены при поддержке РФФИ (гранты 15-04-04968 А; 14-04-31783 мол\_а).

### **СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ЛИПИДОВ ВНУТРЕННЕЙ МЕМБРАНЫ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ИСКУССТВЕННОМ ГИПОБИОЗЕ**

**Уманская А.А., Мельничук Д.А.**

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Киев, Украина

*ann.umanska@ukr.net*

Жирные кислоты играют одну из главных ролей в биохимических процессах организма. В организме животных содержится большое количество пальмитиновой (С16: 0), стеариновой (С17: 0) и олеиновой кислот (С18: 1 (9С)), а также более высокомолекулярные ЖК с большим числом атомов углерода (20 и более). Как правило, они имеют, четное количество атомов углерода. ЖК с нечетным количеством атомов встречаются только в составе цереброзидов и ганглиозидов. В мембранах животных свободные жирные кислоты содержатся в небольшом количестве и в основном представлены как структурные компоненты липидов. Основными липидами мембран животных являются фосфолипиды, в частности фосфатидилхолин (ФХ) и фосфатидилэтаноламин (ФЕА). Для жирнокислотного состав фосфатидилхолина типичны пальмитиновая и пальмитоолеиновой кислоты, а для ФЕА - еще и арахидоновая. Изменение условий существования, например, при переходе к зимней спячке у гибернирующих животных меняется жирнокислотный состав мембранных липидов, приспособляя свойства мембран к условиям окружающей среды. Исследования показали, что во внутренней мембране митохондрий преобладают ненасыщенные ЖК (наибольшее содержание составляет олеиновая, линолевая, арахидоновая). Среди насыщенных ЖК преобладает пальмитиновая и стеариновая. При искусственном гипобиоза жирнокислотный спектр липидов не отличается от контроля, однако наблюдается перераспределение в содержании отдельных ЖК. Содержание пальмитиновой, стеариновой и гептадекановой кислот возрастает в среднем на 21%. В то же время содержание олеиновой и линолевой кислот снижается на 37%, а линоленовой - в 2,5 раза, что свидетельствует об активности фосфолипазы при этих условиях. В то же время, растет содержание арахидоновой (на 15%) и докозагексаеновой (на 29%) кислот. При этом, суммарное содержание насыщенных ЖК растет в среднем на 20%, а ненасыщенных - снижается, что обуславливает рост соотношения насыщенные / ненасыщенные кислоты. Через 24 ч после снятия воздействия факторов гипобиоза не наблюдается возвращение содержания насыщенных и ненасыщенных ЖК до уровня контроля.

### **ЗАВИСИМОСТЬ АКТИВНОСТИ $\delta$ -АЛАД ОТ СОДЕРЖАНИЯ СВИНЦА В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ОВЕЦ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ**

**Фролова Н.А., Кобялко В.О., Мирзоев Э.Б., Полякова И.В., Губина О.А.**

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, Обнинск, Россия

*NAFC@yandex.ru*

Одним из основных проявлений свинцовой интоксикации является нарушение синтеза гема, которое приводит к развитию анемии. Снижение в периферической крови активности дегидратазы  $\delta$ -аминолевуленовой кислоты ( $\delta$ -АЛАД) рассматривается как один из наиболее чувствительных индикаторов воздействия свинца и свидетельствует об опасных уровнях металла в организме. В то же время для сельскохозяйственных животных практически отсутствуют данные о связи активности  $\delta$ -АЛАД с содержанием токсиканта и критических значениях показателя.

Исследование этого вопроса проводили в модельном эксперименте на овцах, которые в течение 90 сут. получали с рационом нитрат свинца в концентрациях 0 (1 группа), 5 (2 группа), 25 (3 группа) и 150 (4 группа) мг/кг корма. Активность  $\delta$ -АЛАД и содержание металла определяли в образцах крови на 0, 7, 14, 28, 42, 56, 70 и 90 сут. исследования.

У интактных животных активность  $\delta$ -АЛАД находилась в пределах 0,7-1,5 нмоль/мл эритроцитов, а содержание свинца – 6-35 мкг/л. На 7-ые сутки эксперимента концентрация металла в крови животных 2-ой группы достигала  $79 \pm 13$  мкг/л, а активность фермента снижалась на 62%. У овец 3 и 4 групп увеличение содержания свинца до  $112 \pm 8$  и  $276 \pm 19$  мкг/л ингибировало активность  $\delta$ -АЛАД на 82% и 91%, соответственно. В последующие сроки эксперимента у этих животных достигнутый уровень металла в крови изменялся незначительно, а активность фермента была практически полностью подавлена (2-3% от



уровня контроля). В то же время у животных 2 группы на 70 сут. отмечали уменьшение концентрации свинца в крови до 50 мкг/л, которое сопровождалось восстановлением активности фермента до 50% от уровня контроля.

Полученные результаты позволяют утверждать, что активность  $\delta$ -АЛАД овец остро реагирует на изменение уровня свинца в крови, которая уже при незначительном превышении (>40-50 мкг/л) существенно снижается. Концентрация металла в периферической крови выше 120-130 мкг/л приводит к почти полному ингибированию фермента. Обнаруженная у овец относительно низкая базальная активность фермента и высокая эффективность его почти полного ингибирования малыми концентрациями свинца в периферической крови позволяет говорить о повышенной чувствительности этих животных к присутствию металла в окружающей среде. Этот факт позволяет рекомендовать оценку активности  $\delta$ -АЛАД в периферической крови овец в качестве перспективного способа биоиндикации загрязнения территорий соединениями свинца.

### **АКТИВНОСТЬ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ИНТАКТНЫХ МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ГИПОТЕРМИИ**

**Хизриева С.И., Гаджимусаева П.Н.**

ФГБОУ ВПО Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

*saimat140992@yandex.ru*

Температура – это один из факторов окружающей среды, который влияет на скорости физиологических и химических процессов в живых системах. Так как все физиологические процессы в организме сводятся к биохимическим реакциям, катализируемые ферментами. Изменение температуры окружающей среды требует выработки адаптивных механизмов в живых системах, способствующих сохранению функциональных свойств ферментов. В связи с этим нами предпринято исследование кинетических характеристик (константы Михаэлиса ( $K_m$ ) и максимальной скорости ( $V_{max}$ )) сукцинатдегидрогеназы (одного из наиболее важных ферментов энергетического метаболизма) митохондрий печени крыс при кратковременной умеренной (30°C) и глубокой (20°C) гипотермии.

Результаты исследования показали, что эффекты гипотермии на активность СДГ зависят от концентрации сукцината в среде инкубации. При кратковременной умеренной гипотермии при концентрации субстрата 0,5 мМ активность СДГ увеличивается на 30%. При концентрации субстрата 5 мМ увеличение фермента составляет 40%, что заметно больше, чем при концентрации 0,5 мМ. Из полученных данных следует, что гипотермия 30°C приводит к увеличению  $V_{max}$  на 41%. Умеренная гипотермия увеличивает  $K_m$  на 40-50%. Таким образом, при умеренной гипотермии наблюдается положительная корреляция между значениями  $K_m$  и  $V_{max}$ : повышение  $K_m$  сопровождается повышением  $V_{max}$ . Глубокая гипотермия привела к эффекту противоположному кратковременной гипотермии - активность фермента, независимо от концентрации субстрата, уменьшилась на 15%. Глубокая гипотермия привела к уменьшению  $V_{max}$ , однако при этом значение  $K_m$  относительно контроля не изменилось. Так как снижение скорости катализа СДГ при глубокой гипотермии происходит только за счет изменения  $V_{max}$ , оно, скорее всего, связано с уменьшением числа активных молекул фермента, а не его структуры.

Таким образом, увеличение активности ферментов СДГ при умеренной гипотермии следует рассматривать как адаптивное изменение, направленное на поддержание температурного гомеостаза. При углублении гипотермического состояния нарушается сбалансированность биохимических процессов, что ведет к деструктивным процессам и снижению активности СДГ.

### **РЕКОМБИНАНТНЫЕ МИНИ-АНТИТЕЛА КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ БЕЛКОВ, ВОВЛЕЧЕННЫХ ВО ВЗАИМООТНОШЕНИЯ МИКРОСПОРИДИИ PARANOSEMA LOCUSTA С ЗАРАЖЕННОЙ КЛЕТКОЙ ХОЗЯИНА**

**Царев А.А., Тимофеев С.А., Сендерский И.В., Долгих В.В.**

ФГБНУ Всероссийский институт защиты растений, Санкт-Петербург, Россия

*alexandretsarev@gmail.com*

Молекулярные механизмы воздействия паразитов на зараженную клетку становятся в последние десятилетия предметом изучения у представителей *Apicomplexa* и *Kinetoplastida*. Однако сравнительно мало известно о влиянии на зараженную клетку микроспоридий - широко распространенной группы близких к грибам внутриклеточных паразитов. Длительная адаптация микроспоридий к внутриклеточному паразитизму и факт того, что большинство представителей группы развивается в прямом контакте с цитоплазмой клетки-хозяина, предполагают активное участие секреторных белков паразита в управлении молекулярно-генетическими процессами зараженной клетки. Отсутствие данных о белках микроспоридий, секретируемых в зараженную клетку, во многом связано с трудностями, возникающими при работе с этими облигатными внутриклеточными паразитами. Так как микроспоридии не культивируются вне клетки хозяина, манипуляции с их геномом также крайне затруднительны. Один из подходов, используемых для

изучения взаимоотношений этих микроорганизмов с зараженной клеткой, основан на гетерологичной экспрессии генов паразита и получением поликлональных антител к рекомбинантным белкам. В качестве объекта такого исследования выбираются белки паразита с предполагаемым N-концевым сигнальным пептидом, ответственным за их секрецию. В последнее время для изучения этого вопроса используются также транскриптомный (комплексный анализ мРНК-транскриптов зараженной и контрольной ткани хозяина) и протеомный (разделение белков 2D-электрофорезом с последующей идентификацией отдельных белковых пятен, чье содержание различается в зараженной и контрольной пробе) подходы. В данной работе мы решили оценить возможность использования рекомбинантных одноцепочечных антител и технологии фагового дисплея для изучения белков, секретируемых микроспоридией *Paranosema locustae* в цитоплазму зараженной клетки, а также белков хозяина, чья экспрессия индуцируется заражением. Микроспоридия *P. locustae* развивается в жировом теле перелетной саранчи *Locusta migratoria*. На данном этапе исследования была проведена иммунизация мышей зараженным жировым телом после удаления спор и клеток паразита центрифугированием, получена кДНК селенки для амплификации всего разнообразия вариабельных фрагментов тяжелых и легких цепей IgG мыши, которые были использованы для создания библиотеки последовательностей, кодирующих рекомбинантные мини-антитела к белкам зараженного жирового тела саранчи. Заражение бактерий хелперным фагом позволило наработать и выделить пул фаговых частиц, экспонирующих антитела на своей поверхности. К настоящему времени было проведено 3 раунда отбора вирусных частиц, несущих антитела против зараженного жирового тела и получено несколько антител, специфично реагирующих с зараженным жировым телом, не взаимодействующих с контрольным (незараженным).

Работа выполнена при поддержке РФФИ (№ 15-04-04968-а).

### **ПРОИЗВОДНЫЕ ХЛОРОФИЛЛА А С ФРАГМЕНТАМИ ОЛИГОЭТИЛЕНГЛИКОЛЕЙ НА ПЕРИФЕРИИ МАКРОЦИКЛА КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ФС ДЛЯ ФДТ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

**Шадрин Д.М.<sup>1</sup>, Пылина Я.И.<sup>1</sup>, Велегжанинов И.О.<sup>1</sup>, Шевченко О.Г.<sup>1</sup>,  
Старцева О.М.<sup>2</sup>, Белых Д.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биологии Коми научного центра Уральского центра Уральского отделения РАН, Сыктывкар, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт химии Коми научного центра Уральского центра Уральского отделения РАН, Сыктывкар, Россия

*shdimas@ya.ru*

Производные хлорофилла *a* нашли свое применение в медицине в качестве фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии онкологических заболеваний. Не мало важное значение имеет такое свойство фотосенсибилизаторов (ФС), как амфифильность, которое во многих случаях предполагает высокую противоопухолевую активность. В качестве перспективных амфифильных ФС могут выступать производные хлорофилла *a* с фрагментами олигоэтиленгликолей на периферии макроцикла. В настоящей работе исследована темновая и фотоиндуцированная цитотоксическая активность ряда олигоэтиленгликольных производных хлорофилла *a* в экспериментах *in vitro*. Установлено, что все исследованные соединения обладают фототоксичностью. Нами был исследован механизм биологического действия наиболее перспективного представителя этого ряда веществ пиррофеофорбида *a* 17-диэтиленгликолевого эфира на линии раковых клеток HeLa. С помощью флуоресцентной микроскопии показано, что данное соединение быстро проникает в клетку. Анализ активности каспазы-3 свидетельствует о ранней индукции апоптоза клеток HeLa после воздействия исследуемым соединением и светом длиной волны 660 нм. Анализ данных метода ДНК-комет позволил выявить генотоксический эффект. Анализ гемолитической активности показал отсутствие темновой токсичности и высокую фотодинамическую активность исследуемого порфирина. Таким образом, исследуемое соединение может быть перспективным действующим агентом для разработки нового препарата для фотодинамической терапии (ФДТ) онкологических заболеваний.

### **ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ИОНОВ СВИНЦА И ФОСФАТ-АНИОНА НА КОНФОРМАЦИЮ КАРОТИНОИДОВ ТКАНЕЙ ВЫСШЕГО ВОДНОГО РАСТЕНИЯ CERATORHYLLUM DEMERSUM L И ELODEA CANADENSIS МІСНХ МЕТОДОМ СПЕКТРОСКОПИИ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЙНИЯ СВЕТА**

**Шаповалова А.С., Порочкин А.В., Шаланов В.А., Степанова В.А.**  
ФГАОУ ВО Самарский национальный исследовательский университет им.  
акад. С.П. Королева, Самара, Россия

*komarikAnn@yandex.ru*

В литературе последних лет хорошо освещена проблема защиты хлоропластов от повреждающего действия света, изучена фотопротекторная функция каротиноидов, но фотосистемы растений должны быть защищены и от стресса, вызванного другими факторами, например, загрязнением тяжелыми металлами.

Изучение каротиноидов позволит сделать вывод об их вкладе в защиту от окислительного стресса и о стабильности фотосинтетического аппарата растения, подвергнувшегося отрицательному воздействию.

На опыте установлено, что инкубация *Elodea canadensis* в водной среде как с добавлением ионов  $Pb^{2+}$  в течение трех суток, так и с фосфат-анионом  $HPO_3^{2-}$  в течение того же времени значительно не влияет на конформацию каротиноидов этого растения. Не было показано изменения количества двойных связей, а так же колебаний метила в молекуле каротиноидов. Только в случае с интоксикацией фосфат-анионом  $HPO_3^{2-}$  обнаружилась тенденция к уходу молекулы каротиноидов от плоской конфигурации, вызванная, возможно, большей ассоциацией пигмента с белками в ФСА. Не коснулись изменения и пространственной ориентации атомов в плоскости.

Противоположные данные получили для *Ceratophyllum demersum*, так же прошедшего инкубацию в течение трёх суток с ионами свинца, где изменения спектра КР коснулись всех полос. Установлено укорочение длины конъюгированной цепи каротиноидов, возможно, вызванное увеличением плотности микроокружения каротиноидов, наблюдается тенденция перехода молекул каротиноидов к изогнутой конформации, обусловленной усилением связи и, возможно увеличением количества ассоциаций пигмента с белками ФСА, так же существенные изменения коснулись и колебаний метильной группировки относительно связи  $-C=C-$  в молекуле каротиноидов.

Мы предполагаем, что различное воздействие поллютантов, оказанное на растительные организмы *Elodea canadensis* и *Ceratophyllum demersum* обусловлено с принадлежностью к разным систематическим группам. Возможно, растение *Elodea canadensis* по изучаемому параметру оказалось более устойчивым к окислительному стрессу, поэтому значительных изменений конформации каротиноидов не произошло. Не было выявлено изменений стереоизомерии каротиноидов, они находятся преимущественно в *транс* конфигурации у обоих опытных растений.

На опыте показано, что каротиноиды выполняют свои защитные функции, находясь в ситуации стресса, вызванного загрязнением тяжелыми металлами. Возможно, связь каротиноидов с белками ФСА вызвана необходимостью диссипации избыточной энергии виде тепла, а повышение вязкости микроокружения каротиноидов – защитный механизм, включающийся в ситуации стресса.

#### НОВАЯ ФОСФОНАТАЗА У ШТАММА-ДЕСТРУКТОРА ГЛИФОСАТА *ACHROMOBACTER SP. KG 16*

Эпиктетов Д.О., Свиридов А.В., Леонтьевский А.А.

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

*hunter\_dimok@mail.ru*

Одной из актуальных проблем современной экологии среды является бесконтрольное поступление в окружающую среду больших объемов устойчивых фосфорорганических ксенобиотиков – органофосфонатов, среди которых наиболее распространен неселективный гербицид глифосат (ГФ). Благодаря наличию в молекуле трудногидролизуемой связи углерод-фосфор (С-Р связь), значительная доля ГФ не подвергается деградации и может накапливаться в почвах и поверхностных водоемах. ГФ может оказывать угнетающее действие на рост растений, а также приводить к поражениям иммунной, половой и нервной систем у животных и человека. Деградация ГФ в природных средах практически полностью обусловлена действием ферментных систем ряда микроорганизмов-деструкторов фосфонатов. В последние годы обсуждается вопрос об участии фосфонатаз, участвующих в утилизации природного фосфоната цилиатина, в метаболизме ГФ в качестве терминальной гидролазы. В настоящей работе рассматривается новая фосфонатаза, обнаруженная у деструктора ГФ *Achromobacter sp. Kg 16*, отличавшегося высокой эффективностью деструкции ГФ в условиях почв.

В литературе описана фосфонатаза *Bacillus cereus*, не способная участвовать в метаболизме ГФ, представляющая собой гомодимер массой 60 кДа, однако такой фермент у *Achromobacter sp. Kg 16* обнаружен не был. С помощью разработанной нами схемы очистки был получен электрофоретически гомогенный препарат фермента, гидролизующего фосфоноацетальдегид с образованием ацетальдегида и ортофосфата и индуцирующегося при росте *Achromobacter sp. Kg 16* на средах с ГФ. Фермент представлял собой мономер с молекулярной массой около 20 кДа, оптимальным диапазоном значений 7,2–7,6 рН,  $K_m=0,889$  мМ,  $V_{max}=1,2$  ФЕ/мг белка, числом оборотов  $k_{cat}=0,4$  с<sup>-1</sup>, и каталитической эффективности  $k_{cat}/K_m=4,5 \times 10^2$  л моль<sup>-1</sup> с<sup>-1</sup>. Фермент обладал относительно высокой термоустойчивостью, сохраняя свыше 80% своей активности в диапазоне температур 45–50°C, но быстро инактивировался уже при 60°C.

Перечисленные параметры резко отличались от таковых у фосфонатазы *B. cereus*, что позволило говорить о выделении нового фермента и ставить задачи дальнейших его исследований, таких как изучения происхождения новой фосфонатазы, её роли в метаболизме как глифосата, так и природных фосфонатов. Помимо научной новизны, более глубокое изучение нового фермента также актуально с практической точки зрения, так как очевидна зависимость эффективности деструкции ГФ штаммом *Achromobacter sp. Kg 16* от характеристик участвующих в данном процессе ферментов.

## **СЕКЦИЯ «ПОЧВОВЕДЕНИЕ И АГРОЭКОЛОГИЯ»**

### **МИНЕРАЛИЗАЦИЯ ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА СОВРЕМЕННЫХ И ПОГРЕБЕННЫХ КАШТАНОВЫХ ПОЧВ СУХОСТЕПНОЙ ЗОНЫ ПРИ РАЗНОМ УВЛАЖНЕНИИ**

**Алексеев А.М.<sup>1,2</sup>, Ходжаева А.К.<sup>2</sup>**

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

*ternaleator@mail.ru*

Среди многообразных функций почвы ключевыми являются микробиологические процессы трансформации углерода, которые в значительной степени обуславливаются содержанием общего и количеством доступного для минерализации (разложения, деструкции) органического вещества (ОВ). Основным критерием оценки процесса минерализации почвенного ОВ является величина продуцирования почвами диоксида углерода.

Цель работы – оценка размеров и скорости минерализации углерода ОВ разновозрастных погребенных каштановых почв и их современных аналогов при разном увлажнении. Объектами исследования послужили каштановые палеопочвы, погребенные под оборонительным валом Анны Иоанновны (Иловлинский р-н, Волгоградская обл.) ~300 лет назад и под курганными насыпями (могильник «Зензеватка», Ольховский р-н, Волгоградская обл.) в V в. до н.э. (курган № 5) и в I в. н.э. (курган № 6), и современные фоновые почвы. Минерализационную способность почв оценивали в длительном (150 сут) инкубационном эксперименте при увлажнении 16 и 24 вес. % и температуре 22°C. Концентрацию выделявшегося из почв CO<sub>2</sub> определяли на газовом хроматографе Кристаллюкс-4000М. Содержание потенциально-минерализуемого углерода (С<sub>пм</sub>) в почве рассчитывали по кумулятивному количеству выделившегося за период инкубации С-СО<sub>2</sub>, используя однокомпонентное уравнение экспоненциальной регрессии. Погребенные палеопочвы при влажности 16 вес. % за 150 сут продуцировали 4.1±0.1 – 8.8±0.2 мг С-СО<sub>2</sub> мг/100 г, а современные – в 2.9–7.5 больше. При повышении увлажнения (до 24 вес. %) наблюдалось незначительное увеличение кумулятивного продуцирования С-СО<sub>2</sub> погребенными палеопочвами и их современными аналогами (в 1.1 и 1.2 раза соответственно). Показано, что погребенные палеопочвы имели очень низкую обеспеченность потенциально-минерализуемым углеродом (0.7–1.1% от С<sub>орг</sub>). Содержание С<sub>пм</sub> в современных почвах было в среднем в 4.7 раз выше, чем в погребенных палеопочвах. С повышением уровня увлажнения содержание С<sub>пм</sub> увеличивалось во всех почвах. Судя по константам скорости минерализации (*k*, сут<sup>-1</sup>), современные почвы более устойчивы к деструкции ОВ по сравнению с погребенными. При повышении уровня увлажнения константа скорости минерализации ОВ палеопочвы, погребенной в V в. до н.э., увеличилась, а остальных исследуемых почв – уменьшилась.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке грантами РФФИ (№ 14-04-00934а), НШ-6123.2014.4 и Программой Президиума РАН № 15.

### **К ВОПРОСУ О ПОСТАГРОГЕННОМ РАЗВИТИИ СЕРЫХ ЛЕСНЫХ ПОЧВ**

**Баева Ю.И.**

ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

*baeva\_yui@pfur.ru*

Изучение механизмов самовосстановления почв, выведенных из сельскохозяйственного использования, имеет как самостоятельное научное значение, так и значительный практический интерес, связанный с прогнозом их развития, особенно в контексте глобальных климатических изменений.

Развитие постагрогенных восстановительных процессов на бывших пахотных почвах идет, как правило, в направлении формирования зональных климаксных (или субклимаксных) экосистем по классическим сукцессионным схемам. Сначала, в течение первых 3-5 лет, бывшие с/х угодья проходят рудеральную стадию. Дальнейшее восстановление растительного покрова на залежных землях и его скорость зависят от природно-климатических условий. Смена растительных сообществ неизбежно отражается на свойствах почвенного покрова, где также идет процесс восстановления исходного генетического профиля.

Был проведен анализ изменений запасов углерода и физических свойств серых лесных почв в ходе их постагрогенного развития на примере сукцессионного хроноряда, включающего пар, залежи 6, 15, 30-летнего возраста и вторичный лиственный лес (Опытно-полевая станция ИФХиБП РАН, Пушкино, Московская область). Геоботанические исследования показали, что после выведения почвы из сельскохозяйственного использования происходит изменение видового состава исследованных фитоценозов

от сорных растений до зонального климаксного сообщества – лиственного леса. Установлено, что запасы углерода в почвенном профиле возрастают с увеличением возраста залежи - от 6,17 кг С/м<sup>2</sup> на пашне до 8,81 кг С/м<sup>2</sup> в лесной почве. Наиболее интенсивно углерод запасается в верхнем слое бывшего пахотного горизонта (0-10 см). Показано, что при самовосстановлении серых лесных почв происходит достоверное уменьшение их объемной массы в верхнем 10-ти сантиметровом слое с 1,93±0,00 г/см<sup>3</sup> на пашне до 0,97±0,02 г/см<sup>3</sup> в лесу. В бывшем пахотном горизонте сукцессионного ряда *пашня-залежи-лес* возрастает доля макроагрегатов с 73,6% до 88,5%, а также отмечается увеличение в 1,6 раза средневзвешенного диаметра агрегатов и коэффициента структурности в 3,8 раза. Таким образом, изъятие земель из сельскохозяйственного использования приводит к постепенному восстановлению их естественной структуры, улучшению агрономических свойств почвы и депонированию углерода атмосферы.

### **АГРОЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЗЕМЕЛЬ РИСОВЫХ МЕЛИОРАТИВНЫХ АГРОЛАНДШАФТОВ**

**Гергель И.А.**

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт риса, Краснодар, Россия

*merirka@mail.ru*

Земли рисовых агроландшафтов неоднородны по своим природным свойствам, что определяет в значительной мере и их агроэкологическую неоднозначность. Комплексный учет факторов этой разнородности позволяет выделить земли, различающиеся по степени благоприятности в отношении использования под посевы риса и промежуточных культур.

Апробация проведена в ООО ЗК «Полтавская» Краснодарского края на площади 436 га. Почвенный покров представлен луговыми, аллювиальными луговыми и лугово-болотными почвами тяжелого гранулометрического состава. Точки отбора проб определяли с учетом структуры почвенного покрова и производственного деления территории. В качестве лимитирующих факторов проявляются: содержание гумуса, гранулометрический состав, засоление, осолонцевание.

Определены оптимальные условия произрастания культур рисовых севооборотов, и отвечающие им параметры почвенных показателей. Также установлена степень снижения урожайности культур при отклонении почвенных характеристик от этих значений (К).

Оптимальными условиями для выращивания риса 194,0 га, для пшеницы – 181,9 га, подсолнечника – 121,3 га, кукурузы – 121,3 га, сои – 169,8 га, люцерны – 388,1 га. На остальной территории наличие лимитирующих почвенных факторов для разных культур рисового севооборота может сопровождаться снижением их урожайности на 10-30%.

За период исследования 2009-2013 для культуры риса установлено: наибольшая продуктивность у сортов Рапан и Флагман, которая в среднем составила 68,1-92,6 ц/га и 75,0-88,2 ц/га. Она незначительно отличалась от расчетной, равной у Рапана 75,5-94,6 ц/га, у Флагмана 77,0-92,3 ц/га. Получение урожайности, близкой к расчетной, обеспечено благоприятными почвенно-мелиоративными условиями и соблюдением технологических приемов, урожайность сортов Гарант и Лиман была ниже расчетной в 1,5 и составляла 56,3-69,0 и 46,6-60,9 ц/га при потенциально-возможной для обоих сортов 84,0-94,5 ц/га. Это вероятно связано с тем, что доза внесенных удобрений (N<sub>115-120</sub>P<sub>50-60</sub>) была ниже, чем рекомендуемая (N<sub>120-150</sub>P<sub>90</sub>). Кроме того, сорта отличались относительно высокой степенью полегания посевов (30-40%), которая достигала 80-100% в 2010 году.

На территории с оптимальными условиями произрастания для культур целесообразно возделывать техногенно-интенсивные сорта, которые при соблюдении технологии возделывания наиболее полно реализуют свою биологическую продуктивность. На землях где проявляется действие лимитирующих факторов и возможно снижение урожайности на 20-30 %, рекомендуется возделывать экстенсивные сорта, которые менее требовательные к условиям произрастания.

### **КОМПЛЕКС МИКРОМИЦЕТОВ ЦЕЛИННОГО ЧЕРНОЗЕМА ВЫЩЕЛОЧЕННОГО**

**Гулиева Д.З.**

ФГБОУ ВПО Воронежский государственный педагогический университет, Воронеж, Россия

*gulieva\_dzhamilya@mail.ru*

Комплекс микромицетов используется для биоиндикации антропогенных воздействий на почву, загрязнение тяжелыми металлами. Для каждого типа почвы и растительной ассоциации характерен специфический состав грибов. Недостаточно изучен комплекс микромицетов разных подтипов чернозема ЦЧЗ.

Объект исследования - чернозем выщелоченный малогумусный среднеспособный среднесуглинистый. Пробы почвы отбирали из слоя 0-20 см. Исследовали почву без растений (пар) и почву под разнотравно-

злаковой растительной ассоциацией (целина). Грибы выделяли на агаризованной среде Чапека. Структуру комплекса микромицетов определяли по частотам пространственной и временной встречаемости видов. Для каждого типа почвы и растительной ассоциации характерен специфический состав грибов - виды доминантные, часто и редко встречающиеся, случайные

В вариантах опыта в ранге типичных из чернозема было выделено 24 вида микромицетов, являющихся представителями 19 родов, 7 семейств и 3 классов. Класс *Zygomycetes* представлен 2 видами *Mucor hiemalis* и *Rhizopus stolonifer*, типичными почвенными сапротрофами. Класс *Ascomycetes* представлен также 2 видами *Talaromyces flavus* и *Chaetomium piluliferum*, целлюлозоразрушающими гидролитами. Преобладали грибы класса *Deuteromycetes*.

Видовое разнообразие комплекса микромицетов чернозема выщелоченного очень высокое по сравнению с другими типами почв. Из почвы без растений в ранге типичных было выделено 13 видов микромицетов. В качестве доминантов в этом варианте опыта выделены представители семейства *Moniliaceae* из кл. *Deuteromycetes*: *Paecilomyces lilacinus*, *Acremonium alternatum*, *Penicillium tardum*. Это олиготрофные психрофильные стенофильные для степной зоны виды, с бесцветным, сегментированным, хорошо растущим мицелием. На пару завершается разложение мортмассы растений, а также микробной биомассы.

Из почвы под целиной в ранге типичных нами выделено 20 видов микромицетов. Из них 8 видов были доминантными: *Cephalosporium acremonium*, *Acremonium alternatum*, *Penicillium tardum*. Сложившаяся климаксовая растительная ассоциация поставляет в почву разнокачественные растительные остатки, которые разлагаются многими видами грибов. По экологической стратегии спектр типичных видов на целинном участке расширялся за счет быстро растущих грибов сем. *Mucoraceae*, целлюлозоразрушающих грибов родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma* и фитопатогенов родов *Fusarium*, *Botrytis*, которые в парующей почве были случайными. Перегруппировка видов по степени доминирования соответствует переходу комплекса микромицетов в адаптивную зону «стресса» по принятой в микологии градации.

## ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСКУССТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ГУМУСОВЫХ ВЕЩЕСТВ

Доморацкая Д.А.

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

*danadomratskaya@mail.ru*

Одна из современных экологических проблем состоит в том, что нужные человеку органические вещества, отчуждаются с одних территорий, а ненужные, разнообразные отходы, поступают на другие территории. В животноводстве часто накапливаются большие объемы навоза, который не используют как удобрение.

Российскими учеными изобретено устройство по переработке органических отходов в гумусоподобные вещества (ГВ). Известно, что природные ГВ повышают урожайность растений, продуктивность животных. Но эффект воздействия искусственно синтезированных ГВ требовал изучения.

Целью нашей работы было испытание влияния искусственных ГВ в биотестах. Раствор гуминовых веществ представлял жидкость темно-коричневого цвета со специфическим запахом, был получен из навоза крупного рогатого скота методом окислительной гидролитической деструкции при 180°C с добавлением КОН в размере 25% от массы органического вещества. В качестве биотестов использовали семена огурцов и мицелий вешенки. Для биотеста тарировали семена огурца с помощью водного солевого раствора (30 г NaCl на 1 л воды). Опыт проводили в пластиковых чашках Петри диаметром 5 см. В чашки на дно укладывали фильтровальную бумагу, на фильтр помещали семена (по 10 штук на чашку), которые сверху тоже накрывали кружком из фильтровальной бумаги. Наливали в каждую чашку по 6 мл дистиллированной воды или раствора ГВ. Через сутки излишек жидкости сливали. На каждый вариант по 2 чашки. 9 вариантов – всего 180 семян. Контроль увлажняли дистиллированной водой, варианты опыта разведенным раствором ГВ (от 25 мг/л до 681 мг/л). Контроль концентрации растворов при разведении проводили с помощью кондуктометра (DIST 1, Hanna).

Подсчитали количество проросших семян на 2 и 3 дни эксперимента, затем взвешивали проростки, сырые и после высушивания.

Для биотеста с мицелием вешенки готовили субстраты: на 1 кг влажных опилок вносили 100 г лузги подсолнечника и 100 г мицелия вешенки на зерне. Фасовали в полиэтиленовые мешки. Влажность смеси составляла около 70 весовых процентов. В опыте добавляли по 10 и 20 мл гуматов на пакет. Контролем служила водопроводная вода. Повторность опыта – 3.

Выводы.

1. Препараты ГВ увеличивали прорастание семян огурца на 20-25%, сырую массу проростков на 30-40%. Оптимальной была концентрация ГВ 100 мг/л. Более концентрированные растворы не оказывали положительного эффекта.

2. Препараты ГВ в дозе 20 мл на 1200 сырок растительной смеси увеличивали урожай грибов по сравнению с контролем на 70 и 80% за 5 и 4 сборов, соответственно. Добавление к субстрату 10 мл гуматов повышало урожай вешенки на 20%.

### **ВЛИЯНИЕ МИКРОКЛИМАТИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ НА МЕХАНИЗМЫ ЗАТРАВОЧНОГО ЭФФЕКТА В СОВРЕМЕННЫХ И ПОГРЕБЕННЫХ СЕРЫХ ЛЕСНЫХ ПОЧВАХ**

**Журавлева А.И.**

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

*zhuravlevaai@rambler.ru*

Изучен затравочный эффект (ЗЭ), инициированный внесением  $^{14}\text{C}$  глюкозы, для почвенных микробных сообществ, существующих в контрастных трофических условиях. Для этого в качестве природных моделей использованы органогенные горизонты современных серых лесных почв (регулярный приток свежего субстрата) в сравнении с соответствующими погребенными горизонтами, поступление доступной органики в которые существенно ограничено. Проведена оценка влияния микрорельефа на продукцию экстра-С в современных и погребенных гумусовых горизонтах микропонижения и микроповышения. ИВнесение легкодоступной глюкозы инициировало два типа затравочных взаимодействий (кратковременный и долговременный прайминг-эффекты) в современных и погребенных гумусовых горизонтах серых лесных почв, развитых в микропонижении и на микроповышении. Абсолютные величины затравочного эффекта (так же как и МБ,  $C_{\text{орг}}$ ) закономерно снижались от современных горизонтов к погребенным горизонтам и не зависели от положения почвы в микроландшафте. Минимальным ЗЭ был в погребенной почве микроповышения, что подтверждалось и величиной относительного ЗЭ. Увеличение относительного прайминг эффекта (по сравнению с контролем) в гумусовых горизонтах микропонижений совпадал с максимальным приростом ферментативной активности в этих горизонтах. Таким образом, более высокие величины относительного ЗЭ в гумусовых горизонтах почв микропонижений были связаны с гидролитической активностью ферментов микроорганизмов.

Наши результаты демонстрируют что, при дефиците энергии и элементов питания даже поступление в почву воды может привести к увеличению эмиссии  $\text{CO}_2$  в атмосферу, причем интенсивнее выделять углекислоту будут микроорганизмы почв микроповышений. Такая же тенденция характерна при неконтролируемом кратковременном поступлении легкодоступных органических соединений в почвы, локализованных на разных элементах микроландшафта.

Образцы предоставлены коллективом лаборатории Экологии почв под руководством д.б.н. Алифанова В.М.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ14-14-00625.

### **ВЛИЯНИЕ НАТУРАЛЬНЫХ СОРБЕНТОВ НА ФИЗИЧЕСКИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СЕРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВЫ, ЗАГРЯЗНЕННОЙ НЕФТЬЮ**

**Зиннатшина Л.В.**

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

*Lohmataya\_ova@mail.ru*

Почвы, загрязненные нефтью, характеризуются повышенной токсичностью и гидрофобностью, в них создаются неблагоприятные условия, способные привести к угнетению и гибели почвенной биоты. Процесс самоочищения почвы может длиться долгие годы. Предыдущие исследования [Зиннатшина, 2015] показали, что использование ряда натуральных сорбентов, внесенных в оптимальных дозах, существенно ускоряют биоремедиацию почвы, загрязненной смесью отработанного моторного масла и дизельного топлива (суммарно  $7_{\text{масс.}\%}$ ). Наибольший эффект дало внесение оптимальных доз торфа, активированного угля, биочара и каолинита, в присутствии которых в конце первого сезона фитотоксичность почвы снизилась до минимума, а суммарное содержание углеводов (УВ) - до 0,8-0,9% по сравнению с 1,2% в контроле. Под действием сорбентов улучшались также водно-физические свойства исследуемой почвы.

Даная работа продолжает и расширяет ранее проведенные исследования. Ее основная цель – разработка технологии сорбционной биоремедиации нефтезагрязненной почвы, основанной на использовании натуральных сорбентов. Для достижения поставленной цели был заложен многолетний микрополевой эксперимент в условиях, имитирующих ликвидацию последствий аварийных разливов нефти. Исследования проводились на серой лесной почве, поверхностно загрязненной средней нефтью. В почву вносили сорбенты и мелиоранты в 2-х дозах, близких к оптимальным, выбранным с учетом предыдущего опыта. Контроль обрабатывался в соответствии с требованиями технологии биорекультивации почв *in situ*, описанной в руководящем документе организаций системы ОАО «АК Транснефть», утвержденного Минприроды [РД-13.020.40-КТН-208-14].

Результаты первого года наблюдений показали, что дополнительное внесение минеральных удобрений в сочетании с известкованием оказало положительное влияние на скорость биоремедиации по сравнению с описанной в РД технологией, тогда как вклад биопрепарата на основе нефтедеструкторов был незначительным. Положительное влияние на скорость разложения нефти в той или иной степени оказывали все изученные сорбенты, внесенные в оптимальных дозах. Механизм положительного действия сорбентов объясняется локализацией загрязнителей в очищаемом слое, снижением токсичности почвы за счет обратимой сорбции углеводов и их метаболитов, а также снижением гидрофобности нефтезагрязненной почвы и улучшением ее водно-физических свойств.

Выражаю благодарность научному руководителю, в.н.с., к.б.н. Васильевой Г.К.

### **ФОСФАТАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ КУЛЬТУРНЫХ СЛОЕВ АРХЕОЛОГИЧЕСКИХ ПАМЯТНИКОВ КАК ИНДИКАТОР ИХ СОСТОЯНИЯ**

**Каширская Н.Н., Борисов А.В.**

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

*kashirskaya81@rambler.ru*

При индикации древнего антропогенного воздействия на почвы разновозрастных археологических памятников широко используется оценка содержания фосфора в культурных слоях. Культурный слой обогащается как минеральными формами фосфора при поступлении золы, так и органическими его формами, накопление которых зависит от интенсивности внесения в культурный слой продуктов животного и растительного происхождения. Концентрирование органики в почве культурного слоя представляет собой одну из основных причин увеличения в ней фосфатазной активности. Вторая причина увеличения фосфатазной активности при обогащении почвы органическим веществом связана с активизацией живых организмов, обеспечивающих культурный слой фосфатазными молекулами. Бактерии являются основными продуцентами щелочных фосфатаз, преобладающих в таких почвах, как насыщенные основаниями черноземы; растения, грибы и в меньшей степени бактерии продуцируют кислые фосфатазы, преобладающие в кислых и ненасыщенных дерново-подзолистых и серых лесных почвах. Фосфатазной активностью обладают в той или иной степени все почвенные микроорганизмы, однако только некоторые из них образуют большое количество внеклеточных фосфатаз. В естественных биотопах фосфатазная активность зависит от типа почвы, от присутствия в ней ингибиторов или активаторов, от состава растительного и микробного сообщества почвы. В культурных слоях древних и средневековых поселений ситуация во многом зависит от характера антропогенного воздействия, в результате которого, при формировании слоев, могло происходить как увеличение фосфатазной активности за счет вносимого органического вещества, так и ее уменьшение, связанное с угнетением растительного сообщества. Последний фактор ведет не только к уменьшению поступления в почву фосфатазных молекул, выделяемых растениями, но и к уменьшению оттока фосфатов из почвы. Показана отрицательная корреляция фосфатазной активности почвы с содержанием в ней минерального фосфора, поскольку избыток подвижного фосфора – продукта реакций, осуществляемых фосфатазами – блокирует активные центры фермента. Известно также, что избыток подвижного фосфора может ингибировать синтез фосфатаз в клетках живых организмов. При исследовании различных археологических памятников нами было установлено, что содержание валового фосфора не позволяет судить об особенностях формирования культурных слоев. Увеличение данного показателя в большей части случаев происходит за счет внесения минеральных форм фосфора с золой, о чем свидетельствуют низкие величины фосфатазной активности. В культурных слоях, характеризующихся заметным увеличением фосфатазной активности, при их формировании, очевидно, происходило поступление в почву органического вещества антропогенного происхождения. Таким образом, исследование фосфатазной активности в культурных слоях археологических памятников позволяет более детально реконструировать особенности жизни древних обществ.

### **СТРУКТУРА ЦЕЛЛЮЛОЗОЛИТИЧЕСКОГО МИКРОБНОГО ПУЛА ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЫ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ КРЕМНИЙСОДЕРЖАЩИХ ПОРОД**

**Козлов А.В.**

ФГБОУ ВПО Нижегородский государственный педагогический университет им. Козьмы Минина  
(Мининский университет), Нижний Новгород, Россия

*a\_v\_kozlov@mail.ru*

Изучена структура бактериального комплекса дерново-подзолистой легкосуглинистой почвы, участвующего в трансформации целлюлозосодержащих веществ, под действием высококремнистых пород. Исследования проводили в условиях серии микрополевых опытов с различными дозами диатомита, цеолита



и бентонита, в которых в 2014-2015 годах выращивалась озимая пшеница и картофель. В опытах определяли степень влияния пород на структуру целлюлозосапротрофной части микробиоценоза почвы в виде распределения встречаемости родов целлюлозолитических бактерий.

Среди минорных компонентов микробионаселения на вариантах применения кремнийсодержащих пород был отмечен рост встречаемости р. *Caulobacter*, *Curtobacterium*, *Micrococcus* и *Rhodococcus*. При увеличении дозы пород наблюдалась стабильная тенденция увеличения доли колоний бактерий р. *Cytophaga* до группы среднего обилия как в почве под пшеницей (до 6-8%), так и в почве под картофелем (до 6%), а также – клеток р. *Mucococcus* в почве под картофелем (до 5-6%). Доля представителей р. *Arthrobacter* и *Mycobacterium* имела тенденцию снижения при увеличении дозы пород.

Среди представителей группы среднего обилия в микробиоценозе почвы в обоих опытах был отмечен рост встречаемости типичных целлюлозолитических бактерий – представителей р. *Cellulomonas*. Представители олиготрофной ниши – р. *Agromonas* и *Corynebacterium*, а также типичные представители коренного микробионаселения почвы – р. *Agrobacterium*, практически не меняли доли своей встречаемости при изменении вида и дозы кремнистой породы.

В отношении бацилл (р. *Bacillus*) можно сказать, что каких-либо тенденций, определяемых видом и дозой кремнийсодержащих пород в условиях выращивания обеих культур, выявлено не было. Однако в отношении р. *Pseudomonas* и р. *Xanthomonas* можно сказать, что тенденция повышения встречаемости первых отмечалась в опыте с озимой пшеницей, а вторых – в опыте с картофелем. Встречаемость р. *Flavobacterium* в почве обоих опытов имела тенденцию снижения при увеличении дозы кремнийсодержащих веществ.

В результате проведенных исследований было установлено, что в общей структуре микробионаселения почвы отмечалось начало перераспределения микробного пула в сторону активизации развития типичных целлюлозолитических сапротрофов и олигокарбофилов.

## **ВЛИЯНИЕ МНОГОЛЕТНИХ ТРАВ НА АГРОЭКОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ СЕРЫХ ЛЕСНЫХ ПОЧВ В УСЛОВИЯХ ПРЕДКАМЬЯ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН**

**Кольцова Т.Г., Андреева А.А., Сунгатуллина Л.М.**

Институт проблем экологии и недропользования Академии наук Республики Татарстан, Казань, Россия

*t@shmain.ru*

Решение проблемы повышения плодородия почв тесно связано с использованием в севообороте многолетних и однолетних сидеральных культур, а также освоением почвозащитных зернотравяных или травопольных севооборотов. Для Предкамья Республики Татарстан (РТ) характерна высокая степень расчлененности рельефа и развития эрозионных процессов.

В связи с чем, целью представленной работы стало проведение интегральной оценки влияния разных видов многолетних трав и продолжительности их возделывания на агроэкологическое состояние серой лесной почвы Предкамья РТ в зернопаротравяном севообороте при экологическом земледелии (без использования пестицидов и минеральных удобрений) по комплексу агрофизических, агрохимических и физико-химических свойств.

В результате установлено, что структурное состояние пахотного горизонта серой лесной почвы по количеству агрономически ценных почвенных агрегатов улучшается в ряду чистый пар – многолетние травы – залежь. По изучаемому параметру наибольшей структуровосстанавливающей способностью обладает люцерна, из травосмесей – бобовая смесь из клевера и люцерны. Содержание водопрочных агрономически ценных агрегатов в пахотном горизонте серой лесной почвы значительно увеличилось при возделывании многолетних трав и травосмесей (клевер+люцерна, клевер+злаки), способствуя улучшению структурного состояния почвы с удовлетворительного до хорошего и отличного. По рассматриваемому параметру наибольшей структуровосстанавливающей способностью обладает эспарцет и травосмеси. Общей выявленной тенденцией при возделывании многолетних трав является снижение кислотности среды почвенного раствора. С повышением продолжительности возделывания многолетних трав содержание гумуса в почве возрастает и изменяется с низких до слабо- и среднегумусированных значений. Наиболее эффективно накопление гумуса протекает при возделывании люцерны 5 и 6 года пользования, эспарцета 5 года и злаково-бобовой травосмеси 6 года. Возделывание многолетних трав способствует также накоплению обменного калия, подвижного фосфора и общего азота.

Согласно значениям интегрального показателя наиболее интенсивно происходит восстановление свойств пахотного горизонта серой лесной почвы Предкамья РТ при возделывании люцерны 6 года пользования, эспарцета 5 года пользования и злаково-бобовой травосмеси (клевер+злаки) 6 года пользования.

## ВОЗДЕЙСТВИЕ МОДЕЛИРУЕМЫХ УСЛОВИЙ МАРСА НА СТРУКТУРУ СООБЩЕСТВ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ ПУСТЫННЫХ ПОЧВ

Крючкова М.О.

ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*margo\_kruchkova@mail.ru*

В связи с бурным развитием астробиологии внимание ученых обращено к изучению пределов выживаемости и возможностей развития микроорганизмов при экстремальных воздействиях. Целью данной работы был анализ изменения сообществ микроскопических грибов пустынных почв при воздействии факторов, моделирующих условия Марса, – высоких доз ионизирующего излучения в режиме низких температуры и давления.

Объектами исследования были образцы верхних гумусовых горизонтов: SN – серозема (Aridic Calcisols) из пустыни Негев; S1 – серо-коричневой почвы (Xerosols) с неполно развитым профилем из горной пустыни Марокко. Облучение проводили при температуре -50°C и давлении 1 торр высокими дозами  $\gamma$ -излучения 10 и 100 Мрад. Грибы выделяли методом глубинного посева почвенной суспензии, приготовленной в горячей (52°C) стерильной воде, на твердые питательные среды Чапека, щелочной агар и Чапек с добавлением глицерина. Посевы культивировали при 4, 25 и 37°C. Оценивали численность колониеобразующих единиц (КОЕ), разнообразие, видовую структуру грибных сообществ. Биомассу грибов определяли методом прямой люминесцентной микроскопии при окрашивании калькофлюором белым.

В необлученных исходных образцах обеих почв выявлены численность  $10^3$ - $10^4$  КОЕ/г и суммарное разнообразие около 20 видов. Структура и видовой состав несколько различались: в SN доминировали представители родов *Aspergillus*, *Actinomucor* и *Zygorhynchus*, в S1 – помимо *Aspergillus* также *Penicillium* и *Mucor*.

Облучение привело в обеих почвах к увеличению лаг-фазы при росте грибных колоний, возрастанию численности на 1-2 порядка до  $10^5$  КОЕ/г, существенному изменению видовой состава и структуры грибных сообществ. В облученных образцах резко возросла численность КОЕ и встречаемость нескольких устойчивых видов, бывших редкими или типичными в исходных почвах: в SN- *A. niger* и *A. fumigatus*, в S1- *Aspergillus niger*.

При дозе 100 Мрад число выделенных видов снизилось почти вдвое. При меньшей дозе 10 Мрад сумма выделенных видов осталась такой же, как в исходной почве, но важно подчеркнуть, что изменился набор видов. Из облученных образцов были выделены виды, не встречавшиеся в исходных образцах, – *Emericella nidulans*, *Phialophora fastigiata*, *Rhodotorula mucilaginosa*, представители родов *Acremonium*, *Absidia*, *Aspergillus*, *Penicillium*. Вероятно, увеличение численности способных к росту грибных пропагул устойчивых видов и появление в составе сообществ новых видов является результатом активации глубоко покоящихся спор ионизирующим излучением.

## ТЕМПЕРАТУРНАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ АКТИВНОСТИ ГИДРОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ В СОВРЕМЕННЫХ И ПОГРЕБЕННЫХ ПОЧВАХ

Кузнецова И.Н.

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

*kuz.irene@gmail.com*

Разложение органических соединений в почве осуществляется посредством серии энзиматических реакций, температурная чувствительность которых не одинакова при низких и высоких концентрациях субстрата. Зависимость скорости ферментативных реакций от концентрации субстрата описывается уравнением Михаэлиса – Ментен, параметры которого определяют скорость реакции при насыщающих ( $V_{max}$ ) и лимитирующих ( $K_m$ ) количествах субстрата. Определение температурной чувствительности этих показателей является до сих пор нерешенной задачей и необходимо для моделирования и прогнозирования процессов разложения органического вещества почвы в условиях глобального потепления климата.

Мы применили новый метод определения ферментативной активности, основанный на использовании флюорогенно-меченых субстратов, при гидролизе которых образуется флюоресцирующее соединение, метилумбеллиферон (MUF). Этот метод, позволяет проводить измерение ферментативной активности в одинаковых единицах (мкМ MUF), что делает возможным сравнение активности ферментов, осуществляющих разные функции.

Мы определили кинетические показатели ферментативной активности и ее зависимость от температуры в образцах современных и погребенных почв для серии гидролитических ферментов, поступающих в почву с остатками растительного и животного происхождения: целлюлозы (целлюбиогидролаза и  $\beta$  – глюкозидаза), гемицеллюлозы (ксиланаза) и хитина (хитиназа).

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

## **ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРЫ ПОЧВЕННОГО ПОКРОВА ВОСТОКА ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ**

**Лазарева М.А.**

ФГБНУ Центральный музей почвоведения им. В.В. Докучаева, Санкт-Петербург, Россия

*margoflams@mail.ru*

Было проведено картирование и создана цифровая почвенная карта (ЦПК), масштаба 1: 200 000, для территорий моренной, зандровой равнин, низменности, а также озерно-ледникового и холмисто-моренного ландшафтов Востока ЛО.

Почвы были названы в соответствии с Классификацией почв России 2004 года.

На карте, помимо контуров естественных почв и почвенных комбинаций, впервые выделены контуры:

- непочвенных образований;
- почв первичного ствола почвообразования;
- агропочв в современных границах сельскохозяйственных угодий;
- почвенных комбинаций, характерных для населенных пунктов, садоводств;
- антропогенно-нарушенных почв.

На основе созданной ЦПК уточнены закономерности распространения естественных почв, охарактеризовано современное состояние почвенного покрова и выявлены особенности изменения его структуры для Востока ЛО.

В связи со сложностью ландшафта, повышенной эрозионной опасностью, освоенность территории Востока ЛО невысокая, основные массивы заняты естественными почвами.

Максимальное количество НПО, почв первичного ствола почвообразования, антропогенно-нарушенных, антропогенных почв и почвенных комбинаций, наблюдается в южных районах Востока ЛО, минимальное – в северных.

Почвы первичного ствола почвообразования в исследуемых районах не часто встречаются, в основном находятся в комплексах с естественными почвами, НПО.

Антропогенно-нарушенные, а именно торфоземы и турбированные почвы, напротив, являются широко распространенными почвами всей территории Востока ЛО.

Ареалы агроземов и агропочв тесно связаны с распространением естественных почв. В центре контуров часто находятся населенные пункты с различными комбинациями почв с НПО.

В условиях холмисто-моренного ландшафта распространены сочетания агроземов текстурно-дифференцированных, агроземов окисленно-глеевых и торфоземов.

В условиях озерно-ледникового ландшафта встречаются сочетания агроземов альфегумусовых, агроземов окисленно-глеевых, торфоземов; комплексы агроземов текстурно-дифференцированных, агроземов структурно-метаморфических, агроземов окисленно-глеевых.

Для территории моренной равнины характерны мозаики агроземов альфегумусовых (пески на моренных суглинках) и агроземов текстурно-дифференцированных (моренные суглинки); комплексы агроземов текстурно-дифференцированных, агроземов окисленно-глеевых, торфоземов.

На территории зандровой равнины встречаются комплексы агроземов альфегумусовых и торфоземов.

В условиях низменности распространены комплексы агроземов текстурно-дифференцированных и торфоземов.

## **АНТАРКТИЧЕСКОЕ ПОЧВОВЕДЕНИЕ: ПРОБЛЕМЫ, ДОСТИЖЕНИЯ, ПЕРСПЕКТИВЫ**

**Лупачев А.В.**

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

*a.lupachev@gmail.com*

Почвы Антарктиды - уникальный биологический объект, требующий всестороннего и детального изучения. Это субстрат для произрастания немногочисленных низших и единичных высших растений, единственная доступная экологическая ниша для множества представителей мезофауны, микробиоты. Генезис, строение, экологические функции и прочие важнейшие характеристики антарктических почв

исследуются зарубежными специалистами на протяжении многих лет. Несмотря на ежегодные экспедиции и крупнейшую сеть полярных станций - масштабное исследование почв российскими учеными началось сравнительно недавно (менее 10 лет назад). Теоретические и методические подходы классического почвоведения зачастую неприменимы в Антарктиде или требуют значительной корректировки в связи с физико-географическими, климатическими и другими особенностями территории. Перспективными направлениями являются: изучение взаимодействия органической и минеральной составляющей почв; развитие учений о принципиально новых механизмах почвообразования; определение степени и характера антропогенного воздействия и др.

Работы выполнены при финансовой поддержке РФФИ (15-04-06118а; 15-29-02629офи-м; 16-04-01050а).

### **ПОЧВЫ АРХЕОЛОГИЧЕСКОГО ПОСЕЛЕНИЯ «КАЛМЫКОВКА» ЛЕСОСТЕПНОЙ ЗОНЫ САМАРСКОГО ПОВОЛЖЬЯ**

**Овчинников А.Ю.**

ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пушкино, Россия  
*ovchinnikov\_a@inbox.ru*

На археологическом поселении «Калмыковка» лесостепной зоны Самарской области зафиксированы два разновременных культурных слоя, датированные археологами: один - эпохой неолита (VII-V тыс. до н.э.), другой – эпохой бронзы (III-II тыс. до н.э.). Выявлено некоторое таксономическое различие почвенных профилей, что, по-видимому, связано с антропогенной проработанностью почвы, как в раннем и среднем голоцене, так и в XX веке н.э.

Анализ почв фоновое разреза и археологического раскопа выявил разницу в их морфологическом строении. Существенно различается мощность профилей, антропогенная проработанность, состав почвообразующих пород. Стратиграфия двух профилей практически идентична, но профиль археологического раскопа более вытянутый по сравнению с фоном за счет антропогенного воздействия и действия мезобиоты; в данном профиле обнаружены культурные слои, в то время как почва в фоновом разрезе не затронута антропогенезом. Наличие двух разновременных культурных слоев подтверждается артефактами, диагностированными разными временными интервалами. Необходимо отметить, что культурные слои в достаточной мере фиксируются морфологически (стратиграфией горизонтов), а также выделяются по некоторым физико-химическим показателям.

Детальный анализ археологического объекта и прилегающей территории как археологами, так и почвоведцами, не вызывает сомнения в том, что при организации поселения, в прошлые эпохи, учитывались: географическая привязка территории, ландшафтные экспозиции, русло и уровень реки р. Сок. Смена палеогеографической обстановки, по-видимому, влияла на полноводность реки, а возможно на изменение ее русла, что, несомненно, повлекло за собой перенос вглубь водораздельной поверхности места поселения, организованного уже в эпоху бронзы.

Физические и химические методы исследования почв, также подтверждают их различия. Анализ гранулометрического состава почв на памятнике «Калмыковка» и сравнение этих характеристик с данными, полученными на других объектах Самарской области, свидетельствуют о том, что почвы приобретают более легкие фракции в направлении от водораздела к речным террасам и склонам. Иными словами, за счет меандрирования русла и изменения уровня рек изменяется и гранулометрический состав прирусловых и притеррасных территорий, вероятно, за счет аккумуляции фракций песка. Скорее всего, содержание гумуса также связано с изменением уровня реки. Меньшие значения в подгумусовой части профиля почвы археологического раскопа, видимо, связаны с действием реки и с влиянием человека, то есть, во время паводков гумус попросту выносился вместе с минеральной массой. Кроме того, повышение уровня реки приводило к усилению процессов склонового смыва, что оказывалось неблагоприятным для поселения в данном месте.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ проект № 15-04-04418а.

### **ПРИМЕНЕНИЕ ГЕОИНФОРМАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ ДЕГРАДАЦИИ И НЕИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЗЕМЕЛЬ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОГО НАЗНАЧЕНИЯ**

**Огородников С.С.**

ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия  
*sir.ogorod@yandex.ru*

В условиях реализации политики импортозамещения становится необходимым вовлекать в активное использование территории, которые по тем или иным причинам ранее не использовались.

При этом возникают следующие задачи:

1. Оценить экономический ущерб, который был нанесен почве за время её не использования.
2. Выявить признаки неиспользования, в соответствии с нормативно-правовыми актами.

3. Оценить состояние землепользования, дать рекомендации по его улучшению.

Применение ГИС является перспективным методом для успешного решения данных задач.

Оценка экономического ущерба проводится в соответствии с «Методикой определения размеров ущерба от деградации почв и земель» (1994 г.). В соответствии с данной методикой, исследуемая территория разделяется на участки, относящиеся к той или иной степени деградации. Построение картограмм деградации осуществляется в программе QGis2.10.1. Преимуществами такого подхода является с одной стороны удобство и простота в построении картограмм, а с другой легкость вычисления площади контуров имеющих различную степень деградации.

Использование космоснимков высокого разрешения позволяет выявить признаки неиспользования земель. Перечень данных признаков, с учетом особенностей ведения сельскохозяйственного производства или осуществления иной связанной с сельскохозяйственным производством деятельности, указан в Постановлении Правительства Российской Федерации № 369 от 23 апреля 2012 г. Между тем, до настоящего времени не разработана методика определения степени залесенности, закустаренности, заболочивания и закочкарности. Поэтому даже если признаки неиспользования выявлены, экспертное заключение не может быть обоснованным. В связи с этим предлагается разработать методику определения неиспользования земель сельскохозяйственного назначения на основе анализа космоснимков высокого разрешения.

Преимущества данного подхода в том, что, во-первых, нет надобности в выезде на объект, всё исследование может быть проведено дистанционно, а во-вторых, использование ряда космоснимков, сделанных на протяжении нескольких лет, позволит доказать, что ухудшение состояния произошло именно за то время, когда участок находился в собственности конкретного пользователя.

Наконец, использование программы SAS Planeta позволяет совместить снимки высокого разрешения с данными публичной кадастровой карты, выявить проблемы землепользования, такие как нарушение охранных зон, самовольный захват территории и т.д.

Таким образом, комплексное применение ГИС технологий позволит решить целый ряд проблем в области землепользования, землеустройства и оценки деградации почв.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ УГЛЕРОДА МИКРОБНОЙ БИОМАССЫ В ПРОФИЛЕ СЕРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВЫ ПРИРОДНЫХ И СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ЭКОСИСТЕМ

Попова Т.А.<sup>1</sup>, Ходжаева А.К.<sup>2</sup>, Крамарева Т.Н.<sup>1</sup>

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

*tatyanka94\_94@mail.ru*

Существует много разных подходов к определению почвенной микробной биомассы: расчетные методы определения углерода и азота микробной биомассы на основе показателей численности разных групп микроорганизмов, биохимические методы, физиологические методы и др. Разные подходы, по сути, определяют разные составляющие общей биомассы почвенных микроорганизмов, поэтому получаемые результаты часто мало сопоставимы между собой. В связи с этим, необходимы исследования для широкого ряда объектов для уточнения соотношения между микробными пулами, определяемыми разными методами.

Цель работы – сравнить разные методы определения содержания углерода микробной биомассы на примере серой лесной почвы трех экосистем.

Исследование проводили с образцами серой лесной почвы (СЛ), отобранными с глубины 0-20, 20-40, 40-60 и 60-100 см на пашне, лугу и в лесу. Для определения содержания углерода микробной биомассы ( $C_{MB}$ ) применяли метод субстрат-индуцированного дыхания (СИД), метод регидратации-экстракции, а также содержание углерода микробной биомассы рассчитывали по кумулятивному количеству  $C-CO_2$  образующегося за 14 суток инкубации (биокинетический метод).

Сравнение полученных результатов показало, что не зависимо от способа определения в верхнем 0-20 см слое всех исследуемых вариантов серой лесной почвы содержание  $C_{MB}$  было наибольшим (22-106 мг/100 г), однако в зависимости от способа определения варианты серой лесной почвы образовали следующие убывающие ряды: лес > луг > пашня (для метода регидратации-экстракции) и лес > пашня > луг (для СИД и биокинетического метода). Содержание  $C_{MB}$  во всех исследуемых вариантах серой лесной почвы определенное биокинетическим методом было в 1.2-3 раза выше, чем методом СИД. При сравнении результатов биокинетического анализа и метода регидратации-экстракции, содержание  $C_{MB}$  было в 1.5-3 раза выше при определении биокинетическим способом только в пахотном варианте, в луговом в верхнем 0-20 см слое и в лесном на глубине 60-100 см. В остальных вариантах луга и леса содержание  $C_{MB}$  было в 1.1-3 раза выше при определении содержания  $C_{MB}$  методом регидратации-экстракции. С глубиной содержание  $C_{MB}$  значительно уменьшалось во всех вариантах не зависимо от способа определения.

## ЭМИССИЯ CO<sub>2</sub> ПОЧВЫ ЛЕСОВ ПОДТАЕЖНОЙ И ЛЕСОСТЕПНОЙ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПОДЗОН ЕВРОПЕЙСКОЙ РОССИИ

**Роговая С.В., Иващенко К.В.**

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

*rogovaja7@mail.ru*

Эмиссия CO<sub>2</sub> почвой обусловлена дыханием микроорганизмов, корней растений и зависит от гидротермических условий и ее физико-химические свойств. Работа сфокусирована на оценке пространственно-временной изменчивости эмиссии CO<sub>2</sub> почвы леса и дыхательной активности ее микробного компонента.

Объектом исследования были дерново-подзолистая почва хвойно-широколиственного леса и чернозем типичный широколиственного леса (0-10 см, C<sub>орг</sub> 2.19 и 4.81%, рН<sub>H2O</sub> 4.64 и 5.78 соответственно) подтаежной (Московская обл.) и лесостепной (Курская обл.) растительных подзон. Эмиссию CO<sub>2</sub> (закрытая камера, LI-820), температуру и влажность почв измеряли (май-июнь-июль 2015 г.) в 5-ти пространственно удаленных точках площадки 20×20 м. В почвенных образцах (0-10, 10-20, 20-30 см, всего 90) определяли углерод микробной биомассы (C<sub>мик</sub>, метод субстрат-индуцированного дыхания) и скорость базального дыхания (БД). Рассчитывали удельную скорость микробного дыхания:  $qCO_2 = БД / C_{мик}$ . В 3-х точках каждого леса измеряли эмиссию CO<sub>2</sub> нижележащих слоев (верхние 10 и 20 см снимали, время ожидания 30 мин). Отмечено высокое пространственное варьирование эмиссии CO<sub>2</sub> почв изученных лесов (коэффициент вариации 43-61%). В июле отмечена наибольшая эмиссия CO<sub>2</sub>, которая на 70 и 37% больше, чем в мае для дерново-подзолистой и чернозема соответственно. Эмиссия CO<sub>2</sub> дерново-подзолистой почвы была в среднем выше, чем чернозема (27.1 и 15.5 г CO<sub>2</sub> м<sup>2</sup> сут<sup>-1</sup> соответственно), однако эти величины не различались значимо ( $p = 0.05$ ). Взаимосвязи между эмиссией CO<sub>2</sub>, температурой и влажностью лесных почв не обнаружено. Последовательное удаление верхних почвенных слоев приводило к возрастанию эмиссии CO<sub>2</sub> нижних (в 1.5-2.3 раза). Величина C<sub>мик</sub> и скорость БД дерново-подзолистой почвы верхнего 10 см слоя была почти в 5 раз и 1.6 раза меньше такового чернозема (в среднем 302 и 1462 мкг С г<sup>-1</sup> почвы и 0.58 и 0.93 мкг

CO<sub>2</sub>-С г<sup>-1</sup> почвы ч<sup>-1</sup> соответственно). Содержание C<sub>мик</sub> и БД нижних слоев уменьшалось в среднем на 27-43% по сравнению с верхним. Величина  $qCO_2$  дерново-подзолистой почвы (0-10 см) была в 2.5-4.5 раза больше таковой чернозема, что может иллюстрировать более «напряженное» функционирование ее микробного сообщества по сравнению с черноземом.

Таким образом, эмиссия CO<sub>2</sub> дерново-подзолистая почвы, характеризующаяся меньшими величинами C<sub>мик</sub> и БД, сопоставима с таковой чернозема (большие C<sub>мик</sub> и БД). Нижележащие слои лесных почв могут быть существенным резервуаром CO<sub>2</sub>.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 15-04-00915 и 16-34-00398.

## ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ ВЕРМИКОМПОСТА НА АГРОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЧЕРНОЗЕМА ОБЫКНОВЕННОГО И УРОЖАЙНОСТЬ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ПОЛЕВОГО ОПЫТА

**Сенкевич О.В.**

ФГБОУ ВО Красноярский государственный аграрный университет, Красноярск, Россия

*senk-olesya@mail.ru*

Современная действительность требует экологизации земледелия, разработки и внедрения новых агротехнологий с использованием удобрений, полученных на основе биоконверсии органических отходов. Целью данного исследования стала оценка влияния вермикомпоста (ВК) – продукта переработки органических отходов красным калифорнийским червем *Eisenia foetida* – на агрохимические показатели чернозема обыкновенного и урожайность пшеницы в условиях полевого опыта, подбор оптимальной дозы внесения.

Полевой опыт проводился в течение 4-х лет на черноземах обыкновенных по следующей схеме: фон N60P30 – контроль; фон + ВК эквивалентно N60; фон + ВК эквивалентно N120. Вермикомпост вносили в почву разово при закладке опыта, минеральные удобрения – ежегодно. Тестовая культура – яровая пшеница сорта Новосибирская 15. При закладке опыта и ежегодно после уборки урожая отбирались почвенные образцы, в которых определяли агрохимические показатели общепринятыми методами.

Структура углерода гумуса за исследуемый период во всех вариантах практически идентична, что объясняется сложностью и длительностью процессов гумусообразования. Преобладает стабильный гумус, на его долю приходится 85-86%. Среди подвижных форм преобладают щелочногидролизующие соединения, их доля составляет 13-14%. Доля водорастворимых соединений не превышает 1%. Общее содержание гумуса достоверно повысилось на 11% в варианте с двойной дозой внесения вермикомпоста по сравнению с контролем, однако различия между удобренными вариантами статистически не доказаны.

В удобренных вермикомпостом вариантах по сравнению с фоном произошло снижение содержания азота в преобладающей аммонийной форме на 82%, что должно быть связано с активным потреблением его растениями и подтверждается данными по урожайности пшеницы в этих вариантах. Анализ корреляции показал сильную линейную зависимость этих двух факторов, коэффициент корреляции составил 0,998.

Внесение вермикомпоста в черноземные почвы привело к достоверному повышению урожайности пшеницы в среднем на 40%, причем статистических различий по урожайности зерна между разными дозами внесения вермикомпоста не наблюдалось ни в первый год исследований, ни в последующие. Это дает нам основание считать оптимальной дозу вермикомпоста, эквивалентную N60.

### **УГЛЕРОД ВОДОРАСТВОРИМЫХ СОЕДИНЕНИЙ ЛЕСНЫХ ПОЧВ И ЕГО ИЗМЕНЕНИЕ В ХОДЕ ПОСТПИРОГЕННЫХ СУКЦЕССИЙ**

**Старцев В.В., Дымов А.А.**

ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

*startsev@ib.komisc.ru*

Водорастворимые органические соединения (ВОС) почв играют важную роль в функционировании лесных экосистем. Пожары являются естественноисторическим фактором изменения лесных экосистем, при этом данные по постпирогенному изменению водорастворимых форм углерода носят единичный характер. Цель данной работы заключалась в оценке содержания углерода водорастворимых соединений в почвах, формирующихся в различных типах леса, и его изменения в ходе постпирогенных сукцессий

Исследования проводили на территории Республики Коми и Красноярского Края. Были исследованы почвы сосняков лишайникового (Сл), бруснично-зеленомошного (Сбр), кустарничково-сфагнового (Ссф), ельника чернично-зеленомошного (Е) и лишайничника кустарничково-зеленомошного (Л). Для оценки постпирогенных изменений содержания углерода ВОС изучены почвы сосняков лишайниковых, пройденных пожарами 1, 2, 10 и 16 лет назад, сосняков бруснично-зеленомошных, пройденных пожарами за 50 дней до отбора образцов, ельника чернично-зеленомошного, пройденного пожаром 9 лет назад, а так же почвы сосняков кустарничково-сфагновых с возрастом 1 и 3 года после пожара и лишайничников, пройденных пожарами 2, 6, 22 и 50 лет назад.

При анализе общего углерода (ТС) выявлено, что максимальное его содержание характерно для подстилок (4.39-19.32 мг/г). По содержанию ТС в подстилках естественные фитоденозы можно выстроить в ряд: Сл=Е<Л<Сбр<Ссф. Основная тенденция пирогенного изменения содержания ВОС наблюдается в уменьшении концентрации общего углерода в органических горизонтах, подвергнувшихся воздействию огня. В подстилках Сбр, пройденных беглыми низовыми пожарами происходит уменьшение ТС в 2-5 раз. В почвах Сл выявлено уменьшение содержания ТС в 7-12 раз на участке 1 год и в 2-4 раза через 2 года после пожара. При восстановлении растительности на участках, пройденных пожарами 10 и 16 лет назад, содержание ТС приближалось к фоновому. В почве ельника, пройденного пожаром 9 лет назад, ТС в 4.5 раза меньше фонового. На участках Ссф, пройденных пожарами 1 год назад, содержание ТС в 15-16 раз меньше, чем в фоновом, а на участке, пройденном пожаром три года назад, содержание ТС меньше в 4 раза. В почвах лишайничников, пройденных пожаром 2 года назад, содержание ТС в подстилке в 5-7 раз меньше фонового. По мере восстановления растительности наблюдается увеличение содержания ТС в подстилках. На участке 6 лет после пожара ТС был меньше в 4 раза, а в пройденных пожарами 22 и 55 лет назад в 2-2.5 раза.

Работа выполнена при поддержке грантов МК-2905.2015.4 и РФФИ № 15-34-50981 мол\_нр.

### **ВЛИЯНИЕ ДОЗ МАРГАНЦЕВОГО МИКРОУДОБРЕНИЯ НА ЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ ЗЕРНА ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ**

**Ткач Е.П.**

ГВУЗ Ужгородский национальный университет, Ужгород, Украина

*tkachelena84@gmail.com*

Содержания микроэлементов в растениях, их способность к аккумуляции, распределение по тканям и органам, влияние на рост, развитие, продуктивность сельскохозяйственных культур зависит от физиологической роли металлов, видовых и сортовых особенностей культур, что в значительной степени генетически детерминировано. Аутоэкологическая реакция растений на воздействие микроэлементного состава почвы может меняться при действии многочисленных факторов и требует исследований в определенной системе почва - растение или почва - удобрение - сельскохозяйственная культура. Цель работы было изучение влияния доз марганцевого микроудобрения при дождевой обработке семян озимой пшеницы на элементный состав зерна в условиях высокой обеспеченности почвы биодоступными формами отдельных микроэлементов (Mn, Cu, Zn, Co).

Допосевную обработку семян озимой пшеницы сорта Артемида проводили за сутки до посева. В качестве подпитки использовали растворы сульфат марганца в диапазоне концентраций от 0,001 до 1,0%. Контроль - вариант без обработки. Элементный состав зерна и почвы определяли методом ИСР-спектрометрии на эмиссионном спектрометре ИСР-MS Agilent 7700х. Для установления количественных параметров перехода микроэлементов из почвы в растения пшеницы рассчитаны коэффициенты биологического поглощения (КБП) относительно содержания подвижных форм.

Результаты исследований указывают на зависимость содержания марганца в зерне от концентрации элемента, использованной при допосевной обработке семян. Общая закономерность этой зависимости заключалась в том, что по мере уменьшения дозы марганца, содержание его в зерне росло, но при этом было меньше, чем в контрольном варианте. Отметим, что в контроле содержания марганца в зерне несколько превышало ПДК (предельно допустимую концентрацию). Предполагается, что при допосевной обработке семян растворами марганца 0,01 и 0,001%-ной концентрации, марганец может проявлять себя как микроэлемент, не вызывая негативного действия на формирование урожая и содержания в зерне ценного элемента.

Установлено, что марганец проявляет антогонизм по отношению к накоплению меди в зерне, и не влияет на содержание цинка и кобальта. По КБП марганец, цинк и медь накапливаются в зерне пшеницы (КБП > 1), что объясняется большой потребностью зерновых культур, в частности озимой пшеницы в данных микроэлементах.

### **ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ КУЛЬТУРНЫХ СЛОЕВ ГОРОДИЩА БОЛГАР ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТАХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТЕРРИТОРИИ**

**Федотов А.Э.**

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

*anri-arhi@mail.ru*

Произведено исследование содержания макро- и микроэлементов и уреазной активности культурного слоя средневекового городища Болгар (XII-XIV вв. н.э.). Исследование почв проводилось на трех разных участках городища, характеризующихся различной интенсивностью антропогенного воздействия в прошлом.

Показано, что химические и микробиологические свойства почв существенно варьируют в зависимости от характера использования территории. В первую очередь это связано с содержанием фосфатов. Так, в частности, в раскопе 179 (разрез Б-373) в слое, который относится к домонгольскому периоду, отмечено резкое повышение содержания фосфора и других микроэлементов вышележащих слоев. В этом же слое зафиксировано наибольшее значение биологической активности, что указывает на наиболее интенсивное воздействие на почву в указанное время. Близкие показатели характерны и для раннеордынского периода.

На стыке раннеордынского и позднеордынского периодов установлено снижение содержания ряда макро- и микроэлементов и биологической активности, что касается позднеордынского периода, то в отложениях этого времени зафиксирован пик содержания ряда макро- и микроэлементов, в то время как значение биологической активности практически отсутствует.

Таким образом, высокие значения уреазной активности, свидетельствует, о том, что на данной территории в позднеордынский период складывался навоз, либо располагался загон для скота, что подтверждается большим содержанием кератинолитических грибов и фосфатазной активности.

В раскопе 191 зафиксировано снижение содержание всех макро- и микроэлементов биогенной природы и биологической активности. Это позволяет сделать вывод, что на данной территории городища располагалась жилая зона без содержания скота.

В раскопе 194 содержание макро- и микроэлементов и показатели биологической активности находятся на уровне фоновых значений.

Таким образом, на территории городища Болгар на разных участках памятника, культурные слои имеют резкие различия, вызванные различной интенсивностью и характером использования территории. Наибольшие различия выявлены в раскопе 179 в районе базара, где имело место максимальное антропогенное воздействие на почву в раннеордынский и позднеордынский периоды, в то время как в финале позднеордынского времени данная территория использовалась в качестве загона для скота. В жилой части городища (раскоп 191), территория использовалась для проживания. В административной зоне (раскоп 194) антропогенная деятельность не вызвала изменений химических и микробиологических свойств почв.



## ДИНАМИКА ПОЧВЕННЫХ ЗАПАСОВ С И N ПОД ПЛАНТАЦИЯМИ БЫСТРОРАСТУЩИХ ФОРМ ДЕРЕВЬЕВ

Фролова Г.Г., Припутина И.В.

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

*gulфина.frolova@gmail.com*

Вопросы сохранения плодородия лесных почв при интенсивном плантационном лесовыращивании изучены пока слабо, в т.ч., отсутствуют прогнозные оценки воздействия лесных плантаций быстрорастущих форм деревьев на почвенные запасы углерода и азота. При этом, интенсивность вовлечения С и N в биогенный круговорот под искусственными насаждениями во многом зависит от густоты и схем посадки деревьев.

Целью данного исследования, основанного на использовании методов имитационного математического моделирования, был анализ продуктивности и влияния лесных плантаций с разной плотностью посадки деревьев на запасы С и N в почвах. В качестве инструмента модельного прогноза использована одна из версий системы моделей EFIMOD (Komarov et al., 2003; Комаров и др., 2015). Имитировался рост плантаций нативной формы осины (*Populus tremula* L.) в сценарии короткого оборота рубки (30 лет) без проведения рубок ухода и без использования азотных удобрений. Модельные эксперименты выполнены на примере почвенно-климатических условий, соответствующих светло-серым лесным почвам Республики Марий-Эл. В модельных экспериментах рассмотрено 45 вариантов схем посадок. Ширина междурядий и расстояние между деревьями в ряду варьировали от 0.5 м до 6 м.

Наибольшие показатели биомассы (120-150 т га<sup>-1</sup>) были получены для вариантов посадки с междурядьями 4-6 м и расстоянием между деревьями в ряду от 1 до 6 м. Максимальные значения продукции были характерны для схем с междурядьями 4 м (148-152 т га<sup>-1</sup>). Запас древесины, полученный в этих вариантах при имитации рубки главного пользования, составил 308.3 м<sup>3</sup> га<sup>-1</sup> при схеме посадки 1x4 м, и 315.5 м<sup>3</sup> га<sup>-1</sup> – в посадках 1.5x4 м.

Для почв под плантациями осины со схемами посадки 4x1 и 4x1.5 м в модельном эксперименте показан рост запасов С по сравнению с начальным пулом органического вещества: соответственно, на 1.5 и 1.6 кг м<sup>-2</sup> за 30 лет. Одновременно, в этих вариантах отмечаются минимальные потери азота - около 0.06 кг м<sup>-2</sup> по сравнению с первоначальными запасами. Для других вариантов схем посадки получены меньшие показатели продуктивности плантаций и худшие показатели динамики почвенного плодородия.

Таким образом, по результатам имитационного моделирования для плантаций на светло-серых лесных почвах Республики Марий-Эл наиболее эффективными схемами посадки осины, обеспечивающими высокую продуктивность древостоев и сохранение плодородия почв, являются схемы 4x1 и 4x1.5 м.

## ФИЛОГЕОГРАФИЯ КОСМОПОЛИТНЫХ ВИДОВ ДОЖДЕВЫХ ЧЕРВЕЙ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИИ

Шеховцов С.В.<sup>1</sup>, Базарова Н.Е.<sup>1</sup>, Голованова Е.В.<sup>2</sup>, Держинский Е.А.<sup>3</sup>, Пельтек С.Е.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия; <sup>2</sup>Омский государственный педагогический университет, Омск, Россия; <sup>3</sup>Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия

*shekhovtsov@bionet.nsc.ru*

Дождевые черви – один из важнейших компонентов почвенной фауны. Во многих биотопах представители этой группы занимают первое место по суммарной биомассе. Соответственно, они оказывают огромное влияние на структуру и свойства почвы и на состав почвенных сообществ.

На территории России обитает около 50 видов дождевых червей. Около десяти из них – космополиты западноевропейского происхождения. Эта группа видов успешно вытесняет местную люмбрикофауну, не только в антропогене, но и в естественных местообитаниях. При большой практической важности космополитных видов они на настоящий момент изучены недостаточно. Высокое генетическое разнообразие, характерное для большинства видов дождевых червей позволяет исследовать генетическую структуру популяций и в некоторых случаях даже проследить пути их расселения. Целью нашей работы было изучение генетического разнообразия космополитных видов дождевых червей, встречающихся на территории России, на основании последовательностей митохондриальной и ядерной ДНК. Мы проанализировали образцы видов *Aporrectodea caliginosa*, *A. rosea*, *Octolasion tyrtaeum*, *Lumbricus rubellus* и *Dendrobaena octaedra* из различных популяций с территории России, а также Белоруссии и Казахстана. Было проведено сравнение полученных данных с зарубежными работами по данным видам.

Было показано, что каждый из изученных видов представлен несколькими генетическими линиями. Большинство их имеют западноевропейское происхождение, хотя мы также обнаружили несколько линий, которые не были еще обнаружены в выборках из Западной Европы. В целом, можно сказать, что для

большинства генетических линий генетическое разнообразие популяций с Восточно-Европейской равнины, Урала и Сибири сравнимо с таковым у западноевропейских популяций. Это предполагает высокую интенсивность интродукции.

Данные по распространению исследованных видов в сравнении со сводкой Всеволодовой-Перель (1997) показывают, что их ареал продолжает расширяться на восток: виды, ранее не заходившие за Урал, теперь обнаруживаются даже в Западной Сибири.

Работа поддержана грантом Президента Российской Федерации МК-6685.2015.4.

## **РАЗЛОЖЕНИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ И УГЛИСТЫХ ОСТАТКОВ В СЕРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВЕ И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА ЕЕ ДЫХАТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ**

**Шульгина М.А.<sup>1</sup>, Сапронов Д.В.<sup>2</sup>**

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

*m.schulghna@gmail.com*

Пожары приводят к изменениям компонентов экосистемы, в том числе почвы и её свойств. Цель исследования изучить изменение скорости выделения CO<sub>2</sub> из почвы при поступлении в неё растительных остатков и углей.

Динамика выделения CO<sub>2</sub> изучалась в лабораторных условиях. Для оценки скорости выделения CO<sub>2</sub> к образцам серой лесной почвы добавляли пшеничную солому, травянистые остатки (разнотравье) и древесину (осина, сосна), а также угли данных растительных материалов, полученные путем открытого сжигания и озоления в муфельной печи при 400°C. Инкубацию проводили в стеклянных флаконах объемом 100 см<sup>3</sup>, при 22°C и влажности 60% ППВ. Масса почвы и почвенных смесей, помещенных во флаконы, составляет 10 г, содержание растительных остатков и углей в почвенных смесях – 3%. Флаконы с исследуемыми материалами, отобранными в трехкратной повторности, проветривали 10-12 минут закрывали резиновыми пробками и инкубировали 3 часа. Затем проводили измерение конечной концентрации CO<sub>2</sub> на газовом хроматографе и рассчитывали скорость выделения C-CO<sub>2</sub> мкг/г/час. В течение двух дней измерения проводили дважды в сутки, потом через сутки, а через 3 недели – через двое суток.

Установлено, что при разложении растительных остатков выделяется большее количество CO<sub>2</sub>, чем при разложении углей. Это связано с тем, что растительные остатки легче подвергаются деструкции почвенными микроорганизмами, нежели угли. Пик выделения углекислого газа приходится на второй день измерения, а затем дыхание плавно снижается. При разложении углей в почве в атмосферу выделяется количество CO<sub>2</sub>, приблизительно равное фоновому дыханию, то есть выделению CO<sub>2</sub> из почвы. При рассмотрении деструкции углей в целом, можно отметить, что наибольшее дыхание отмечается при разложении травянистых углей, наименьшее – сосновых, к тому же, эмиссия CO<sub>2</sub> больше при разложении углей закрытого сжигания.

Из вышесказанного следует, что в течение небольшого периода времени после пожара образовавшиеся угли вносят небольшой вклад в эмиссию парниковых газов. Стойкость углистых остатков к деструкции способствует их аккумуляции в почве, что может приводить к изменению содержания углерода и изменению её физико-химических свойств.

## **ЭНДОФИТНЫЕ БАКТЕРИИ - ПЕРСПЕКТИВНЫЙ BIOTEХНОЛОГИЧЕСКИЙ РЕСУРС ДЛЯ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА**

**Щербakov А.В., Щербакoвa Е.Н., Чеботарь В.К.**

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

*avsherbakov@bisolbi.ru*

К настоящему времени в литературе накоплен достаточно обширный материал о бактериях, ассоциированных с высшими растениями и способных стимулировать их рост и развитие за счет синтеза необходимых для растения фитогормонов и витаминов, фиксации молекулярного азота, а также подавлять развитие бактериальных и грибных заболеваний. В данной работе мы придерживались именно классического определения термина «эндофитные бактерии», который включает в себя микроорганизмы, населяющие внутренние ткани здоровых растений, не вызывающие морфологические изменения и не несущие какого либо вреда для хозяина (Holliday, 1989; Schulz, 2006). Эндофитные бактерии были обнаружены внутри тканей и семян важнейших сельскохозяйственных культур, таких как рис, кукуруза, хлопок, картофель, сахарный тростник, пшеница и др. Есть предположение, что поддержание эндофитных сообществ микроорганизмов является универсальным свойством всех растений (Hallmann et al., 1997).

В наших работах в качестве объектов исследований на наличие эндофитных бактерий были выбраны различные растения: сфагновые мхи, хвойные и древесные культуры, виноград, пшеница и др. Было показано, что вегетативные побеги, семена, корневая система этих растений являются местообитанием для многочисленных эндофитных бактерий, населяющих эндосферу растений. Согласно нашим представлениям, сфагновые мхи являются более зависимыми, чем другие растения, от симбиозов с микроорганизмами, так как лишены настоящей корневой системы, а также способности поглощать питательные вещества из почвенных субстратов. Семена, вегетативные части хвойных растений также несут в себе эндофитные бактерии. Применение методов проточного секвенирования в данной работе для анализа эндофитных сообществ семян и вегетативных частей древесных растений, позволило более глубоко оценить истинные масштабы природного генетического разнообразия эндофитных микроорганизмов.

Таким образом, открываются большие перспективы по поиску, выделению и изучению новых видов эндофитных бактерий, положительно влияющих на развитие растений, с целью создания новых микробиологических препаратов для адаптивного растениеводства. Бактериальные эндофиты колонизируют те же экологические ниши, что и фитопатогенные микроорганизмы, поэтому рассматриваются как перспективный агент биоконтроля фитопатогенов. Эндофитные бактерии способны улучшать фосфорное питание растений, продуцировать ИУК и сидерофоры.

Работа поддержана грантом РФФИ 14-16-00146.

### **СТРУКТУРУ МИКРОБИОМА НУТА (*CICER ARIETINUM L.*) И АКТИВНОСТЬ ЭКСУДАЦИИ КОРНЕВЫХ ЭКЗОМЕТАБОЛИТОВ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ БОБОВО- РИЗОБИАЛЬНОГО СИМБИОЗА**

**Щербакова Е.Н.<sup>1</sup>, Андронов Е.Е.<sup>1</sup>, Гончар Л.Н.<sup>2</sup>, Чеботарь В.К.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>Национальный университет биоресурсов и природопользования, Киев, Украина

*alonagonchar@mail.ru*

Нут (*Cicer arietinum L.*) – ценная бобовая культура, имеющая огромное продовольственное значение во многих странах Азии, Африки, Европы и Америки, в повышении адаптационного потенциала и качественных и количественных показателей урожайности которого огромное значение играют симбиотические и ассоциативные бактериальные взаимодействия. В работе представлены результаты исследований таксономического разнообразия микроорганизмов ризосферы нута, активность колонизации растений интродуцируемыми штаммами, состав корневых экзосметаболитов в зависимости от вариантов предпосевной обработки. Показано, что эффективный симбиоз является важным фактором, обуславливающим формирование ризосферного микробиома представителями порядка *Rhizobiales* и влияет на численность и состав ризосферной микрофлоры. Исследованы процессы прорастания семян, активность ферментов антиоксидантной системы защиты, формирование эффективной растительно-микробной системы при участии клубеньковых, ризосферных штаммов бактерий, молибдена, интродуцированных в систему. Показано, что повышение эффективности растительно-микробной системы у нута существенно влияет на накопление зеленой массы растения, развитие корневой системы, а также увеличению урожайности. В условиях стерильных гнотобиотических систем изучены процессы колонизации корней интродуцируемыми штаммами *Mesorhizobium ciceri* и *Bacillus subtilis*. Максимальная численность интродуцируемых бактерий наблюдалась в вариантах с внесением молибдена (Mo), что установлено визуально с использованием CSLM и FISH. Таким образом, самодостаточный бобово-ризобийный симбиоз улучшает физиологический статус растения, повышая разнообразие в структуре микробного сообщества ризосферы через изменения активности эксудации низкомолекулярных экзосметаболитов, создает предпосылки для развития наиболее эффективных для растения ассоциативных микроорганизмов.

## **СЕКЦИЯ «БИОТЕХНОЛОГИЯ И ПРИБОРОСТРОЕНИЕ»**

### **PERFECT ELECTROSPUN NANOMATS WITH NEARLY CALIBRATED HOLES**

**Shlyapnikov Y.M., Mikheev A.Y., Morozov V.N.**

Institute of Theoretical and Experimental biophysics of Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia

*2miheev@gmail.com*

Electrospinning is widely used for fabrication of scaffolds, filtering and other materials. Recently a new technique was developed in which free-standing nanomats are formed by gas-phase neutralization of charged nanofibers. Here we report why such new technique is especially effective in producing nanomats with unique filtering and optical properties. Using a self-developed software, we showed that the distribution of holes size in the conventional electrospun nanomats deposited on electrodes is random, and large holes are always present. In contrast to that, a fraction of large holes in the new nanomats is greatly reduced presumably due to a preferable landing of charged nanofibers onto the largest holes, making the nanomats perfect filtering materials with nearly calibrated pores.

The authors acknowledge funding from the Russian Science Foundation (grant #15-15-00086).

### **ТЕСТ-СИСТЕМА АНАЛИЗА ПОЛИМОРФИЗМА D-ПЕТЛИ (МТДНК) ДОМАШНЕЙ СВИНЬИ SUS SCROFA D**

**Акопян Н.А., Зиновьева Н.А., Костюнина О.В.**

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства имени академика Л.К. Эрнста,  
Дубровицы, Россия

*norkan8888@mail.ru*

Изучение полиморфизма митохондриальной ДНК вносит существенный вклад в оценку биоразнообразия видов и пород сельскохозяйственных животных. Наиболее варибельным участком мтДНК является контрольная область или D-петля. Последовательности D-петли мтДНК крупного рогатого скота (*Bos taurus*), подразделяются на пять гаплогрупп: T, T1, T2, T3 и T4. Митохондриальная гаплогруппа T3 встречается наиболее часто, группа T4 была выявлена только у якутского крупного рогатого скота. На евразийском континенте группы T, T1, T2 и T3 встречаются у современных пород крупного рогатого скота Ближнего Востока, в то время как T, T2 и T3 характерны для европейских пород.

Мы исследовали варибельность митохондриальной ДНК посредством секвенирования региона D-петли трех пород крупного рогатого скота (холмогорская n=10, голштинская n=5, ярославская n=4) с использованием праймеров BigFor Beth BigF ACCCCCAAAGCTGAAGTTCT, 80 RevBeth 80r SAAGCATCCCCAAAATAAA, амплифицирующих фрагмент длиной 720 п.о. Для сравнения использовали последовательность с Accession No. V00654.

Анализ сиквенсов показал, что наиболее часто встречаемыми нуклеотидными заменами являлись точечные мутации в форме транзиций и трансверсий, выявленные у всех исследованных пород. У ярославской породы были идентифицированы мутации в виде инсерций. Делеций в пределах исследованной нами выборки не обнаружено. Анализ дендограммы, построенной на основании полиморфизма D-петли мтДНК, показал наличие кластеров, специфических для отдельных пород.

Таким образом, исследование полиморфизма мтДНК может быть использовано для оценки генетической структуры популяций, выявления генетических различий между породами. Исследования будут нами продолжены с привлечением расширенной выборки.

Исследования выполнены при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 14-36-00039.

### **БАКТЕРИАЛЬНАЯ ЦЕЛЛЮЛОЗА КАК ОСНОВА БИОКОМПОЗИТНЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ КОСТНОЙ ИНЖЕНЕРИИ**

**Архарова Н.А.<sup>1</sup>, Северин А.В.<sup>2</sup>, Хрипунов А.К.<sup>3</sup>, Ключковская В.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт кристаллографии им А.В. Шубникова Российской академии наук, Москва, Россия;

<sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова (химический факультет), Москва, Россия;

<sup>3</sup>ФГБУН Институт высокомолекулярных соединений Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

*natalya.arkharova@yandex.ru*

Внимание к созданию материалов наиболее приближенных к живым тканям стремительно растет. Особый интерес представляют полимерные материалы, обладающие структурой и свойствами своего естественного аналога. Среди природных полимеров, бактериальная целлюлоза (БЦ), синтезируемая

уксуснокислой бактерией *Gluconacetobacter xylinus* (отечественный штамм N 1629 CALU) обладает рядом свойств (способность к удерживанию до 98% влаги и ее длительному сохранению, легкая формуемость, механическая прочность, биосовместимость), которые делают ее перспективным материалом в этом направлении. Обнаружено, что структура бактериальной целлюлозы близка к структуре коллагена в костной ткани, а композиты на основе БЦ и гидроксиапатита (ГАП), как основного компонента минеральной составляющей костной ткани, являются перспективными материалами в костной инженерии.

В данной работе методами электронной микроскопии проведены исследования структурных особенностей и изучены свойства 3D композитных материалов на основе БЦ и наночастиц гидроксиапатита. Композиты БЦ/ГАП были получены двумя способами: 1) смешиванием водных суспензий БЦ и ГАП; 2) проведением синтеза ГАП в среде БЦ, варьируя массовые соотношения компонентов. Обнаружено, что нанокристаллы гидроксиапатита располагаются преимущественно осью с вдоль направления фибрилл бактериальной целлюлозы независимо от способа получения композита аналогично расположению минеральной составляющей костной ткани относительно фибрилл коллагена. Показано, что размеры нанокристаллов гидроксиапатита в композитах, полученных вторым способом, наилучшим образом коррелируют с данными о нанокристаллах минеральной составляющей костной ткани. Для сравнения физико-химических характеристик полученных композитов и костной ткани были проведены механические испытания, измерены изотермы сорбции/десорбции азота полученных образцов.

Установлено, что увеличение массовой доли бактериальной целлюлозы в композите приводит к уменьшению пористости, увеличению плотности и модуля Юнга композитного материала.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-32-50065 мол\_нр.

### **ИНКАПСУЛИРОВАННЫЕ В ОРГАНОСИЛИКАТНУЮ МАТРИЦУ ДРОЖЖЕВЫЕ КЛЕТКИ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ БИОРАСПОЗНАЮЩЕГО ЭЛЕМЕНТА БПК-БИОСЕНСОРА**

**Афонина Е.Л., Каманина О.А., Лаврова Д.Г., Понаморева О.Н.**  
ФГБОУ ВО Тульский государственный университет, Тула, Россия

*Still\_live@mail.ru*

В настоящее время остро стоит проблема очистки природных и бытовых вод от разного вида загрязнений. Общепринятая методика определения биохимического потребления кислорода (БПК) требует инкубирования насыщенной кислородом пробы в течение 5 или 20 суток. Для оперативного анализа разрабатываемый метод оценки БПК, основанный на использовании биосенсорных анализаторов. При разработке таких биоаналитических систем используют микроорганизмы как чувствительные элементы биосенсора, например, дрожжи *Debaryomyces hansenii* ВКМ У-2482, поскольку они обладают высокой метаболической активностью и способны окислять большой спектр веществ.

В последнее время, особый интерес представляет инкапсулирование живых клеток в силикатные полимеры, поскольку неорганические материалы являются естественной средой обитания для многих микроорганизмов. Для получения клеток, иммобилизованных в силикаты, использовали соотношение тетраэтоксисилан к метилтриэтоксисилан 15/85% об. и полиэтиленгликоль 3000. Синтез проводили в условиях основного катализа с использованием NaF. В данных условиях вокруг каждой клетки формируется капсула из сферических частиц органосиликатного полимера, которая служит защитой оболочкой от токсического воздействия внешней среды и от повреждающих факторов окружающей среды.

Аналитические и метрологические характеристики разработанного БПК-биосенсора показали, что он характеризуется повышенной чувствительностью и стабильностью по сравнению с другим биоаналитическими системами на основе *D. hansenii*, иммобилизованных в гель поливинилового спирта (Арлуаров В.А., 2013).

С целью апробации и коррелятивной калибровки разработанного нами биораспознающего элемента, определяли БПК в модельных образцах вод из водных источников Тульской области (РФ). Статистический анализ результатов определения БПК показал, что выборки, полученные двумя методами, однородны по воспроизводимости. Значения БПК, определяемые с помощью биосенсора на основе инкапсулированных дрожжей и стандартным методом, незначимо отличаются между собой.

Таким образом, биосенсор на основе инкапсулированных в органосиликатную матрицу дрожжей *D. hansenii* является перспективным инструментом для мониторинга загрязнений сточных вод.

Работа выполнена при поддержке РФФИ «Мой первый грант» № 16-38-0070016.

## КЛОНИРОВАНИЕ И ЭКСПРЕССИЯ GC БОГАТЫХ ГЕНОВ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРОТЕАЗ ИЗ АКТИНОМИЦЕТОВ

Афошин А.С.<sup>1,2</sup>, Шадрин А.М.<sup>1</sup>, Леонтьевский А.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия

*alex080686@mail.ru*

Бактериальные протеазы – это ферменты, катализирующие гидролиз пептидных связей в белках и пептидах. Изучение данных ферментов представляется актуальным, ввиду их потенциального использования для получения препаратов бактериолитических бактериальных протеаз, являющимися перспективными заместителями антибиотических препаратов. В качестве продуцентов литических ферментов, лизирующих клеточные стенки бактерий и дрожжей, были выбраны штаммы представителей порядка - *Actinomycetales* (*Nocardiosis synnemataformans* – ВКМ Ас-2518 и *Streptomyces avermitilis* - ВКМ Ас-1301).

В связи с высоким содержанием GC пар в ДНК актиномицетов амплификация целевых генов, кодирующих бактериальные протеазы, проводилась с применением ДНК-зависимой ДНК-полимеразы Q5, с использованием специфических праймеров для клонирования в экспрессионный вектор – плазмиду pQE30(QIAGEN). Анализ полученных клонов проводился с помощью полимеразной цепной реакции с применением ДНК-зависимой ДНК-полимеразы Q5. Экспрессия генов бактериальных протеаз проводилась в штамме *E.coli M15* (pREP4).

В данной работе мы представляем особенности сверхпродукции 11 ранее неохарактеризованных протеаз актиномицетов в *E. coli* – сверхпродукция 2 белков наблюдалась частично в растворенной форме, тогда как остальные белки были локализованы в тельцах включения.

Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (договор №5843 ГУ 2015 от 10.06.2015).

## СИНТЕЗ АРАХИДОНОВОЙ КИСЛОТЫ ГРИБАМИ MORTIERELLA ALPINA НА ОТХОДАХ ПРОИЗВОДСТВА БИОДИЗЕЛЬНОГО ТОПЛИВА

Балахонова А.И.<sup>1</sup>, Миронов А.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Тульский государственный университет, Тула, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук, Пушкино, Россия

*alina.balahonova@mail.ru*

В настоящее время вызывает интерес микробиологическое получение органических соединений, производство которых другими способами затруднено или невыгодно. К таким соединениям относится арахидоновая кислота (АК), являющаяся незаменимой ω-6 полиненасыщенной жирной кислотой (ПНЖК), которая играет важную роль в метаболических процессах в качестве предшественника простагландинов, лейкотриенов и ряда эйкозаноидов.

Для снижения стоимости микробных липидов ведётся непрерывный поиск недорогих и возобновляемых субстратов. Так глицерин, получаемый нефтехимическим синтезом, рассматривается как перспективный субстрат для микробиологических процессов. Однако неочищенный глицерин, образующийся в качестве отходов производства биодизельного топлива (ОПБ), характеризуется гораздо меньшей (иногда отрицательной) стоимостью.

В связи с вышеизложенным целью работы является исследование синтеза арахидоновой кислоты грибами *Mortierella alpina* при использовании глицерин-содержащих отходов производства биодизеля в качестве единственного источника углерода и энергии.

В работе использовали штамм *Mortierella alpina* LPM-301, который был ранее селекционирован в лаборатории физиологии микроорганизмов ИБФМ РАН в качестве активного продуцента АК.

Изучали влияние концентрации ОПБ (5, 10 и 15 г/л) на рост *M. alpina* LPM-301 при периодическом культивировании в течение 7 суток. Сравнительные исследования проводили с двумя образцами ОПБ: ОПБ-1, предоставленного ООО «ГанцПром», г. Сызрань и ОПБ-2, предоставленного Pythia Institute of Biotechnology, Thessaloniki, Греция.

В ходе работы показано, что содержание липидов в биомассе грибов *M. alpina* LPM-301 возрастало с увеличением концентрации ОПБ-1 и ОПБ-2 и достигало максимального значения 15,7 и 31,3% соответственно. При увеличении содержания липидов у исследованных нами штаммов в той же степени снижалась доля АК. Доля АК в липидах грибов, выращенных на средах, содержащих 5 г/л ОПБ-1 и ОПБ-2, имела максимальное значение 6,8 и 28,7 % соответственно.

Максимальное содержание АК в биомассе наблюдается при концентрации ОПБ-1 равной 5 г/л и составляет 0,87%. Синтез АК на глицерине незначительно превышает это значение и составляет 1,06%.

Полученные результаты показывают перспективность использования глицерин-содержащих отходов для микробиологического производства АК.

### БИОТРАНСФОРМАЦИЯ ХОЛЕСТАНОЛА МИКОБАКТЕРИЯМИ

**Барабошкина Т.Г.<sup>1,2</sup>, Довбня Д.В.<sup>2</sup>, Донова М.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино; <sup>2</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук, Пушкино, Россия

*xxtanechka@mail.ru*

Фитостерин (Ф) – это смесь растительных стероидов в естественных пропорциях, получаемая из отходов первичной переработки растительного сырья. По своей химической структуре растительные стероиды аналогичны холестерину, который является предшественником всех стероидных гормонов млекопитающих и человека. Ф является важнейшим сырьем для промышленного получения стероидных фармацевтических субстанций, причем ключевой этап их производства – биотрансформация Ф в один из ключевых полупродуктов, таких как андрост-4-ен-3,17-дион (АД).

Стероидный состав Ф определяется его растительным источником, при этом выделение индивидуальных стероидов из смеси экономически нецелесообразно. В последнее время стала актуальной замена Ф соевого происхождения на более доступный Ф, происходящий из отходов целлюлозно-бумажной промышленности (таллового пека). Последнее особенно важно для организации перспективных производств стероидных субстанций на территории РФ из отечественного сырья. Важно, что талловый Ф может содержать значительную примесь (до 30%) станола – 5(6)-насыщенных аналогов стероидов, преимущественно ситостанола и кампестанола. В доступной литературе нет сведений о конверсии станола в ключевые стероидные полупродукты.

Целью данного исследования было изучение возможности биотрансформации станола бактериями *Mycobacterium neoaurum* ВКМ Ас-1815D в АД.

В качестве модельных субстратов использовали индивидуальные вещества – холестерин (5-холестерин-3β-ол) и холестеранол (5-холестерин-3β-ол). Субстраты вносили в количестве 15 ммоль/л.

Максимальный мольный выход АД в биотрансформации был практически идентичен как при использовании холестерина, так и холестеранола и составил 72–74% (~3,1 г/л) в присутствии солибилизирующего агента. В отсутствие солибилизатора выход АД из холестеранола был в ~1,3 раза выше, чем из холестерина. Также показано, что холестеранол является индуктором активности катаболизма стероидов.

Таким образом, в прямом эксперименте установлена принципиальная возможность биотрансформации станола в АД микобактериями.

Полученные результаты обосновывают возможность эффективного использования таллового Ф в производстве стероидных фармацевтических субстанций.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского Научного Фонда (соглашение №14-24-00169).

### К ОПТИМИЗАЦИИ ПОДГОТОВКИ ПОСЕВНОГО МАТЕРИАЛА *EREMOTHECIUM ASHBYI*

**Безрукова Е.И., Князькова А.А.**

ФГБОУ ВПО Пензенский государственный университет, Пенза, Россия

*elizabeth1503@rambler.ru*

В последнее время возрос интерес к ароматическим продуктам и биотехнологиям их получения. Качество эфирного масла зависит от факторов среды, условий культивирования, генетических особенностей продуцента. В настоящее время к перспективным биообъектам относят представителей рода *Eremothecium*, синтезирующих эфирное масло, приближенное по компонентному составу к розовому маслу. Цель работы заключается в изучении влияния штаммовой специфичности на состояние посевного материала, уровень накопления и качество эремотецевого масла.

**Материалы и методы.** Объектами изучения служили штаммы *Eremothecium ashbyi* Guilliermond 1935 ВКПМ F-36, 36-Об, ВКМ F-4565 (мутант, полученный из популяции штамма ВКПМ F-36), ВКМ F-3009, sp-916 (получен селекционным путем из штамма ВКМ F-3009). Хранение осуществлялось на скошенном картофельно-декстрозном агаре. Посевной материал выращивали глубинным способом в жидкой глюкозо-пептонной с дрожжевым экстрактом питательной среде при непрерывном встряхивании 200 кач./мин. в течение 20 часов при температуре 28°C. Ферментацию осуществляли глубинным способом в соево-сахарозной среде в течение 48 часов при температуре 28°C и непрерывном встряхивании 240 кач./мин.

Относительное содержание рибофлавина оценивали по интенсивности окраски в баллах. Биомассу отделяли фильтрованием от питательной среды, взвешивали до и после высушивания. Выделение ароматообразующих веществ из культуральной жидкости осуществляли методом трехкратной экстракции с последующим удалением растворителя (гексана) при помощи роторно-вакуумного испарителя. Получившийся остаток липидов взвешивали на аналитических весах.

**Полученные результаты.** Интенсивное накопление посевного материала происходило у штамма 36-Об, микомассы в процессе ферментации – у штамма ВКМ F-3009. При получении инокулята сдвиг pH в кислую сторону был существенным у штамма 36-Об, при ферментации защелачивание среды было более выражено у штамма ВКМ F-4565. По количеству экстрактивного масла выделился sp-916. Наименьшее количество эфирного масла синтезировал штамм ВКПМ F-36. Максимальное содержание рибофлавина в культуральной жидкости выявлено у ВКПМ F-36, 36-Об. Наибольшее суммарное количество монотерпеновых спиртов имели масла штаммов sp-916, 36-Об. Наименьшее отношение фенилэтилового спирта к монотерпеновым спиртам наблюдалось у высокоактивных штаммов 36-Об и sp-916, что свидетельствует об их большей ценности.

**Вывод.** Наиболее продуктивным является селекционированный нами штамм sp-916, отличающийся высоким качеством эфирного масла, приближенного к мировому стандарту – болгарскому розовому маслу.

### МЕМБРАНОТРОПНЫЙ БИОРЕГУЛЯТОР, ВЫДЕЛЕННЫЙ ИЗ ГЕПАТОПАНКРЕАСА КРАБА: КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ

Богданов В.В.<sup>1</sup>, Мальцев Д.И.<sup>1</sup>, Куликова О.Г.<sup>1</sup>, Ямскова В.П.<sup>2</sup>, Ямсков И.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова Российской академии наук, Москва; <sup>2</sup>ФГБУН Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова Российской академии наук, Москва, Россия

vse-bogd@yandex.ru

Мембранотропные гомеостатические тканеспецифические биорегуляторы (МГТБ) – это пептидно-белковые комплексы, из-за сходства физико-химических свойств и характера биологической активности выделенные в отдельную группу веществ. В настоящее время МГТБ найдены в различных тканях позвоночных животных, растений и в грибах. МГТБ влияют на основные клеточные процессы, их активность характеризуется проявлением тканевой, но не видовой специфичности и действием в низких концентрациях –  $10^{-8}$ - $10^{-15}$  мг белка в мл. МГТБ стимулируют процессы восстановления и репарации в патологически измененных тканях.

В работе изучалось действие биорегулятора, выделенного из гепатопанкреаса краба. Были показаны как ряд физико-химических свойств, так и проявление характерной для веществ данной группы мембранотропной активности. Фракции биорегулятора изучались на моделях роллерного органотипического культивирования ткани печени тритона *in vitro* (данная модель специально была разработана для исследования веществ группы МГТБ по ряду критериев) и модели CCl<sub>4</sub>-индуцированного фиброза печени крыс *in vivo*. При этом задачей было не только определение наличия гепатопротекторной активности у исследуемого биорегулятора, но и сравнительное исследование данных, полученных на разных моделях с целью проверки адекватности используемой для исследования МГТБ оригинальной модели с классической и отработанной моделью CCl<sub>4</sub>-индуцированного фиброза.

Большое внимание было уделено количественной оценке результатов. Был применен алгоритм обработки фотографий гистологических срезов с использованием свободно распространяемой программы ImageJ. Использовались свойства гистоструктур печени амфибий и крыс, пораженных фиброзом, для их дифференциальной оценки и получения количественной характеристики - площади, занимаемой на срезе. Был сделан подсчет площади, занимаемой меланомакрофагами печени амфибий и фиброзными рубцами в печени крыс на гистологических срезах. Такой подход позволил получать с этих моделей количественные данные. Это говорит о возможности более интенсивного использования данных, особенно при ограничении применяемого набора методов. Использование программного обеспечения повышает эффективность обработки больших массивов данных, увеличивает точность и позволяет более строго следить за качеством получаемых результатов.

Было показано достоверное биологическое действие биорегулятора, выделенного из гепатопанкреаса краба, на моделях культивирования печени амфибий *in vitro* и фиброза у крыс *in vivo*. Наблюдаемый эффект позволяет сделать вывод в пользу наличия у данного вещества гепатопротекторной активности.



## УЛУЧШЕННЫЙ СПОСОБ ИЗГОТОВЛЕНИЯ БИЛИАРНОГО СТЕНТА

**Бороздина Н.А.**

ГБОУ ВПО Волгоградский государственный университет, Волгоград, Россия

*natalia.borozdina2016@yandex.ru*

В настоящее время в билиарной хирургии для устранения обструкции желчных протоков все чаще используют эндоскопическое стентирование.

В последние годы насчитывается более 30 научно-производительных медицинских компаний, которые предоставляют к продаже около 55 видов стентов, и ни один из известных дизайнов не соответствует всем идеальным характеристикам.

Целью данной работы являлось изготовление и изучение свойств стентов из хитозана – биodeградируемого и биосовместимого материала, исключающего отторжение тканей.

Стенты изготавливались из хитозановых пленок путем наматывания их на стержень необходимого диаметра в 2 – 3 слоя. Приготовленные пленки имели определенные качества – гибкость и эластичность, толщину 50-250 мкм, удлинение при разрыве 130-140%. Затем заготовки помещались в щелочной раствор, чтобы придать им необходимые свойства. Полученные хитозановые стенты с диаметром 3-6 мм, длиной от 3 до 40 мм изучались с помощью сканирующей и световой микроскопии для определения их морфологии и структуры.

Стенты способны простоять в протоке не менее 8 недель, поддерживая его форму и восстанавливая стенки.

В результате выполненной работы получены эластичные и гибкие стенты различной длины и диаметра, без металлической основы, из биodeградируемого и биосовместимого материала.

## СИНТЕЗ И СВОЙСТВА ЧЕТЫРЕХКОМПОНЕНТНЫХ ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТОВ

**Виноградова О.Н., Петерфельд Е.В.**

ФГАОУ ВПО Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия

*olgav88@mail.ru*

Одно из высокорейтинговых направлений критических технологий XXI века - создание экологически чистых материалов, совместимых с глобальными биосферными циклами. Биоразрушаемые полигидроксиалканаты (ПГА) – природный аналог синтетических полиолефинов, и благодаря наличию свойств эластомеров способный заменить их в различных областях.

Использование коллекции продуктивных штаммов, обладающих способностью синтезировать ПГА на различных углеродных субстратах, и регламентированных режимов ферментации и углеродного питания позволило синтезировать новый тип четырехкомпонентных ПГА; с применением современных физико-химических методов (ЯМР, хромато-масс-спектрометрии, ВЭЖХ, ДТА, X-Ray, РЭМ, АСМ) изучили структуру и физико-химические, механические свойства.

Синтезировано семейство 4-х компонентных ПГА, различающихся соотношением мономеров с различной длиной С-цепи: 3-гидроксибутирата (ЗГБ), 3-гидроксивалерата (ЗГВ), 4-гидроксибутирата (4ГБ), 3-гидроксигексаноата (ЗГГ). В сополимере доминирующими были мономеры ЗГБ (68,5-89,7 мол.%), а суммарное содержание трех других мономеров минимально составило 10,3 мол.%, максимально 31,5 мол.%. Безусловные трудности биосинтеза многокомпонентных ПГА и возможность повышения содержания в них мономеров, отличных от 3-гидроксибутирата, связаны с необходимостью внесения в состав культивационной среды, помимо основного углеродного субстрата, субстратов-предшественников (пропионата, гамма-бутиролактона, гексаноата), необходимых для образования целевых мономеров. Несмотря на не относительно невысокое содержание мономеров ЗГВ, 4ГБ, ЗГГ, для синтезированных образцов П(ЗГБ/ЗГВ/4ГБ/ЗГГ) характерны пониженные значения степени кристалличности (30-40%), разброс значений  $M_w$  (от 429 до 817 кДа) и  $M_n$  (от 69 до 223кДа), и впервые зафиксированные высокие значения полидисперсности (3,7 – 6,21), свидетельствующие о гетерогенности степени полимеризуемости фракций полимера. Температура плавления ( $T_{пл}$ ) и термической деградации ( $T_{дегр}$ ) составили 165-173 и 270-286°C, соответственно. Разрыв между  $T_{пл}$  и  $T_{дегр}$  у разных образцов сохранялся и составлял 115 – 125°C. Пленочные образцы ПГА имели существенно более высокие (на 1-2 порядка) показатели удлинения при разрыве (до 205%) по сравнению пленками из ПЗГБ (2,5%).

В результате синтезировано семейство четырехкомпонентных образцов ПГА. Выявлена связь между составом ПГА и их базовыми физико-химическими свойствами, структурой и характеристиками поверхности пленочных изделий, что является научной основой для получения биоразрушаемых полимеров с заданными свойствами.

## НОВЫЙ ИНДУКТОР ТРАНСГЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ К РИЗОМАНИИ

**Виноградова С.В.**

ФИЦ Фундаментальные основы биотехнологии Российской академии наук, Москва, Россия

*svetlana.vinogradova@biengi.ac.ru*

Успех борьбы с вирусными заболеваниями растений во многом зависит от выращивания устойчивых сортов и гибридов. В настоящее время в мире, кроме классических методов селекции на устойчивость к вирусам, используются также и биотехнологические. Целью нашей работы было создание устойчивости к ризомании (вызываемой вирусом некротического пожелтения жилок свеклы – BNYVV) генно-инженерными методами путем внедрения новых источников устойчивости.

Для создания трансгенной устойчивости к BNYVV были получены плазмидные конструкции pBI\_BNYVV<sub>ср</sub> и pBI\_BNYVV<sub>sil</sub>, содержащие под контролем 35S промотора кДНК гена белка оболочки BNYVV и 3'-нетранслируемой области РНК2 генома BNYVV в смысловой и антисмысловой ориентации, разделенные интроном гена кукурузы *ubil1*. Оценку эффективности использования для индукции сайленсинга фрагментов 3'-НТО BNYVV проводили с помощью транзientной экспрессии в растениях *N. benthamiana* дикого типа конструкции-мишени (в которой GFP слит с фрагментом 3'-НТО BNYVV) и pBI\_BNYVV<sub>sil</sub>. С помощью Вестерн-блот анализа установлено, что уровень экспрессии GFP в случае инфильтрации штаммом, содержащим только мишень, выше, чем при одновременной инфильтрации штаммами, содержащими мишень и индуктор.

Эксперименты по получению трансгенных растений *N. benthamiana* проводили с использованием штамма *Agrobacterium tumefaciens* GV3101 с плазмидами pBI\_BNYVV<sub>ср</sub> и pBI\_BNYVV<sub>sil</sub>. В полученных трансформантах подтверждено наличие и экспрессия трансгенной вставки методами ПЦР и ОТ-ПЦР.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 15-08-08108 на базе Экспериментальной установки искусственного климата (регистрационный номер УНУ U-73547).

## ОЦЕНКА СКОРОСТИ ОКИСЛЕНИЯ СУБСТРАТОВ РАЗЛИЧНЫМИ БИОКАТАЛИЗАТОРАМИ БТЭ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИЙ *GLUCONOBACTER OXYDANS*

**Возчикова С.В., Алферов С.В.**

ФГБОУ ВО Тульский государственный университет, Тула, Россия

*vosofya@gmail.com*

Биотопливный элемент (БТЭ) – это биотехнологическое устройство, генерирующее электроэнергию за счет окисления органических субстратов ферментами или целыми клетками микроорганизмов, которые выступают в качестве биокатализатора. Разрабатываются БТЭ на основе уксуснокислых бактерий *Gluconobacter*, обладающих особой метаболической системой – мембранной локализацией ферментов – дегидрогеназ. Бактерии *G. oxydans* обладают широкой субстратной специфичностью и окисляют большинство спиртов и углеводов, в том числе этанол и глюкозу. В настоящее время работы по оценке потребления глюкозы и этанола в условиях работы БТЭ на основе бактерий *G. oxydans* не проводились.

Целью работы являлась оценка скорости окисления субстратов биокатализатором в условиях работы БТЭ.

Оценку изменения концентрации субстрата от времени в анодном отделении БТЭ осуществляли в системе: фоновый электролит (30 мМ Na-фосфатный буферный раствор), глюкоза/этанол (10 мМ), медиаторы электронного транспорта (2,6-дихлорфенолиндофенол, феназинметасульфат, гексацианоферрат калия). В качестве биокатализаторов использовали целые клетки *G. oxydans* и их мембранную фракцию в суспендированном виде или иммобилизованном на поверхность электрода. Провели сравнение полученных констант скоростей окисления глюкозы. В результате проведенных экспериментов установлено, что окисление глюкозы суспендированным биокатализатором – целыми клетками микроорганизмов в 2 раза превышает скорости окисления этого же субстрата иммобилизованным биокатализатором:  $1,10 \pm 0,01$  ммоль/г·мин и  $0,50 \pm 0,07$  ммоль/г·мин, соответственно. Скорость окисления мембранной фракцией в 3 раза больше для биокатализатора в виде суспензии, чем для иммобилизованного:  $1,2 \pm 0,1$  ммоль/г·мин и  $0,4 \pm 0,1$  ммоль/г·мин, соответственно. Скорости окисления этанола теми же биокатализаторами почти не отличаются от скоростей окисления глюкозы: для суспензии клеток *G. oxydans* -  $1,3 \pm 0,2$  ммоль/г·мин и для мембранной фракции -  $1,63 \pm 0,09$  ммоль/г·мин, при окислении иммобилизованными бактериями *G. oxydans* -  $0,50 \pm 0,07$  ммоль/г·мин, а иммобилизованной мембранной фракцией -  $0,6 \pm 0,1$  ммоль/г·мин.

Исходя из полученных результатов видно, что наиболее интенсивное окисление глюкозы и этанола осуществляется суспензией клеток *G. oxydans* и суспензией мембранной фракции. Это объясняется тем, что окисление субстрата свободносуспендированным биокатализатором происходит во всем объеме анодной ячейки, в то время как иммобилизованный способен окислять субстрат только в приэлектродном пространстве.

Работа выполнена по государственному заданию в сфере научной деятельности Минобрнауки РФ  
(Задание № ГЗ 14.2094.2014/К)

### АНТИБИОТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ АКТИНОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПЕЩЕР ПРИБАЙКАЛЯ И СИБИРИ

Войцеховская И.В.<sup>1,2</sup>, Аксёнов-Грибанов Д.В.<sup>1,2</sup>, Протасов Е.С.<sup>1,2</sup>, Мадьярова Е.В.<sup>2</sup>, Димова М.Д.<sup>1,2</sup>,  
Мирманов Р.Ж.<sup>1</sup>, Тимофеев М.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск; <sup>2</sup>НИИ биологии ФГБОУ ВО Иркутский  
государственный университет, Иркутск, Россия

*irina.voytsekhovskaya@gmail.com*

Древние пещеры мира, как уникальные природные образования, в которых изученность микробных сообществ остается не исследованной, выступают перспективным источником выделения нетривиальных штаммов актинобактерий. При этом отмечается, что уникальность природных условий пещер способствует возникновению ряда особенностей в метаболизме микроорганизмов, делая их перспективными источниками для поиска, синтеза и разработки новых биомедицинских препаратов.

Целью данного исследования являлась оценка биологического разнообразия актинобактерий, выделенных из экосистем древних и разветвленных пещер, и оценка их способности к синтезу новых биологически активных веществ, в том числе – соединений антибиотической природы.

В ходе настоящей работы из разных субстанций пещер Большая Орешная, Охотничья и Баджейск выделено 78 штаммов актинобактерий. Источниками выделения штаммов были выбраны органические останки, вода из подземных озер и лунное молоко. В ходе скрининга штаммов были выделены как представители широко распространенных актинобактерий рода *Streptomyces*, так и редкие штаммы родов *Micromonospora*, *Rhodococcus*, *Nocardia* и *Pseudonocardia*. Показано, что экстракты штаммов, полученные из биомассы и культуральной жидкости, проявили антагонистическую активность против тест-культур бактерий (*Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus carnosus* ATCC 51365, *Pseudomonas putida* KT 2440, *Escherichia coli* ATCC K12) и грибов (*Saccharomyces cerevisiae* BY4742, *Candida albicans* DSM1665).

В ходе масспектрометрического анализа экстракта одного из активных штаммов – *Streptomyces sp.* IB 2014/I/78-8, выделенного из лунного молока пещеры Большая Орешная (Красноярский край) и культивированного на среде DNPM, установлено, что данным штаммом продуцируется более 100 новых соединений, не зарегистрированных в одной из крупнейших доступных баз данных биологически активных соединений - Dictionary of Natural Products (CRC press). Среди идентифицированных соединений были обнаружены: соединение циклодисидин D, ранее продуцируемое штаммом *Streptomyces sp.* RV 15, ассоциированным с морской губкой *Dysea tupa*. Также обнаружено соединение хаксалактин В, продуцентом которого является штамм *Streptomyces sp.* С 34, выделенный из гипераридных образцов почвы пустыни Атакама.

Настоящее исследование проведено при частичной финансовой поддержке проектов Министерства образования и науки РФ (№6.382.2014/К, 6.734.2016 DAAD, 6.696.2016 DAAD), РФФИ (проект N 14-14-00400), РФФИ (проекты N 14-04-00501, 16-34-00686 мол\_a), грантов Иркутского государственного университета для молодых ученых.

### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРАЙМЕРОВ «ВСТЫК» ДЛЯ ПРЕОДОЛЕНИЯ ИНГИБИРОВАНИЯ ПЦР- АМПЛИФИКАЦИИ

Галимова А.А., Сахабутдинова А.Р., Гарафутдинов Р.Р.

ФГБУН Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук,  
Уфа, Россия

*aiz.galimova@yandex.ru*

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) как один из широко используемых методов медико-биологических исследований постоянно претерпевает изменения, связанные с необходимостью решения новых задач. При этом для обеспечения достоверности получаемых результатов на высоком уровне должно оставаться качество проводимой реакции, которое зависит от многих факторов. Определяющими из них, помимо подбора праймеров, являются сложность исследуемого объекта, например, наличие или отсутствие ингибирующих агентов в реакционной смеси, наличие фоновой ДНК, качество самой матрицы, т.е. целостность ее структуры, достаточное для амплификации количество.

Влияние расположения праймеров относительно друг друга на эффективность протекания ПЦР-амплификации при анализе «сложных» объектов было нами изучено ранее. В продолжение работ нами показана успешность использования праймеров «встык» при проведении ПЦР с препаратами ДНК, содержащими ингибирующие агенты. Были подобраны по 2 пары праймеров к ДНК листовницы сибирской и богомола обыкновенного: одна пара – праймеры «встык» (aF-aR), отжиг 3'-концов которых происходит на

смежных нуклеотидах комплементарных цепей матрицы, и одна пара - «классические» (F-R) праймеры с расстоянием между праймерами более 200 нуклеотидов. В ходе ПЦР в режиме реального времени для ДНК лиственницы наработка продуктов амплификации наблюдалась только для праймеров «встык», в то время как «классические» праймеры не показали подъема даже к 60 циклу реакции, что объясняется присутствием фенольных соединений в препарате ДНК лиственницы. При постановке ПЦР с ДНК богомола обыкновенного в реакционную среду добавляли различное количество плазмы человеческой крови и оценивали ее влияние на протекание реакции. При содержании плазмы 0,1% ингибирования амплификации не наблюдалось ни для праймеров «встык», ни для «классических» праймеров, при содержании плазмы 10% происходит полное ингибирования реакции для обоих пар праймеров. В случае 1%-го содержания плазмы выявлено ингибирование только для стандартных праймеров, тогда как для праймеров «встык» наблюдалась успешная наработка целевых продуктов амплификации. Таким образом, праймеры «встык» повышают чувствительность ПЦР в случаях, когда амплификация целевых ДНК-матриц «классическими» праймерами затруднена или невозможна.

### **ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ КЛЕТКАМИ ЧЕЛОВЕКА ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ПЛАЗМИДНЫМИ И ВИРУСНЫМИ КОНСТРУКЦИЯМИ**

**Гатина Д.З., Гаранина Е.Е., Лайков А.В., Романова Ю.Д., Салафутдинов И.И.**  
ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань, Россия

*sal.ilnur@gmail.com*

В настоящее время, особое внимание уделяют применению комбинированной генно-клеточной терапии для лечения различных заболеваний человека. Генетически модифицированные мезенхимальные стволовые клетки, полученные из различных источников (костный мозг, клетки пуповинной крови, жировая ткань и ряда других тканей) способны увеличивать уровень экспрессии терапевтических генов на порядки, тем самым значительно усиливая терапевтический эффект трансплантированных клеток и регенеративный потенциал органа-мишени.

В данном исследовании проведена генетическая модификация (трансфекция и трансдукция) стволовых клеток из жировой ткани человека (СКЖТ). Для трансфекции клеток были использованы двухкасетные плазмидные конструкции одновременно и независимо экспрессирующие комбинации терапевтических генов (pBud-VEGF165-FGF2). Эффективность трансфекции (pBud-EGFP) оценивали по количеству EGFP-позитивных клеток методом флуоресцентной микроскопии. Визуально около 50% трансфицированных клеток были EGFP позитивными. Экспрессия клетками VEGF и FGF2 подтверждена в ходе вестерн блотинга. Клетки трансфицированные плазмидой pBud-VEGF165-FGF2 имели повышенный уровень секрецию цитокинов: MCP-1 и IL-8.

В свою очередь, при трансдукции клеток репликационно-дефектным аденовирусом пятого серотипа, содержащим ген улучшенного зеленого флуоресцентного белка – *egfp* (Ad5-EGFP) около 95% клеток экспрессировали EGFP. При этом транзиторная экспрессия клетками EGFP сохранялась в течение всего периода наблюдения – 30 дней. В ходе мультиплексного анализа была показана сверх экспрессия клетками (Ad5-VEGF165) рекомбинантного белка VEGF и повышенная продукция ими цитокинов: IL-6, IL-8, IL-12, GM-CSF, IFN-g, MCP-1 и RANTES.

Таким образом, в экспериментах *in vitro* проведена генетическая модификация СКЖТ плазмидными и аденовирусными векторами, несущими маркерный ген *egfp* и гены факторов роста. Показано, что аденовирусы могут быть эффективными системами для доставки терапевтических генов в СКЖТ. Используя различные гены можно модулировать секретомный профиль клеток человека *in vitro*.

### **КОМБИНАТОРНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СОЗДАВАЕМЫХ ИММУНОАФФИННЫХ КОЛОНОК ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ АНАЛИЗА ПРОТЕОМА СЫВОРОТКИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА**

**Горайнова О.С.<sup>1,2</sup>, Иванова Т.И.<sup>2</sup>, Тиллиб С.В.<sup>2</sup>**

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

*OksanaGoryainova@gmail.com*

Наноантитела – рекомбинантные белки, являющиеся производными однодоменных антиген-узнающих переменных фрагментов особых антител, присутствующих, наряду с обычными антителами, в норме у представителей сем. Camelidae (Верблюдовые) и у некоторых видов хрящевых рыб. Их небольшой размер и практически идеальная шаровидная форма обеспечивают доступ к эпитопам (участкам молекулы антигена) необычной формы или к труднодоступным эпитопам. Кроме того, за счёт высокой проницаемости в органы эти антитела способны поступать в плотные ткани и опухоли.

Плазма крови – это сложная белковая смесь, однако около 50% её белкового состава приходится на сывороточный альбумин и чуть меньше – на иммуноглобулины. Это так называемые высокопредставленные белки. При этом множество белков, которые играют важную роль в организме и потенциально являются диагностически ценными маркерами, обнаруживается в крови в ничтожно малом количестве. Поэтому важной задачей является разработка технологии, способной специфично удалить высокопредставленные белки, сохраняя при этом низкопредставленные. Аффинные колонки на основе наноантител могут решить эту задачу.

В ходе первичных селекций нами уже получены наноантитела, специфически связывающие некоторые наиболее представленные в крови белки, такие как сывороточный альбумин, иммуноглобулины различных классов, фибриноген и др. Ранее в нашей лаборатории были получены наноантитела к известным маркерным белкам, таким как раковый эмбриональный антиген, фактор роста эндотелия сосудов и другим. В настоящий момент мы продолжаем отбор наноантител к различным мишеням – белкам крови человека, и прорабатываем различные варианты комбинированного использования этих антител и их производных.

### **ОСНОВНЫЕ ЭТАПЫ КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ В УСЛОВИЯХ IN VITRO ДЛЯ СОХРАНЕНИЯ РЕДКИХ И ИСЧЕЗАЮЩИХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ**

**Гуля Н.И., Маслова Е.В., Петрова И.В.**

ФГАОУ ВПО Белгородский государственный национальный исследовательский университет,  
Белгород, Россия

*gulia.natalya@yandex.ru*

Области применения клонального микроразмножения представляют собой широкий спектр направлений, но наиболее важным для сохранения биоразнообразия является работа с редкими и исчезающими растениями. Технология размножения редких и исчезающих растений, возвращение их в естественную природную среду ещё нуждается в разработке, потому что каждый вид требует строго индивидуального подбора способов стерилизации и состава питательной среды.

Объектами исследования явились эндемичные виды во флоре Белгородской области: *Linum ucranicum* Czern, *Onosma tanaitica* Klokov, *Centaurea taliewii* Kleopow, *Androsace koso-poljanskii* Ovcz.

Для осуществления научной работы были проведены основные этапы микроклонального размножения. В качестве экспланта для получения хорошо растущей стерильной культуры были выбраны семена. Проводили предварительную стерилизацию сред, лабораторной посуды и инструментов. Все работы велись в асептических условиях в ламинарном боксе II класса защиты типа A2 (марки LAMSYSTEMS).

Стерилизацию исходного растительного материала проводили многоступенчатым способом с использованием фитоспорина (30 минут), 70% -ного р-ра спирта (1 минута), 5% -ного р-ра лизоформина (20 минут). Для проращивания семян использовали агаровую безгормональную среду, содержащую компоненты по прописи Мурасиге и Скуга. Значение рН питательной среды доводили до 5,6–6. Семена помещали в темные условия в термостат для проращивания при температуре 24 °С.

Для проведения второго этапа «собственно микроразмножение» использовали проростки, полученные в первом этапе. Разделяли проростки в ламинарном боксе на экспланты: листья, стебельки и корешки, далее помещали на питательную среду Мурасиге-Скуга для индукции роста. Среда содержала 6-бензиламинопурин (1 мг/л) и индолилуксусную кислоту (0,3-0,5 мг/л). Экспланты с питательной средой помещались в климатическую камеру при температуре 24 °С.

Для осуществления третьего этапа «укоренение полученных побегов» использовалась среда по прописи Мурасиге и Скуга, содержащая ауксины, а именно индолилуксусную кислоту (0,5 -1 мг/л). Растения помещались в те же условия для развития корня.

Проведение основных трех этапов клонального микроразмножения дает возможность произвести последующую адаптацию растений к почвенным условиям. Их высаживают в стерильный почвенный субстрат, после чего растения готовы к посадке в почву.

Таким образом, метод микроклонального размножения можно использовать для решения проблемы стремительного сокращения растительных ареалов и многих видов растений.

### **ПРОДУКТИВНОСТЬ ДРОЖЖЕЙ ПРИ КОНВЕРСИИ ТВЕРДЫХ ОТХОДОВ**

**Жабаква А.Б., Абдулжанова М.А., Кули Ж.Т., Кистаубаева А.С.**

Казахский национальный университет им. аль-Фараби, НИИ Проблем биологии и биотехнологии, Алматы,  
Республика Казахстан

*abzhv@mail.ru*

Одним из направлений определяющих инновационное развитие биотехнологии является использование возобновляемых растительных ресурсов, развитие внутреннего спроса биотехнологической продукции. Важнейшим приоритетом является распространение технологий, превращающих малоценные

отходы в белковые продукты и компоненты с высокой стоимостью, в частности, использование микробных белков в кормовой промышленности. Микробная биомасса в виде дрожжей обогащают ферментируемый субстрат незаменимыми аминокислотами, витаминами, органическими кислотами и другими биологическими веществами.

Одним из агропромышленных отходов Казахстана являются отруби, которые могут входить в состав кормовых добавок. Для определения продуктивности дрожжей, выделенных из различных субстратов, физиологическим раствором в объеме 5 мл делали смыв культуры с косяков агара. Перемешивали со стерильными и подсушенными отрубями, увлажненными 6% молочной сывороткой, затем эти чашки инкубировали при  $30 \pm 2^\circ\text{C}$  24-72 часов. Количество дрожжевых клеток подсчитывали в камере Горяева. Продуктивность дрожжей определяли по количеству выросших клеток в 1 г субстрата. Полученные результаты свидетельствуют, что при твердофазной ферментации на отрубях из 7 штаммов-суперпродуцентов биомассы дрожжей, 2 штамма КБ4 и ПЖ-2 при нагрузке посевного материала на уровне  $10^5$  кл/г (по данным прямого учета клеток в камере Горяева) набирали значительный прирост дрожжевой массы на вторые и третьи сутки культивирования в концентрации до  $4,4\text{-}5,3 \times 10^7$  кл/г, тогда как у остальных штаммов прирост биомассы дрожжей был на порядок меньше.

Для определения продуктивности дрожжей на пшеничной соломе посевной материал с титром  $1 \times 10^5$  КОЕ/г засеивали в субстрат, увлажненный до 55%, и культивировали 24-72 часов при  $30^\circ\text{C}$ . На данном субстрате самыми продуктивными оказались два штамма дрожжей – КБ4 и ПЖ2, у которых на 3 сутки твердофазного культивирования определяемый титр клеток составил  $5,1 \times 10^8$  КОЕ/г и  $7,7 \times 10^8$  КОЕ/г.

Вторичные продукты, как подсолнечный шрот и свеклосахарный жом были несравненно более перспективными субстратами для накопления дрожжевой биомассы. На 3 сутки средняя продуктивность дрожжей на подсолнечном шроте составила  $3,7 \times 10^9$  кл/г, штамм ПЖ2 –  $5,1 \times 10^9$  кл/г. Штаммы дрожжей на свеклосахарном жоме, также хорошо набирают биомассу. Титр клеток штамма К4 доходил до  $4,2 \times 10^9$  кл/г, штамм КБ4 до  $7,8 \times 10^9$  кл/г.

Таким образом, при исследовании различных твердых негидролизированных субстратов при дрожжевой конверсии наиболее продуктивными оказались штаммы – КБ4 и ПЖ2.

#### МИКСОТРОФНЫЙ РОСТ *TETRASELMIS VIRIDIS* ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ИСТОЧНИКА УГЛЕРОДА ОРГАНИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Жондарева Я.Д.

ФГБУН Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского Российской академии наук,  
Севастополь, Россия

[yana.zhondareva@yandex.ru](mailto:yana.zhondareva@yandex.ru)

Поскольку большинство микроводорослей являются фотосинтезирующими организмами, они обычно культивируются на солнечном свете или при искусственном освещении с подачей углекислого газа или воздуха. Однако эффективность роста водорослей ограничивается проникновением света, так как одновременно с увеличением плотности культуры происходит самозатенение клеток, что приводит к низкому проникновению света и, соответственно, медленному росту. Чтобы преодолеть проблему света, изучается целесообразность использования миксо- или гетеротрофного выращивания как альтернатива фотоавтотрофному культивированию микроводорослей. При гетеротрофном выращивании водоросли растут в темноте, где клетки получают энергию полностью из органического углерода в среде, в то время как при миксотрофном, водоросли могут получать энергию и от органического углерода, и от света. Такое условие подходит для видов водорослей, которые не могут расти в абсолютной темноте.

Цель работы – определить эффективность использования глицерина в качестве органического источника энергии и углерода на рост *Tetraselmis viridis* как представителя большинства морских микроводорослей, являющихся источником жирных кислот.

Культивирование проводили в накопительном режиме с добавлением глицерина. Микроводоросли выращивали на среде Тренкеншу, приготовленной на морской воде. В процессе культивирования осуществляли ежесуточный контроль прироста культуры. Аппроксимированием экспоненциальной и линейной фаз роста вычислены основные кинетические характеристики (удельная скорость роста и продуктивность).

Рост был почти одинаковый в течение 1-х суток при фото- и миксотрофном культивировании. Однако со 2-х суток плотность культуры начала линейно увеличиваться, указывая на то, что фототрофы начали использовать органический углерод для роста. Продуктивность *T. viridis* была в 2 раза выше в варианте с миксотрофным культивированием, чем с фотоавтотрофным. В предварительных опытах наблюдалось, что высокая освещенность приводит к фотоингибированию культуры. Однако высокие скорости роста могут быть достигнуты и при низкой освещенности (6 клк) при миксотрофном культивировании.

Таким образом, посредством добавления в среду источников углерода органического происхождения можно потенциально улучшить рост фотосинтезирующих организмов и увеличить производство водорослей.

Выражаю благодарность научному руководителю к.б.н. Рудольфу Павловичу Тренкеншу и коллективу отдела Биотехнологий и фиторесурсов за оказание помощи в проведении исследования.

### **РАЗРАБОТКА ОБОРУДОВАНИЯ ДЛЯ БИОРЕМЕДИАЦИИ ПОЧВ С ПРИНУДИТЕЛЬНОЙ АЭРАЦИЕЙ**

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

ФГБОУ ВО Московский государственный машиностроительный университет (МАМИ), Москва, Россия

*O\_ZA92@mail.ru*

Разработка месторождений нефти в современном мире является комплексным многоуровневым процессом, включающим в себя добывающие, производственные и обслуживающие объекты различных отраслей народного хозяйства.

В соответствии с законодательством Российской Федерации, нефтяные разливы классифицируются как чрезвычайные ситуации и подлежат ликвидации в соответствии с существующими нормативными документами.

Наиболее подвержены загрязнению территории и почвы, расположенные в непосредственной близости от предприятий, транспортных коммуникаций, трубопроводов.

Многие загрязняющие вещества, в том числе нефтепродукты, претерпевают изменения, когда попадают в почву. В процессе жизнедеятельности микроорганизмов естественным путем осуществляется процесс разложения загрязнителей или биоремедиации.

Изучение процесса биоремедиации загрязненных почв проводилось с использованием биореактора открытого типа и аборигенной микрофлоры почв.

На первой стадии изучения был поставлен ряд экспериментов с мешалками-аэраторами различных типов. На базе гребковой мешалки, показавшей себя наиболее эффективной, с учетом ее недостатков была сконструирована мешалка-аэратор сателлитного типа.

На второй стадии изучения проводилась серия экспериментов по оценке проведения биодegradации углеводов в почве при использовании сателлитной мешалки-аэратора, которая доказала эффективность новой конструкции.

В ходе исследования был замечен и изучен ряд особенностей траекторий движения штырей новой мешалки в сыпучей среде (почве).

### **ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРЫ 5'-НЕТРАНСЛИРУЕМОЙ ОБЛАСТИ ЦЕЛЕВОГО ГЕНА И ЭЛЕМЕНТОВ ЭКСПРЕССИОННОГО ВЕКТОРА НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА ТКАНЕВОГО АКТИВАТОРА ПЛАЗМИНОГЕНА ЧЕЛОВЕКА В КЛЕТКАХ ЯИЧНИКА КИТАЙСКОГО ХОМЯЧКА**

**Ильин И.С., Орлова Н.А., Ходак Ю.А., Воробьев И.И.**

Институт Биоинженерии, Федеральный исследовательский центр Фундаментальные основы биотехнологии Российской академии наук, Москва, Россия

*ivan-06.1993@yandex.ru*

Тканевой активатор плазминогена (ТАП) – сериновая протеаза, катализирующая превращение плазминогена в плазмин и последующий запуск системы лизиса фибринового тромба в кровотоке. Рекомбинантный ТАП человека, получаемый в культивируемых клетках яичника китайского хомячка СНО, применяется в медицине в качестве эффективного тромболитического агента, в основном при инфаркте миокарда. В отличие от тромболитических ферментов бактериального происхождения (стрептокиназа), ТАП действует преимущественно на поверхности тромба и не проявляет иммуногенности. Вследствие того, что разовая терапевтическая доза ТАП составляет 50-100 мг белка, для его производства требуется крайне высокая удельная продуктивность клеток-продуцентов.

**Целью** настоящей работы являлось изучение влияния на уровень секреции ТАП строения 5'-нетранслируемой области из кДНК ТАП, структуры открытой рамки считывания целевого гена и использования различных селекционных маркеров.

**Результаты:** было установлено, что для экспрессионных векторов семейства p1.1, основанных на длинных некодирующих участках гена фактора элонгации трансляции 1а китайского хомячка и фрагменте длинных концевых повторов вируса Эпштейна-Барр, уровень секреции ТАП в пересчете на одну геномную копию целевого гена выше при увеличении длины предтрансляционного участка целевого гена совместно с

использованием природной последовательности Козак данного гена. Замена природной открытой рамки считывания ТАП на синтетическую, оптимизированную для экспрессии в клетках СНО, существенно изменяет уровень секреции ТАП. Проведение ко-трансфекции пар плазмид, кодирующих различные варианты гена ТАП и маркеры устойчивости DHFR и GS также многократно увеличивает продуктивность клеток.

**Выводы:** применение природного предтрансляционного участка ТАП, синтетического варианта открытой рамки считывания и ко-трансфекции парой плазмид с разными селекционными маркерами позволяет значительно увеличить скорость секреции ТАП клетками СНО.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант №16-34-01026).

#### **РАЗРАБОТКА МАТРИЦЫ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ ДЛЯ ИММОБИЛИЗАЦИИ МИЦЕЛИЯ БАЗИДИОМИЦЕТОВ *LENTINULA EDODES* (BERK.) PEGLER И *FOMITOPSIS OFFICINALIS* (VILL.) BONDARTSEV AND SINGER**

**Каширин В.В., Гаврюшина И.А., Габайдуллин А.В., Петрухин И.Ю.**

ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова  
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

*kashira-08@mail.ru*

Бактериальная целлюлоза – наноматериал, обладающий высокими адсорбционными свойствами, является нетоксичным и биосовместимым полимером. В регенеративной медицине бактериальную целлюлозу уже рекомендуют как матрицу для культивирования клеток человека и животных. Однако вопрос о возможности использования бактериальной целлюлозы для иммобилизации мицелия трудно культивируемых продуцентов, таких, как базидиомицеты *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler и *Fomitopsis officinalis* (Vill.) Bondartsev & Singer не рассматривался. Штаммы этих видов синтезируют такие соединения, как лентинан, агаритиновая кислота, бета-глюканы, обладающие иммуномодулирующими, противоопухолевыми, антиоксидантными свойствами.

В связи с этим, целью работы являлось исследование возможности иммобилизации мицелия базидиомицетов *Lentinus edodes* Led-10/MU и *Fomitopsis officinalis* Тув-2006 (ВКПМ F-982) на матрице бактериальной целлюлозы, синтезируемой *Gluconacetobacter hansenii* GH-1/2008 (ВКПМ В-10547) (Громовых и др., 2010). Для получения иммобилизованного мицелия проводили стационарное и погруженное культивирование каждого штамма базидиомицета совместно со штаммом *G. hansenii*. Подбор питательных сред для культивирования проводили, учитывая физиологические особенности *G. hansenii* и штаммов базидиомицетов. В исследованиях использовали натуральную среду maltax-10 и две синтетические среды (Н5 и Н3), состав которых разработан для *G. hansenii* (Фан Ми Хань и др., 2012). Количество иммобилизованного мицелия в процессе культивирования базидиомицетов в пленке и в пеллетах определяли по доле белка (Bradford, 1976; Bailey, 2009; Simonian, 2006).

Исследования показали, что при стационарном культивировании на питательной среде Н5 количество продукта бактериальной целлюлозы с иммобилизованным мицелием как штамма *L. edodes*, так и *F. officinalis* была выше, чем на среде Н3. На натуральной питательной среде maltax-10 рост продуцента бактериальной целлюлозы был медленным, в связи с чем, для совместного культивирования была отобрана среда Н5. Состав полученных пленок с иммобилизованными продуцентами различался: доля иммобилизованного мицелия *L. edodes* составила 82,5% (количество белка 53,4 мг/г), тогда как *F. officinalis* 73 % (количество белка 20,6 мг/г).

Полученные результаты свидетельствуют о возможном совместном культивировании, при котором бактериальная целлюлоза служит матриксом для иммобилизации, а полученный иммобилизованный мицелий может быть продуцентом биологически активных соединений для жидкофазного погруженного и стационарного культивирования.

#### **СИНТЕЗ ТРЕЙСЕРОВ С ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МЕТКОЙ 5-DТАФ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФТОРХИНОЛОНОВ МЕТОДОМ ПФИА**

**Киряков В.С.<sup>1</sup>, Мочульская Н.Н.<sup>1</sup>, Еремин С.А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*kiryakov.victor@gmail.com*

Фторхинолоны – современный класс антибактериальных препаратов, которые широко применяются для лечения целого спектра бактериальных инфекций не только в медицине, но и в животноводстве и птицеводстве. На сегодняшний день не существует эффективных мер контроля содержания остаточных количеств антибиотиков в пищевых продуктах. Разработка экспрессных



иммунохимических методов анализа, к которым относится поляризационный флуоресцентный иммуноанализ (ПФИА), является актуальной задачей.

ПФИА является гомогенным конкурентным методом иммуноанализа, основанным на конкуренции меченого флуоресцентным красителем антигена (трейсера) с немеченым антигеном (определяемым фторхинолоном) за ограниченное количество центров связывания антител. Концентрация анализируемого фторхинолона в пробе определяется степенью связывания трейсера с антителом. Образование такого иммунного комплекса устанавливается путем измерения поляризации флуоресценции, влияние на которую оказывают только тяжелые комплексы Трейсер-Ат. В растворе данные комплексы лишь колеблются, в отличие от вращающихся легких трейсеров, повышая поляризацию раствора.

В работе получены гидразинозамещенные производные *Левифлоксацина* и *Пефлоксацина*. На их основе осуществлен синтез трейсеров с флуоресцентной меткой 5-DTAF(5-([4,6-дихлортриазин])аминофлуоресцеин).

Трейсеры проверены на специфичное связывание с 36 видами поликлональных антител животных к различным видам фторхинолонов. Изучая конкуренцию трейсеров с стандартами клинических фторхинолонов были выяснены область определяемых концентраций 0.1-1000 нг/мл (линейный участок S-образной кривой зависимости поляризации от концентрации фторхинолонов в растворе), что укладывается в СанПиН 2.3.2.2804-10 для молока (100 нг/мл).

В качестве объекта исследования было выбрано молоко суммарной жирности 3.2%. Для проведения теста на процент открытия в молоке были приготовлены образцы с известными концентрациями фторхинолонов. Работоспособность метода определяли по проценту открытия (60-160%), а воспроизводимость по коэффициенту вариации (не более 10%). Полученные результаты представлены в таблице.

*Таблица - Определение фторхинолонов в молоке (стандарт MOX + антитела Anti-DAN / стандарт DAN + антитела AntiMOX)*

Введено, нг/мл	Найдено, нг/мл	К-т вариации, %	Процент открытия, %	Введено, нг/мл	Найдено, нг/мл	К-т вариации, %	Процент открытия, %
1000	1246.3±0.05	8	124.6±1	1000	1005.6±0.05	7	105.5±0.8
100	110.7±0.05	8	110.4±0.9	100	95.3±0.05	7	95.3±0.6
10	9.7±0.05	6	97.7±0.6	10	9.5±0.05	6	95.9±0.6
1	0.97.8±0.05	6	97.6±0.5	1	0.106±0.05	5	106.4±0.5
0,1	0.127.5±0.05	5	124.6±0.4	0,1	0.108±0.05	4	108.7±0.5

## ДИФФЕРЕНЦИРОВКА ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПУПОВИННОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА В МЕГАКАРИОЦИТЫ И ТРОМБОЦИТЫ

Ключников Д.Ю.<sup>1</sup>, Языкова М.Ю.<sup>1</sup>, Ходаков В.В.<sup>2</sup>, Тюмина О.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Самарский государственный аэрокосмический университет имени академика С.П. Королева (национальный исследовательский университет), Самара, Россия; <sup>2</sup>ГБУЗ Самарский областной центр планирования семьи и репродукции, Самара, Россия

*dmklyu@gmail.com*

В настоящее время тема получения мегакариоцитов и тромбоцитов человека из стволовых клеток *ex vivo* во всем мире вызывает живой интерес, в первую очередь в связи с большими надеждами на эти технологии в клинической медицине в трансфузиологии, трансплантологии и регенеративной медицине. Однако на сегодняшний день, несмотря на огромные усилия ученых по всему миру, ни одного достаточно эффективного протокола для получения мегакариоцитов и тромбоцитов в культуре не разработано.

В настоящей работе проведен анализ 3 вариантов сред для получения мегакариоцитов и тромбоцитов из CD34+ гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) пуповинной крови (ПК).

CD34+ ГСК выделялись из мононуклеарной фракции клеток ПК с помощью позитивной иммуномагнитной селекции. В работе использовано три варианта среды: 1 – среда на основе IMDM с добавлением 20% ВПТ 9500; 2 – среда на основе IMDM с добавлением 20% плазмы ПК; 3 – среда на основе aMEM, на которой предварительно культивировались мезенхимальные стволовые клетки, с добавлением 20% ВПТ 9500. Все варианты сред содержали модифицированный цитокиновый коктейль BS1 (концентрация SCF увеличена до 2 нг/мл), 100мМ 2-МЕ и 1% антибиотика-антимикотика. Культивирования проводилось в 24-х луночных планшетах с рабочим объемом 1 мл при 37°C и 5% CO<sub>2</sub> в течение 16 суток. Анализ проводился с помощью проточной цитометрии с использованием антител против CD34, CD41a, CD42b и микроскопии.

Показано, что к 9 суткам процентное соотношение CD34+/CD41+ клеток достигало пика и было выше при использовании 1 среды – 27,55±0,35%, против 2,46±0,22% на 2-ой и 9,72±0,27% на 3-ей. К 13

суткам процент CD41a+ клеток экспрессирующих CD42b на 1 среде составлял  $88,7 \pm 0,56\%$ , на 2 –  $51,25 \pm 4,13\%$ , на 3 –  $96,85 \pm 1,06\%$ . Начиная с 10 суток, были хорошо видны протромбоциты, образуемые зрелыми мегакариоцитами. На 16 сутки полученные тромбоциты были собраны и проанализированы. Доказано, что полученные в результате эксперимента тромбоциты коэкспрессируют CD41a и CD42b на уровне несколько ниже, чем контрольные тромбоциты венозной крови (CD41a+  $67,15 \pm 7,2\%$  из них CD42b+  $85,5 \pm 10,3\%$  против  $98,15 \pm 0,21\%$  и  $99,9 \pm 0,14\%$ ). Таким образом, предположительно SCF и другие факторы, содержащиеся в кондиционированной aMEM, ингибирует дифференцировку ГСК, но способствует их пролиферации, что может быть использовано на первом этапе двухфазного протокола. Плазма ПК в качестве заменителя сыворотки не может обеспечить достаточную эффективность, сравнимую с сывороточным заменителем ВIT 9500.

### СПОСОБЫ АЭРОБНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ БАКТЕРИЙ *BACILLUS SUBTILIS* (ШТАММ Ч13) С ЦЕЛЬЮ УВЕЛИЧЕНИЯ ВЫХОДА МИКРОБНОЙ БИОМАССЫ

Ковалев Д.С.<sup>1,2</sup>, Щербаков А.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ООО «Бисолби-Интер», Санкт-Петербург, Россия

*mefenorex@gmail.com*

Изменение подхода к получению новых биологических препаратов для сельского хозяйства дало толчок к формированию исследований, связанных с культивированием хозяйственно-ценных микроорганизмов в лаборатории, для последующего внедрения полученных результатов в промышленное производство. В последние годы такие исследования стали возможны благодаря современным методикам определения состава питательной среды и возможностью непрерывно контролировать все процессы роста живых клеток в процессе аэробного периодического культивирования.

Одним из наиболее ценных микроорганизмов, используемых при получении биопрепаратов для сельского хозяйства, является *Bacillus subtilis* штамм Ч-13. Штамм отличается способностью синтезировать в процессе своего роста вещества, подавляющие развитие фитопатогенных грибов и бактерий, являющихся возбудителями болезней растений. За счет активной колонизации корней растений полезные бактерии штамма улучшают развитие корневых волосков и их поглонительную способность. Главным источником питания бактерий на корнях служат корневые выделения растений, такие как сахар, органические аминокислоты, витамины. В настоящее время был поставлен ряд экспериментов, описывающий процесс аэробного культивирования *Bacillus subtilis* Ч-13 с увеличением выхода биомассы продукта.

**Цель работы.** Для получения наибольших титров бактериального препарата, необходимо было провести сравнение питательных сред, режимов ферментации и методов исследования химического состава культуральной жидкости.

**Базовые положения исследования.** Ферментационный процесс включает: подготовку оборудования, приготовления питательных сред с разным химическим составом, проведение процесса культивирования, исследования состава культуральной жидкости, определение титра.

**Промежуточные результаты.** Сформированы следующие основные положения исследований:

1. Получение наибольших титров культуры *Bacillus subtilis* Ч-13;
2. Стабильность полученных результатов;
3. Длительное хранение бактериальной культуры;
4. Приемлемость цены исходного сырья;
5. Простота и гибкость лабораторного регламента исследований;
6. Перспективы для внедрения полученной технологии для промышленного производства.

**Основной результат.** В результате работы по исследованию методов лабораторного культивирования *Bacillus subtilis* Ч-13 был выбран наилучший способ ферментации данного штамма.

### ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ АМПЛИФИКАЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КАССЕТ В ГЕНОМЕ КЛЕТОК-ПРОДУЦЕНТОВ ЛЮТЕИНИЗИРУЮЩЕГО ГОРМОНА ПРИ КОЭКСПРЕССИИ ПАР СОВМЕСТИМЫХ ВЕКТОРОВ

Кондрашова М.П., Орлова Н.А., Воробьев И.И., Ходак Ю.А., Ковнир С.В.

Институт Биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Фундаментальные основы биотехнологии Российской академии наук, Москва, Россия

*kondrashova.m.p@gmail.com*

Лютеинизирующий гормон (ЛГ) – гетеродимерный белок, отвечающий за функционирование репродуктивной системы и широко использующийся в медицине для стимуляции овуляции при бесплодии.

Рекомбинантный ЛГ получают ко-экспрессией генов субъединиц ЛГ в клетках яичника китайского хомячка (СНО), при этом уровни биосинтеза альфа- и бета-субъединиц ЛГ могут значительно различаться, что приводит к секреции клетками смеси гетеродимера ЛГ и одной свободной субъединицы. Нами было предположено, что балансировка уровней экспрессии генов субъединиц гонадотропинов может проводиться при ко-трансфекции плазмид с маркерами устойчивости дигидрофолатредуктазы (DHFR) и глутаминсинтетазы (GS) с последующей управляемой амплификацией генов субъединиц под действием возрастающих концентраций соответствующих ингибиторов ферментов устойчивости – метотрексата и метионилсульфоксимида.

Существующие линии-продуценты ЛГ отличаются низкой удельной продуктивностью, что может быть вызвано преимущественной экспрессией одного из двух целевых генов. Ранее полученные нами векторы семейства p1.1 содержат функциональные участки, которые многократно увеличивают вероятность интеграции генетической конструкции и частоту ее амплификации в геноме. Они основаны на длинных некодирующих участках гена фактора элонгации трансляции 1a китайского хомячка и фрагменте конкатемера концевой повтора вируса Эпштейна-Барр.

**Результаты:** Были получены синтетические гены альфа- и бета- цепей ЛГ и клонированы в векторы семейства p1.1 с маркерами устойчивости GS и DHFR. Двумя парами плазмид была проведена ко-трансфекция клеток суб-линии СНО DG-44 и получены стабильно трансфицированные популяции, секретирующие существенные количества гетеродимерного ЛГ человека.

**Выводы:** были созданы поликлональные популяции клеток, пригодные для изучения возможности балансировки уровней экспрессии пары целевых генов их амплификацией в геноме продуцентов.

Работа проведена при поддержке РФФИ, проект номер №16-34-01026.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ СВЕТА НА МИКРОВОДОРОСЛИ *SPIRULLINA PLATENSIS*

**Косалбаев Б.Д., Ахметкалиева А., Тастамбек К.**

Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Республика Казахстан

*b\_k\_d@mail.ru*

Известно, что для большинства водорослей при увеличении освещения больше интенсивности насыщения наблюдается эффект фотоингибирования вследствие нарушения роста ламелл в хлоропластах и дезактивации энзимов фиксации CO<sub>2</sub>. Также известно, что оптимальная интенсивность освещения зависит от штамма микроводорослей. Например для *Desmodesmus* она составляет 98 μmol m<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>, а для *Dunaliella viridis* – 700 μmol m<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>.

В работе исследовали зависимость выхода сухой биомассы в зависимости от интенсивности освещения.

**Методология.** В работе использовался оснащенный мешалкой (0-1000 rpm) фотобиореактор BOI4, ёмкостью 5.0 л, объем среды – 4 л.; интенсивность света – LED лампы (300-900 m<sup>2</sup>s<sup>-1</sup>); температура роста 25°C, условия культивирования pO<sub>2</sub>/ CO<sub>2</sub> – 53/1 v/v%, питательная среда – Заррука; подача воздуха – автоматическая, непрерывная; скорость подачи CO<sub>2</sub> – 0,25 vvm.

Микроводоросли *Spirulina platensis* были выращены в лабораторных условиях. Исследование влияния интенсивности света на микроводоросли *Spirulina platensis* в течении 7 дней проводили в 3-х различных экспериментальных условиях (I, II, III). В каждом эксперименте изменялась интенсивность света от 200 до 400 μmol m<sup>2</sup>s<sup>-1</sup>; измерение количества сухой биомассы проводилось ежедневно.

### **Выводы:**

**I – интенсивность света 200 μmol m<sup>2</sup>s<sup>-1</sup>.** Количество сухой биомассы: 1-ый день - 0,1 DCW, gl<sup>-1</sup>, 2-ой день - 0,12 DCW, gl<sup>-1</sup>, 3-ий день - 0,31 DCW, gl<sup>-1</sup>, 4-ый день - 0,62 DCW, gl<sup>-1</sup>, 5-ый день - 0,71 DCW, gl<sup>-1</sup>, 6-ой день - 0,78 DCW, gl<sup>-1</sup>, 7-ой день - 1,01 DCW, gl<sup>-1</sup>;

**II – интенсивность света 300 μmol m<sup>2</sup>s<sup>-1</sup>.** Количество сухой биомассы: 1-ый день - 0,1 DCW, gl<sup>-1</sup>, 2-ой день - 0,13 DCW, gl<sup>-1</sup>, 3-ий день - 0,24 DCW, gl<sup>-1</sup>, 4-ый день - 0,31 DCW, gl<sup>-1</sup>, 5-ый день - 0,77 DCW, gl<sup>-1</sup>, 6-ой день - 1,2 DCW, gl<sup>-1</sup>, 7-ой день - 1,62 DCW, gl<sup>-1</sup>.

**III – интенсивность света 400 μmol m<sup>2</sup>s<sup>-1</sup>.** Количество сухой биомассы: 1-ый день - 0,1 DCW, gl<sup>-1</sup>, 2-ой день - 0,11 DCW, gl<sup>-1</sup>, 3-ий день - 0,22 DCW, gl<sup>-1</sup>, 4-ый день - 0,28 DCW, gl<sup>-1</sup>, 5-ый день - 0,58 DCW, gl<sup>-1</sup>, 6-ой день - 0,78 DCW, gl<sup>-1</sup>, 7-ой день - 1,28 DCW, gl<sup>-1</sup>.

Было показано, что оптимальная интенсивность света для роста микроводорослей *Spirulina platensis* составляет 300 μmol m<sup>2</sup>s<sup>-1</sup>.

## ГЕНОТИПИРОВАНИЕ КУР (*GALLUS GALLUS*) РАЗЛИЧНЫХ ПОРОД И КРОССОВ РОССИИ ПО МХ1 ГЕНУ

**Кудина Е.П.**

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства имени академика Л.К. Эрнста,  
Дубровицы, Россия  
*kelenakam@mail.ru*

Одним из перспективных современных биотехнологических приемов является выявление белков, экспрессия которых обуславливает резистентность животных и птицы к заболеваниям. Примером таких белков является так называемый белок Мх1.

Продуктом гена является антивиральный ГТФазный фермент, экспрессия которого индуцируется интерфероном (IFN). Вирусная инфекция индуцирует экспрессию интерфероновых генов, а интерферон приводит в действие еще целую систему генов, имеющих отношение к антивирусному иммунитету, среди которых важная роль отводится гену Мх1. Актуальным является анализ полиморфизма гена Мх1 у кур различных пород России, выявление аллелей данного гена, имеющих презумптивно положительную антивиральную активность и оценка потенциальной устойчивости кур различных пород России к вирусу птичьего гриппа.

Целью исследования была характеристика отечественных пород кур по полиморфизму гена Мх1. Секвенирование кДНК показало, что у всех линий клеток кур, проявляющих положительную антивиральную активность *in vitro*, в позиции 631 аминокислотной последовательности присутствует аминокислота Asn, а у линий клеток кур, характеризующихся отрицательной антивиральной активностью, аминокислота Ser. Таким образом, данная аминокислотная замена, по всей видимости, обуславливает антивиральную активность Мх кур. Предпочтительным является аллель АА.

Была разработана молекулярно-генетическая модель PSQ-ПЦР анализа и выполнена её апробация путём исследования генетического полиморфизма гена МХ1 у 77 голов кур. Даны характеристики частот встречаемости аллелей и генотипов по Мх1 гену и выполнен анализ генетической структуры в 8 популяциях отечественных пород птицы.

Наличием только гомозиготного генотипа АА характеризовалась порода леггорн. Наибольшей частотой встречаемости генотипа АА характеризовались куры материнских форм кроссов радонез и птичное.

Наличием только гетерозиготного генотипа АG характеризовалась птица следующих пород – московская и узбекская бойцовые, орловская, русская белоснежная, юрловская. Ни одна из и изученных популяций не характеризовалась 100% частотой встречаемости гомозигот GG, что говорит о хорошей предпосылке для проведения селекции на повышение частоты встречаемости желательного генотипа АА в породах кур, разводимых на территории России.

Полученные данные говорят о высоком генетическом разнообразии пород кур, разводимых на территории России по гену МХ1.

## ТВЕРДОФАЗНАЯ ФЕРМЕНТАЦИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ В БЕЛКОВЫЕ КОРМОВЫЕ ДОБАВКИ

**Кули Ж.Т., Жабаква А.Б., Кистаубаева А.С., Абдулжанова М.А.**

Казахский национальный университет им. аль-Фараби, НИИ Проблем биологии и биотехнологии, Алматы,  
Республика Казахстан  
*tleuberdi\_zhansaya@mail.ru*

В настоящее время перспективным направлением является биоконверсия отходов сельского хозяйства и промышленности, которая дает возможность одновременно утилизировать отходы и получать ценный кормовой белок для обогащения ими биологически активных полуфабрикатов, что приводит к снижению или даже ликвидации дефицита белка в рационах животных и человека.

Основой для выполнения работы являлись 90 изолятов дрожжей, выделенных из подсолнечного жмыха, отрубей, кобыльего и коровьего молока и негидролизованые растительные субстраты – подсолнечный шрот, отруби, зерновая солома, свеклосахарный жом. В ходе исследования выявлено 7 продуктивных штаммов, которые были идентифицированы и отнесены к видам *Pichia guilliermondii* и *Debaryomyces hansenii*. Данные штаммы активно накапливают биомассу и белок при твердофазной ферментации (ТФФ) на вторичном сырье. Солому и пшеничные отруби измельчали, ферментировали 1-1,5 суток, периодически помешивали. Продукт, содержащий биомассу клеток, целлюлозу, гемицеллюлозу, растворимые гексозаны и пентозаны, комплекс целлюлаз. Продуцентами белка - штаммы дрожжей. Сырье помещали в колбу, 30% от общего объема и добавляли питательные соли, воду. Затем автоклавировали, одновременно запаривали сырье и деаэрировали питательную среду. Далее понижали температуру до 60°C и подавали штаммы дрожжей в количестве 15-20% от рабочего объема. ТФФ проводили до 72 часов.

Результаты показывают эффективность ТФФ после 48 часов. В субстратах, где росли штаммы К5, КБ4, ПЖ1 и ПЖ2 содержание сырого протеина повысилось в среднем на порядок: солома от 3,61% до 4,89% и отруби от 15,27% до 27,32%. На свекловичном жоме штаммы К5, КБ4 и ПЖ2 набирают массовую долю сырого протеина до 25-27%, остальные штаммы К4, КБ1 и ПЖ1 до 20-22,8%. Свекловичный жом, при ферментации в течение 72 часов собирает массу протеина от 18,4 до 23,7%. Таким образом, массовая доля сырого протеина после дрожжевой ферментации в 2-3 раза больше, что улучшает питательные качества обработанного свекловичного жома. Кроме того, было проведено поверхностное культивирование штаммов дрожжей на нативном подсолнечном шроте. Спустя уже сутки ТФФ со штаммами К5, КБ4, ПЖ1 и ПЖ2 содержание белка в подсолнечном шроте повысилось на 1,5 раза.

Таким образом, экспериментальные данные указывают на то, что в полученных ферментированных в растительных субстратах содержание белка составляет от 2 до 20%, что характеризует полученные посевные материалы как потенциальные обогатители пищевых продуктов. Наибольшее содержание белка определено в подсолнечном жоме (до 39%), а в ферментированном штаммами К-5, КБ-4, ПЖ-1 и ПЖ-2 подсолнечном жоме до 56% белка.

### **РАЗРАБОТКА БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО СПОСОБА ПОЛУЧЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО АНАЛОГА ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ИНТЕРЛЕЙКИНА-15**

**Лыкошин Д.Д., Костромина М.А., Есипов Р.С.**

ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова  
Российской академии наук, Москва, Россия

*idd-94@yandex.ru*

На сегодняшний день главным медикаментозным способом лечения рака является химиотерапия, которая, как правило, не селективна к пролиферирующим клеткам. Остаются проблемы, связанные с токсичностью и невосприимчивостью лечения. В связи с этим, в последнее время возрос интерес к применению иммунотерапии с целью лечения злокачественных новообразований и предотвращения рецидива у пациентов. Основными физиологическими эффектами цитокинов являются активация и стимуляция роста иммунных клеток. Таким образом, цитокиновая терапия может быть направлена на увеличение числа иммунных клеток, активацию их цитотоксичности и синтез цитокинов для повышения иммунологической реактивности.

Плейотропный цитокин интерлейкин-15 (IL-15) обеспечивает созревание, дифференцировку, активность и гомеостаз Т-лимфоцитов, NK-клеток, CD8<sup>+</sup>-Т-клеток памяти, дендритных клеток, при этом не стимулируя рост иммуносупрессивных регуляторных Т-клеток. IL-15 повышает выживание CD8<sup>+</sup>CD44<sup>hi</sup> Т-клеток памяти, индуцируя экспрессию ингибиторов апоптоза Bcl-2 и Bcl-xl. Таким образом, широкая иммунологическая активность в сочетании с отсутствием токсичности, подтвержденным в доклинических исследованиях, представляет IL-15 подходящим кандидатом для создания иммуномодулирующего средства для лечения рака, в связи с чем возникла необходимость в биотехнологическом способе его получения.

Рекомбинантный человеческий IL-15 представляет собой единую, негликозилированную полипептидную цепь, размером 12,7 кДа. Последовательность гена, кодирующая интерлейкин 15 человека (rhIL-15) и оптимизированная под экспрессию в клетках *E. coli*, была синтезирована химико-ферментативным способом из перекрывающихся нуклеотидов и клонирована в экспрессионный вектор рЕТ23b+ на основе которого создан штамм-продуцент. Затем были оптимизированы условия культивирования штамма-продуцента rhIL-15, подобрана оптимальная схема рефолдинга белка и разработана методика двустадийной хроматографической очистки сначала на анионообменном сорбенте, затем посредством ОФ ВЭЖХ. Масса белка была подтверждена методом масс-спектрометрического анализа, чистота целевого продукта составила >97%.

В соответствии с данной методикой была наработана опытная партия рекомбинантного аналога интерлейкина-15 rhIL-15 в количестве 30мг и передана для дальнейшего исследования биологической активности в ИХБФМ СО РАН, Новосибирск.

### **НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОНТОГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ *BOTRYCHIUM MULTIFIDUM* (S.G. GMEL.) RUPR.**

**Малахова К.В., Зонтиков Д.Н., Марамохин Э.В.**

ФГБОУ ВПО Костромской государственной университет имени Н.А. Некрасова, Кострома, Россия

*malahova.kseniya1@yandex.ru*

Гроздовник многораздельный (*Botrychium multifidum* (S.G. Gmel.) Rupr.) является реликтовым высшим споровым растений, имеющим тенденцию к сокращению численности популяции. Это представитель архаичных сосудистых растений, отличающийся по своей морфологии от других

существующих папоротников. Данный вид гроздовника внесен во многие региональные Красные книги. Для этого объекта изучение особенностей развития гаметофита практически не проводилось.

Считаем наиболее целесообразным исследовать развитие гаметофита методом культивирования спор гроздовника в условиях *in vitro*. Это позволит детально проследить начальные этапы онтогенеза для последующего выяснения причин снижения численности его популяций и его естественного воспроизводства с целью восстановления численности.

Цель исследования – изучение особенностей развития гаметофита гроздовника многораздельного в культуре *in vitro*.

В качестве донорных эксплантов использовали сорусы со спорангиями, из которых впоследствии выделяли споры.

Наиболее оптимальным оказался следующий режим стерилизации: выдерживание растительного материала в 70° этаноле (1 минута) с последующим погружением в 3% раствор гипохлорита натрия (15 минут). Для стерилизации сорусов применили кратковременный обжиг. При этом контаминация снижалась до нуля, но морфогенность материала сохранялась.

Для культивирования использовали питательную среду MS с добавлением мезоинозита в концентрации 100 мг/л, глицина – 2 мг/л, тиамин – 0,5 мг/л; пиридоксина – 0,5 мг/л; и питательную среду Knudson с добавлением мезоинозита в концентрации 100 мг/л, тиамин – 0,4 мг/л. В качестве регуляторов роста использовали кинетин в концентрации 1,0 мг/л; сахарозы – от 2 до 20 мг/л; агара – 5,0 мг/л; уровень pH 4,0-6,0. Культивирование спор гроздовника многораздельного проводили в темноте.

В ходе работы были выявлены начальные этапы онтогенеза гроздовника. На 4-е сутки после помещения спор на питательную среду отмечается появление трехлучевого тетраидного рубца в центральной части споры. При этом происходил митоз внутри споры. На 6-е сутки выявлено раскрытие рубца и появление первичного ризоида гаметофита. На 12-е сутки после этого замечен выход первичного ризоида над поверхностью оболочки споры. Спустя 7 дней после его выхода обнаружено появление сформированного гаметофита с характерными для него морфологическими чертами.

В текущем исследовании при помощи микроскопии были изучены начальные этапы развития гаметофита гроздовника многораздельного при культивировании его спор в условиях *in vitro*.

#### КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ЭПИФИТНОГО ЛИШАЙНИКА *LOBARIA PULMONARIA* (L.) HOFFM. В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

Марамохин Э.В., Зонтиков Д.Н., Малахова К.В.

ФГБОУ ВПО Костромской государственной университет имени Н.А. Некрасова, Кострома, Россия

*maramokhin91@mail.ru*

Зачастую хозяйственная деятельность человека приводит к тому, что многие виды лишайников, имеющие низкую антропогенную устойчивость, не могут приспособиться к изменяющимся условиям среды, что приводит к сокращению их ареала, снижению плотности популяций и, в конечном счете, к исчезновению данных видов с ранее занимаемой территории. Это связано с тем, что они имеют сложный жизненный цикл, кроме того изучаемые лишайники имеют многокомпонентную структуру таллома, что затрудняет взаимное нахождение в природе данных компонентов.

Объектом исследования является эпифитный лишайник *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm., которая включена в федеральную Красную книгу.

Целью исследования является разработка методики размножения лишайника при помощи культивирования его в условиях *in vitro*.

Использование культуры *in vitro* открывает возможности к наблюдению и изучению симбиотического образования компонентов лишайника: мико- и фотобионта. Кроме того, методы биотехнологии позволяют выявить ключевые моменты онтогенеза для понимания особенностей размножения, развития и распространения рассматриваемого объекта.

На первом этапе подобран оптимальный режим стерилизации материала. Наиболее приемлемым режимом стерилизации является экспозиция в 70° этаноле 40 с, с последующим погружением в 3% раствор гипохлорита натрия на 15 м. При данном режиме стерилизации процент контаминации составлял 31%.

Для культивирования *Lobaria pulmonaria* использовали: таллом с соралиями, таллом с ризоидами, ризоиды и соралии отдельно. Для микроразмножения применяли среды для фотобионта и микобионта. Для фотобионта среда MS со следующим составом: KNO<sub>3</sub> – 250 мг/л, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 175 мг/л, MgSO<sub>4</sub> – 75 мг/л, CaCl – 25 мг/л, NaCl – 25 мг/л, EDTA – 50 мг/л, FeSO<sub>4</sub> – 5 мг/л, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> – 11 мг/л, ZnSO<sub>4</sub> – 8 мг/л, Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> – 0,5 мг/л, сахароза – 20 г/л, агар – 6 г/л, кислотность – pH 5,0-6,0. Для микобионта были использована среда Чапека со следующим макро- и микроэлементарным составом: KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1 г/л, MgSO<sub>4</sub> – 0,5 г/л, тиамин – 1 мг/л, ZnSO<sub>4</sub> – 0,5 мг/л, мальтоза 10 г/л, агар – 6 г/л, pH 5,0.

При данном способе культивирования наблюдалось развитие фото- и микобионта лишайника. В ряде пробирок обнаружена повторяющаяся морфологическая структура таллома микобионта. Наблюдался

быстрый рост микобионта на питательной среде – в начале он имел оранжевую окраску, затем она сменялась более темной.

Таким образом был получен микобионт *Lobaria pulmonaria* в культуре *in vitro*. Кроме того нам удалось наблюдать возникновение симбиоза фото- и микобионта. В результате исследования получены чистые культуры компонентов лишайника.

### ОЦЕНКА ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ ЖИВОТНЫХ ПРИ КОРРЕКЦИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГИПОТИРЕОЗА ЙОДОСОДЕРЖАЩИМИ БАД К ПИЩЕ

**Маслов И.В., Сордонова Е.В.**

ФГБОУ ВПО Восточно-Сибирский Государственный университет технологий и управления,  
Улан-Удэ, Республика Бурятия, Россия

*angerius@list.ru*

В настоящее время известно о влиянии тиреоидных гормонов на деятельность нервной системы. Нервная и эндокринная системы обеспечивают регуляцию процессов жизнедеятельности и функционирования тканей и органов, а также объединяют все системы организма в единое целое. Особое значение для организма человека играют такие микроэлементы как селен и йод. Недостаток йода и селена является причиной возникновения различных патологических состояний в функционировании щитовидной железы, поскольку йод и селен участвуют в образовании тиреоидных гормонов.

Целью настоящих исследований явилось изучение нейромодулирующего действия биологически активной добавки к пище «Se-I-эластин» в условиях экспериментального гипотиреоза. Для воспроизведения основных симптомов гипотиреоза использовали тиреостатик тирозол в дозе 20 мкг на кг массы животного.

Тирозол ускоряет выведение йодидов из щитовидной железы, блокирует пероксидазу и угнетает процессы йодирования тирозина с образованием трийодтиронина и тироксина. Он активизирует синтез и выделение гипофизом тиреотропного гормона, что сопровождается гиперплазией щитовидной железы.

Экспериментальные исследования проводились на половозрелых крысах (самцах) весом 120-180 г. В эксперименте изучали ориентировочно-исследовательское поведение и суммарную двигательную активность животных в тесте «открытое поле» (по мет. *Буреш Я. И др., 1991*), определяли вегетативную функцию по тесту дефекации (по мет. *Буреш Я. И др., 1991*), а также груминг крыс (по мет. *Celis M.E., Torre E., 1993*).

Животные были разделены на 3 группы. Первая группа - интактная. У животных второй (контроль) и третьей (опыт) групп моделировали гипотиреоз путём перорального введения тирозола в течение 14 дней, с последующей коррекцией с использованием биологически активной добавки третьей группы.

В результате эксперимента установили, что использование биологически активной добавки «Se-I-эластин» восстанавливает активность и поведенческие реакции подопытных животных в условиях искусственного стресса до показателей интактных животных на фоне йоддефицитного состояния.

### ДОПЛЕРОГРАФИЧЕСКАЯ СТЕРЕОМОДЕЛЬ ВНУТРИСЕРДЕЧНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ ПЛОДА

**Медведева Д.А.<sup>1,2</sup>, Казанцев А.П.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биологического приборостроения с опытным производством Российской академии наук, Пушино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушино, Россия

*dkarpova@mail.ru*

Стереомодель гемодинамики сердца плода используется для моделирования потоков крови в апертуре непрерывноволнового зонда во время доплерографического исследования. Такой подход дает возможность изолировать друг от друга потоки крови через клапаны сердца во времени и пространстве для расчёта гемодинамических показателей состояния плода. Модель представляет процессы кровотока при различных ракурсах зонда относительно сердца плода как совокупность компонентов объемной скорости кровотока в зависимости от времени.

Если доплеровский зонд находится в произвольном положении, то кровотоки могут перекрываться, и измерения показателей невозможны, т.к. один или даже несколько кровотоков являются помехами для измеряемого компонента. Поэтому, например, для получения диастолического отношения необходим ракурс, при котором изолируется кровоток избранного атриовентрикулярного клапана.

Если расположить доплерографический зонд так, что его ось перпендикулярна плоскости нормалей митрального и легочного клапанов, можно представить чистый кровоток через трикуспидальный клапан, что позволяет смоделировать измерение диастолического отношения правого желудочка. Также на

примере изоляции кровотока через аортальный клапан можно показать, что есть такие положения зонда, в которых одновременно изолированы два кровотока – в положительной области аортального, в отрицательной – трикуспидального.

Предложенная модель объясняет наблюдаемый в эксперименте внутрисердечный кровоток плода и позволяет построить оптимальную схему автоматических измерений гемодинамических показателей плода для дистанционного мониторинга его состояния.

### МОЛЕКУЛЯРНАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОТИПОВ ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ПО АЛЛЕЛЬНЫМ ВАРИАНТАМ WxY-ГЕНОВ

**Миков Д.С., Давоян Э.Р., Агаева Е.В., Зубанова Ю.С., Болдаков Д.М., Давоян Р.О.**  
ФГБНУ Краснодарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства им. П.П. Лукьяненко,  
Краснодар, Россия  
*dmmik@mail.ru*

Одним из важных направлений селекции мягкой пшеницы является получение сортов с улучшенными технологическими качествами зерна. Особое внимание уделяется контролю генов, кодирующих синтез амилозы в крахмале и влияющих на хлебопекарные показатели.

Снижение содержания амилозы с 20-25% до нуля приводит к улучшению мукомольных, хлебопекарных качеств и технологических свойств зерна. В синтезе амилозы ключевую роль играет связанная с крахмальными гранулами синтаза GBSS1. Этот фермент кодируется WxY генами (WxA1, WxB1 и WxD1). Наличие трех нефункциональных аллелей по этим генам приводит к полной элиминации GBSS1, блокированию синтеза амилозы и формированию крахмала амилопектинового типа.

Проведен скрининг 59 линий мягкой пшеницы с генетическим материалом *Agropyron intermedium*, 31 линии с генетическим материалом *Aegilops speltoides*, 104 линий с генетическим материалом *Aegilops Tauschii* и 522 линий селекционного материала отдела селекции пшеницы и тритикале КНИИСХ на аллельное состояние генов WxA1, WxB1 и WxD1. Для идентификации аллельного состояния гена WxA1 был использован молекулярный маркер AFC/AR2.

При использовании молекулярного маркера AFC/AR2 было выявлено 138 линий с нуль аллелью по гену WxA1. Среди этих линий 3 – с генетическим материалом *Ag. intermedium*, 1 – с генетическим материалом *Ae. speltoides* и 1 – с генетическим материалом *Ae. tauschii*.

Для определения аллельного состояния гена Wx-D1 использовали молекулярный маркер Wx-D1-2-F/R. С его помощью выявлено 201 линия с наличием нуль аллеля в локусе Wx-D1.

Для анализа локуса Wx-B1 использовали молекулярный маркер BDFL/BRC1. На основании амплификации с использованием данного маркера нуль аллель в локусе Wx-B1 была найдена в 73 линиях мягкой пшеницы, среди которых 3 линии – с генетическим материалом *Ae. speltoides* и 6 – линий с генетическим материалом *Ae. tauschii*. Также стоит отметить, что нуль аллель по Wx-B1 является наиболее перспективной для селекции.

С применением данных маркеров всего отобрано 14 линий с сочетанием нуль аллелей WxA1+WxB1, 61 линия с сочетанием нуль-аллелей по локусам WxA1+WxD1, 26 линий с нуль-аллелями по локусам WxB1+WxD1. Также было идентифицировано 8 линий с нефункциональными нуль аллелями по 3 локусам: WxA1, WxB1 и WxD1, которые являются наиболее перспективными для дальнейшей селекции.

### РАЗРАБОТКА КАНДИДАТНОЙ СУБСТАНЦИИ РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА CRM197

**Мировская А.А., Богомолова Е.А., Добровольская О.А.**  
ФГУП Государственный НИИ особо чистых биопрепаратов ФМБА, Санкт- Петербург, Россия  
*amirovskaya94@mail.ru*

Белок CRM197 является одним из нетоксичных вариантов дифтерийного токсина, характеризующийся единичной мутацией в положении 52. Классическим способом получения рекомбинатного CRM197 является его продукция в клетках *C. diphtheria*. На сегодняшний день существует альтернативный вариант получения CRM197, основанный на использовании *E.coli* в качестве продуцента. Данный метод является более простым и дешевым и позволяет получать рекомбинантный CRM197 в короткие сроки с использованием непатогенного микроорганизма. В настоящее время активно идет разработка новых поли- и олигосахаридных вакцин с использованием в качестве белка-носителя CRM19, который вызывает активацию Т-клеточного ответа. Вакцины, содержащие CRM197, были успешно использованы для иммунизации сотен миллионов детей. К таким вакцинам относятся НВОС (HibTITER®), PCV13 (Prevenar 13TM) и Meningitec®.

В виду широкого применения белка CRM197 в составе вакцинных препаратов и отсутствия в России технологии его получения актуальной является его разработка.



Целью данной работы является разработка состава кандидатной субстанции фармацевтически приемлемого рекомбинантного белка CRM197.

В ходе работы изучены физико-химические свойства CRM197, в частности определены индекс GRAVY, равный 0,339, что свидетельствует о хорошей растворимости данного белка в водных растворах, алифатический индекс, равный 82,067, что характеризует CRM197 как средне термостабильную белковую молекулу, также экспериментально определен его молекулярный вес равный 59 кДа. По результатам денситометрического анализа электрофореграммы рекомбинантного белка CRM197 показано, что образец имеет чистоту 99%. Разработан состав кандидатной субстанции CRM197, представляющий собой раствор рекомбинантного белка CRM197 в 50мМ натрий фосфатном буфере, содержащем 2% сахарозы, 0,1% Tween 20, pH 8,0. В субстанции рекомбинантного белка CRM197 присутствуют примеси белка штамма-производителя равные 0,054 нг/мкг белка CRM197, ДНК штамма-производителя 1,26 пг/мкг белка CRM197, а также остаточные эндотоксины <0,078 EU на 1 мг белка, что характеризует ее как фармацевтически приемлемую.

Исследование выполнено в рамках НИОКР по соглашению №14.579.21.0022 с Минобрнауки РФ о предоставлении субсидии из федерального бюджета для прикладных научных исследований по лоту шифр 2014-14-579-0001 по теме: «Разработка конъюгированных вакцин на основе синтетических углеводных лигандов против возбудителей госпитальных инфекций». Соглашение о выделении субсидий № 14.579.21.0022 от 05 июня 2014 г. Уникальный идентификатор прикладных научных исследований (проекта) RFMEFI57914X0022.

### **ЭНДОКСИЛАЗА БАКТЕРИИ CELLULOMONAS FLAVIGENA: ПОЛУЧЕНИЕ ПРОДУЦЕНТА И ХАРАКТЕРИСТИКА ФЕРМЕНТА**

**Нагель А.С., Ковалевская Ж.И., Белова О.В., Леонтьевский А.А.**

ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук, Москва, Россия

*anagell@mail.ru*

Основным возобновляемым источником энергии и сырья на Земле является растительная биомасса. Ее большую часть составляют полимеры клеточной стенки растений: целлюлоза, гемицеллюлоза и лигнин. Наиболее распространенным типом мономеров гемицеллюлозы является  $\beta$ -D-ксилоза, формирующая основной компонент гемицеллюлоз – ксилан. Эндоксилаза (КФ 3.2.1.8) катализирует расщепление  $\beta$ -1,4-гликозидных связей в молекулах ксилана с образованием олигосахаридов различной молекулярной массы. Ксиланазы применяют на практике для отбеливания бумажной массы при производстве бумаги, для улучшения пекарских свойств муки, а также для увеличения питательной ценности кормов для сельскохозяйственных животных за счёт гидролиза ксилана.

Данная работа посвящена созданию продуцента эндоксилазы *Cellulomonas flavigena*, относящейся к семейству глюкогидролаз 10 (GH10), её очистке и характеристике. Для поиска последовательности гена данного фермента использовалась информация о полной нуклеотидной последовательности генома *C.flavigena* DSM 20109. С помощью программы SignalP 4.1 в гене выявлена последовательность, кодирующая нативный сигнальный пептид. На основании этих данных были созданы праймеры для амплификации и клонирования гена эндоксилазы без этой последовательности. Для секретиции продукта клонированного гена в *Pichia pastories* использовался сигнальный пептид, кодируемый сконструированной векторной плазмидой pPIC9M. Первичный отбор рекомбинантных плазмид проводили в клетках *E.coli*, затем интегрировали в хромосому *P.pastories* GS115.

В результате получен штамм *P.pastories*, продуцирующий эндоксилазу *C. flavigena*. Белок секретируется во внеклеточную среду. Его молекулярная масса составляет 67 кДа. Фермент наработан и получен в электрофоретически гомогенном состоянии с помощью металл-хелатной хроматографии. Фермент обладает высокой активностью в отношении ксилана – 320 Ед/мг. Ксиланаза не активна в отношении КМ-целлюлозы, микрокристаллической целлюлозы, бета-глюкана. Оптимум pH – 7.0. Время полуинактивации при 50°C - 20 минут. В качестве основных продуктов гидролиза ксилана наблюдались ксилобиоза и ксилопентаоза, что характерно для ксиланаз семейства GH10.

### **ПОЛУЧЕНИЕ ФЕРМЕНТНОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ГРИБА PENICILLIUM VERRUCULOSUM, ОБОГАЩЕННОГО ЭНДО- $\beta$ -1,4-ГЛЮКАНАЗОЙ II (Cel5A)**

**Немашкалов В.А.<sup>1</sup>, Вахрушева А.В.<sup>2</sup>, Бубнова Т.В.<sup>1</sup>, Мытыс В.Ю.<sup>1</sup>, Беккаревич А.О.<sup>1</sup>, Кошелев А.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук, Пущино, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт Белка Российской академии наук, Пущино, Россия

*vnemashkalov@gmail.com*

Эффективность гидролитического действия целлюлазных комплексов, синтезируемых грибами штаммами-продуцентами, состав питательной среды и условий культивирования этих продуцентов

являются важнейшими факторами рентабельности процессов биоконверсии лигноцеллюлозных материалов. С целью снижения затрат на получение конечного продукта (целлюлазного ферментного препарата) в лаборатории биосинтеза и получения ферментов ИБФМ РАН активно ведется работа по созданию новых штаммов – суперпродуцентов внеклеточных карбогидраз, а также оптимизации состава питательных сред и условий культивирования.

В рамках данного исследования была проведена работа по оптимизации ферментационной среды и условий культивирования рекомбинантного штамма, полученного на основе гриба *P. verruculosum*, обладающего высоким уровнем синтеза гомологичной эндо- $\beta$ -1,4-глюканазы II (Cel5A). Результаты экспериментов по оптимизации питательной среды, замене дорогостоящих компонентов (микрористаллической целлюлозы, дрожжевого экстракта и др.) на альтернативные субстраты и условий культивирования продуцента показали возможность снижения стоимости конечного ферментного препарата ориентировочно на 30-40 %. Показано, что ферментный препарат, обогащенный эндо- $\beta$ -1,4-глюканазой II, обладает повышенной (до 35%) гидролитической способностью по отношению к природным целлюлозосодержащим субстратам (измельченным осине и багассе) по сравнению с коммерческими ферментными препаратами.

### **ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ СОСТАВОВ ИСКУССТВЕННЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД НА СКОРОСТЬ ДОСТИЖЕНИЯ ЦЕЛЕВОГО ВОЗРАСТА И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ГУСЕНИЦ НЕПАРНОГО ШЕЛКОПРЯДА К ВИРУСУ ЯДЕРНОГО ПОЛИЭДРОЗА**

**Охлопкова О.В., Моисеева А.А.**

Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Кольцово, Россия

*Ohlopkova\_ov@vector.nsc.ru*

**Актуальность.** По данным существующих исследований известно, что состав искусственных питательных сред (ИПС) может оказывать воздействие на физиологическое состояние лабораторных популяций насекомых, сказывающееся на их важнейших биологических характеристиках (формирование жирового тела, период прохождения линьки), а также на чувствительности к вирусным инфекциям.

Однако на данный момент среди исследователей нет единой позиции относительно влияния содержания и соотношения питательных веществ в ИПС на развитие насекомых и их чувствительность к вирусам.

**Цель исследования.** Установить скорость достижения III возраста непарным шелкопрядом (НШ) при культивировании на ИПС с различным составом и степень чувствительности насекомых к вирусу ядерного полиэдроза (ВЯП).

**Материалы и методы.** Грену непарного шелкопряда собирали во II декаде октября 2015 г. в Ордынском районе Новосибирской области в очаге массового размножения насекомых. Яйца подвергали поверхностной стерилизации 0,6% раствором перекиси водорода и ставили на активацию при 24°C. Отродившихся гусениц рассаживали группами в чашки Петри с ИПС трех видов, которые различались по ключевым компонентам: 1) кукурузная мука, 2) фасоль, 3) дрожжевой экстракт. При культивировании НШ фиксировались личиночные стадии.

Для инфицирования насекомых применяли изолят ВЯП НШ 7 (ГНЦ ВБ «Вектор»). На ИПС соответствующего вида наносили вирусную суспензию, культивировали на ней насекомых. Причину гибели гусениц устанавливали микроскопическим методом. По завершении эксперимента определяли показатель летальности вируса для гусениц на каждом виде ИПС.

**Результаты.** Скорость достижения III возраста у гусениц, культивируемых на ИПС с кукурузной мукой, составила 14±1 суток. Для насекомых, культивируемых на ИПС с фасолью, данный показатель составил 12±1 суток. Наиболее низкую скорость достижения целевого возраста имели гусеницы, выращенные на ИПС с дрожжевым экстрактом – 16±1 суток. На 9-е сутки после заражения была определена летальность вируса для гусениц. На ИПС с кукурузной мукой она составила 96%, с фасолью – 80%, с дрожжевым экстрактом – 63%.

**Выводы.** По результатам проведенного нами исследования гусеницы непарного шелкопряда, культивируемые на ИПС с фасолью и кукурузной мукой, оказались более чувствительны к ВЯП. Насекомые, выращенные на ИПС с фасолевым компонентом, имели более высокую скорость прохождения линьки и быстрее достигали III возраста, что очень важно для биотехнологического производства, так как способствует экономии ресурсов.

## РАЗРАБОТКА СХЕМЫ ОЧИСТКИ СВИНОГО РЕКОМБИНАНТНОГО $\alpha$ -ИНТЕРФЕРОНА

**Павлова Ю.В., Потапович М.И., Прокулевич В.А.**  
Белорусский Государственный Университет, Минск, Беларусь

*yuliapavlova28@gmail.com*

В настоящее время в животноводстве вообще и в свиноводстве в частности остро стоит проблема вирусных заболеваний животных, поскольку эффективные противовирусные препараты практически отсутствуют. Наиболее серьезными заболеваниями свиней вирусной этиологии признаны африканская и классическая чума свиней, эпидемическая диарея, а также респираторно-репродуктивный синдром.

В связи с этим перспективным представляется использование лечебно-профилактических препаратов на основе рекомбинантных свиных интерферонов (ИФН), которые, как известно, обладают высокой неспецифической антивирусной и иммуномодулирующей активностью.

Свиной и человеческий ИФН довольно близки по структуре и обладают перекрестной активностью, хотя активность в собственном организме гораздо выше. Существует практика использования человеческого интерферона для лечения заболеваний животных, однако последние данные показывают, что чужеродный белок, даже несмотря на близость по структуре к собственному белку животного, не вызывает в организме той же полноты каскада реакций.

Получение рекомбинантных интерферонов, свойственных определенному животному, возможно с использованием бактериальных штаммов-продуцентов, в частности *Escherichia coli*.

В ходе работы в клетках *E. coli* был клонирован ген свиного  $\alpha$ -ИФН и получен высокоэффективный штамм-продуцент целевого белка. Было установлено, что ИФН накапливался в бактериальных клетках в нерастворимой форме в виде телец включения. Для получения активного белка из телец включения необходимо проводить процедуру рефолдинга, т.е. восстановление нативной структуры белка, что зачастую сопряжено с большими потерями и низким выходом конечного продукта.

Нами были подобраны и оптимизированы условия рефолдинга свиного  $\alpha$ -ИФН, что позволило получить выход целевого продукта на уровне 95-98% от его первоначального содержания. Также была разработана двухстадийная схема очистки целевого белка, включающая стадии ионообменной хроматографии и гель-фильтрации. В результате получен белок свиного рекомбинантного альфа-интерферона с чистотой >99% и антивирусной активностью  $4 \times 10^9$  МЕ/мг, что соответствует лучшим стандартам, представленным на рынке.

## ВЛИЯНИЕ PGPR НА УСТОЙЧИВОСТЬ ТОМАТОВ И ОГУРЦОВ К ФИТОПАТОГЕНАМ *IN VITRO*

**Павловец Ю.Ю., Шульжик А.С., Лагодич О.В.**  
Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*LagodichOV@bsu.by*

Томаты и огурцы – широко распространенные по всему миру овощные культуры, которые культивируются как в открытом, так и защищенном грунте. Однако данные культуры подвергаются вирусными, грибковыми и бактериальными заболеваниями, которые наносят значительный экономический ущерб сельскому хозяйству. Таким образом, крайне важными являются мероприятия по профилактике заболеваний и защите растений, к которым можно отнести биологические средства защиты с использованием ризосферных бактерий (PGPR). Применение данных средств повышает общую неспецифическую устойчивость к неблагоприятным факторам биотической и абиотической природы путем индукции природных защитных механизмов.

В связи с этим является актуальным изучение ISR у томатов и огурцов, индуцируемой метаболитами PGPR. Для изучения защитного эффекта была выбрана система искусственного заражения рассады томата и огурца спорами фитопатогенного гриба рода *Botrytis cinerea* Pers *in vitro*. В качестве элиситоров использовали культуральную жидкость, освобожденную от клеток бактерий: штаммов *P. aurantiaca* В-162, *P. putida* КМБУ 4308, а также их мутанты *P. aurantiaca* *phz*<sup>-</sup> и *P. putida* *pyd*<sup>-</sup>, не способные к синтезу феназиновых антибиотиков и пиовердина, соответственно.

Семена томатов сорта «Лерамога 165» и огурцов сорта «Славянский» перед посевом подвергали поверхностной стерилизации в хлорсодержащем растворе, слабом растворе  $KMnO_4$ , в 70%-ном этиловом спирте и промывали стерильной  $H_2O$ . Семена проращивали *in vitro* на агаризованной безгармональной среде Мурасиге-Скуга, содержащей стандартный набор солей и включающей 7 г/л агара и 30 г/л сахарозы. Растения культивировали в климатической камере при температуре 20–24°C, 16 часовом дне. Через несколько суток проросшие семена пересаживали в большие пробирки *in vitro* со средой МС. Затем растения в стерильных условиях обрабатывались культуральной жидкостью PGPR. Спустя 3 недели, на листья наносилась суспензия спор *B. cinerea*.

Через неделю после заражения на растениях, обработанных культуральной жидкостью *P. putida* и *P. aurantiaca*, отмечались незначительные участки поражения грибом. В то время как на контрольных растениях (ничем не обработанных) и растениях, обработанных культуральной жидкостью *P. putida pvd* и *P. aurantiaca ph2*, поражения *B. cinerea* охватывало до 40% площади листовой пластинки.

Таким образом, выполненные на данном этапе исследования показали, что с помощью внеклеточных метаболитов бактерий *P. putida* и *P. aurantiaca*, можно защитить растения томатов и огурца от поражения грибом *B. cinerea in vitro*, что свидетельствует о запуске ISR.

## НОВЫЙ ФОРМАТ ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНОГО ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО АНАЛИЗА И ЕГО РЕАЛИЗАЦИЯ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ АФЛАТОКСИНА В1

Петракова А.В.<sup>1</sup>, Урусов А.Е.<sup>1</sup>, Жердев А.В.<sup>1</sup>, Возняк М.В.<sup>2</sup>, Дзантиев Б.Б.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ Фундаментальные основы биотехнологии Российской академии наук, Москва;

<sup>2</sup>ООО «ИЛ Тест-Пушино», Пушино, Россия

*alina.petrakova@gmail.com*

Афлатоксин В1 – токсичный метаболит плесневых грибов, являющийся одним из приоритетных контаминант пищевой продукции. Широкий контроль безопасности продуктов питания и кормов требует разработки и внедрения в практику экспрессных и производительных методов детекции токсикантов. Крайне перспективным аналитическим средством для таких скрининговых тестирований является иммунохроматография, однако она обычно уступает альтернативным методам по чувствительности.

Предложен новый формат иммунохроматографии, в котором используются нативные специфические антитела и меченные коллоидным золотом антивидовые антитела. В данном формате, в отличие от традиционной иммунохроматографии с прямым мечением, все взаимодействия антител с детектируемым соединением приводят к снижению связывания метки, что сдвигает рабочий диапазон анализа в область более низких концентраций.

На примере афлатоксина В1 показано, что предлагаемый подход приводит к 10-кратному снижению предела обнаружения, достигающему 300 пг/мл для визуальной и 20 пг/мл для приборной детекции. Продолжительность тестирования – 20 минут. Разработанная тест-система обеспечивает полноту выявления афлатоксина В1 в пробах кукурузы не ниже 90%, что свидетельствует о ее перспективности.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ, ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014-2020 годы»; соглашение о предоставлении субсидии №14.607.21.0015 от 05.06.2014, уникальный идентификатор проекта RFMEFI60714X0015.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ПОДХОДОВ К ЭКСТРАКЦИИ И ПРЯМОЙ ПЕРЕЭТЕРИФИКАЦИИ ЛИПИДОВ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИОННЫХ ЖИДКОСТЕЙ ДЛЯ ПРОЦЕССОВ ПОЛУЧЕНИЯ БИОДИЗЕЛЬНОГО ТОПЛИВА

Пилигаев А.В.<sup>1</sup>, Сорокина К.Н.<sup>1,2</sup>, Пармон В.Н.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт катализа им. Г.К. Борескова СО Российской академии наук, Новосибирск;

<sup>2</sup>Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

*piligaev@catalysis.ru*

Биомассу микроводорослей рассматривают в качестве перспективного источника возобновляемого сырья для получения различных видов биотоплива, в том числе биодизельного. Традиционно биодизельное топливо из биомассы микроводорослей получают в две стадии, где сначала проводят предварительную экстракцию липидной фракции с применением растворителей и затем переэтерифицируют липидную фракцию с метанолом с использованием как гомогенных, так и гетерогенных катализаторов. Затраты на эти стадии составляют от 30 до 50% от стоимости общего процесса получения биодизельного топлива из микроводорослей. Поэтому увеличение эффективности и разработка одностадийных процессов переработки биомассы микроводорослей в биодизельное топливо является актуальной задачей.

В данной работе были исследованы подходы к экстракции и прямой переэтерификации липидов микроводоросли штамма *Chlorella sp.* A1125 с использованием ионных жидкостей для получения биодизельного топлива. Отмечена тенденция к более эффективной экстракции и переэтерификации с использованием гидрофильных ионных жидкостей.

Было показано, что наибольшую эффективность при экстракции с выходом липидов 175 мг/г сухой биомассы показала ионная жидкость [Bmim][HSO<sub>4</sub>]. Этот результат оказался сравнимым с традиционным методом экстракции по Фолчу смесью растворителей хлороформ/метанол (2/1) с выходом липидов 207 мг/г сухой биомассы. Максимальный выход метиловых эфиров жирных кислот (МЭЖК) в реакции прямой

перезэтерификации также был отмечен с использованием ионной жидкости [Bmim][HSO<sub>4</sub>] и составил 86,9±8,9 мг/г сухой биомассы, что оказалось выше, чем в реакции контрольной перезэтерификации липидной фракции, предварительно экстрагированной по методу Фолча с выходом 56±4,9 мг/г сухой биомассы и контрольной перезэтерификации сухой биомассы с метанолом без использования ионной жидкости с выходом МЭЖК 65,4±3,5 мг/г сухой биомассы.

Полученные результаты показывают перспективность применения ионных жидкостей в процессах получения биодизельного топлива из биомассы микроводорослей.

Работа выполнена при поддержке РАН и ФАНО России (проект №V.46.4.4.)

### ОПТИМИЗАЦИЯ ЭТАПА ПОЛУЧЕНИЯ ПОСЕВНОЙ КУЛЬТУРЫ ПРИ МАСШТАБИРОВАНИИ ТЕХНОЛОГИИ БИОСИНТЕЗА ТАКРОЛИМУСА (FK-506)

Пошехонцева В.Ю.<sup>1,2</sup>, Фокина В.В.<sup>1,3</sup>, Суходольская Г.В.<sup>1,3</sup>, Шутов. А.А.<sup>1,3</sup>, Донова М.В.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия; <sup>3</sup>ООО «Фарминс», Пушкино, Россия

rikahameleon@mail.ru

Такролимус (FK-506) – макроциклический поликетид, обладающий мощным иммуносуппрессорным действием, широко использующийся в трансплантологии для предотвращения отторжения трансплантата после пересадки органов и реконструктивных тканей, а также лечения аутоиммунных заболеваний и др. Биосинтез такролимуса осуществляется актинобактериями рода *Streptomyces*, и в частности *Streptomyces tsukubaensis* ВКМ Ас-2618Д. Важной задачей практической реализации биопроцесса является достижение стабильно высокой производительности штамма.

Целью настоящего исследования являлась оптимизация этапа получения активной посевной культуры (предбиосинтеза).

Использование криогенных культур позволяет сохранять активность продуцента и подавать на стадию предбиосинтеза стандартизованную культуру с заведомо известной продуктивностью. Криогенные культуры *S. tsukubaensis* ВКМ Ас-2618Д получали замораживанием при –70°C с добавлением 50%-го глицерина с использованием наиболее активных морфотипов штамма. Посевную культуру получали при засеве криокультурой ростовых сред различного состава с последующим инкубированием в колбах на роторной качалке (200-220 об/мин) в течение 24-48 часов при 24-25°C. Для биосинтеза такролимуса использовали посевную культуру (5 и 10% об.) и крахмалосодержащую среду. Концентрацию такролимуса оценивали методом ВЭЖХ. Клеточную биомассу оценивали по сухому весу.

Оптимизировали состав ростовой среды, посевную дозу, продолжительность этапа получения посевной культуры. Установлено, что снижение биомассы (в 2-5 раз) при трехкратном уменьшении содержания в среде крахмала, кукурузного экстракта и лиофилизированных дрожжей приводит к снижению выхода такролимуса на 20%. Стабильно высокий уровень такролимуса (свыше 500 мг/л) достигается при использовании посевной дозы не менее 2% об. и продолжительности культивирования 24 и 48 часов для ферментеров и колб, соответственно. Создан рабочий банк криокультур, высокая биосинтетическая активность которых подтверждена в колбочных экспериментах.

Результаты будут востребованы при создании промышленной технологии биосинтеза такролимуса.

### СЕМЕНА ПШЕНИЦЫ И РЕДИСА В СИЛЬНОМ ЭЛЕКТРИЧЕСКОМ ПОЛЕ: СТИМУЛЯЦИЯ И КЛАССИФИКАЦИЯ

Лазукин А.В.<sup>1</sup>, Сердюков Ю.А.<sup>2</sup>, Разнотовская К.А.<sup>1,2</sup>, Любушкина И.В.<sup>3,4</sup>, Кривов С.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО НИУ Московский энергетический институт, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; <sup>3</sup>ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия; <sup>4</sup>ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

lazukin\_av@mail.ru

Различная реакция объектов на воздействие сильных электрических полей позволила сформировать целый класс методов разделения материалов. В частности, это применимо и к посевным материалам, различающимся, например, по диэлектрической проницаемости, форме и массе.

В данной работе приведены результаты экспериментальных исследований воздействия сильного постоянного электрического поля (напряженность до 20 кВ/см) на процесс разделения и стимулирования всхожести семян мягкой яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта «Новосибирская-29» и редиса «Розово-красный с белым кончиком».

Воздействие проводилось в двух электродных конфигурациях - параллельные пластины и бифилярная обмотка (два высоковольтных провода под разным потенциалом, намотанные на цилиндрический каркас). В электрическом поле параллельных пластин определялась механическая реакция семян на величину напряженности поля. Реакция определялась следующим образом: семена помещали на поверхность плоского электрода на расстоянии 2 см друг от друга, второй электрод, выполненный из прозрачного стекла покрытого слоем ИТО, находился на расстоянии 2 см. К верхнему электроду прикладывалось высокое напряжение, которое постепенно повышалось. На каждом из шагов напряжения исключались семена, испытавшие реакцию (разворот по силовым линиям). Семена редиса не испытывали прямой механической реакции на воздействие поля, что связано с формой семени. Реакция семян пшеницы распределялась по нормальному закону.

С учетом шага изменения напряжения, наибольшая реакция семян наблюдалась в поле 7 кВ/см (0,45), минимальное поле, вызывающее реакцию - 5 кВ/см (менее 0,05), максимальное поле - 10 кВ/см (менее 0,05). Доля семян, не испытавших реакцию, 0,001 (общее количество семян, исследованных на реакцию, около 12000). Исследование всхожести семян пшеницы, выделенных в семь групп по различной степени реакции, показало отсутствие значимых отличий по этим параметрам между группами. При делении семян пшеницы на бифилярной обмотке не были обнаружены различия контролируемых показателей. Деление семян редиса на бифилярной обмотке при напряжении питания 14 кВ позволило разделить исходный набор (всхожесть контроля  $82 \pm 8$ ) семян на две группы: семена, удерживаемые на обмотке при вращении (всхожесть  $68 \pm 7$ ) и не удерживаемые ( $79 \pm 7$ ). Повышение напряжения на обмотке до 21 кВ способствовало не только делению на две группы, но и стимуляции всхожести: всхожесть семян, удерживаемых на обмотке  $90 \pm 3$ , не удерживаемых –  $87 \pm 6$  (контроль тот же).

#### **БЕЛКИ OCT4, SOX2, KLF4, C-МУС, NANOG В ОПРЕДЕЛЕНИИ СВОЙСТВ ОПУХОЛЕВЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА**

**Рахматуллина А.Р., Мифтахова Р.Р., Мингалеева Р.Н., Ризванов А.А.**  
Институт Фундаментальной Медицины и Биологии КФУ, Казань, Россия

*rahmatullina\_2011@mail.ru*

На сегодняшний день зарегистрировано 14,1 млн. новых случаев онкологических заболеваний, из них 8,2 млн. случаев закончились летальным исходом.

Для большинства видов опухолей смертность сопряжена с метастазированием и рецидивом заболевания. Последние данные свидетельствуют, что развитие этих процессов связано с популяцией стволовых опухолевых клеток (СОК), составляющих всего 0.0001-0.1% от общей массы опухоли. СОК характеризуются повышенной экспрессией генов плюрипотентности, таких как oct4, sox2, NANOG, Klf4, c-Мус.

Цель работы – оценить влияния белков Oct4, Sox2, Klf4, c-Мус и NANOG на свойства СОК карциномы молочной железы человека.

Каждый из исследуемых генов был гиперэкспрессирован в клетках MCF7, трансфектанты были получены с помощью лентивирусной трансдукции. Оценку экспрессии белков проводили с помощью иммуноблоттинга белков, количество СОК оценивалось в тесте на сферообразование стволовых клеток, для характеристики клеток были проведены тесты на пролиферацию и миграцию.

В результате исследования нами были получены клетки карциномы молочной железы человека, стабильно экспрессирующие гены Oct4, Sox2, Klf4, c-Мус и NANOG. Мы показали, что повышение экспрессии белков Oct4, Klf4, NANOG приводит к увеличению процентного содержания СОК в клеточной линии MCF-7. При этом, скорость пролиферации клеток зависела от уровня экспрессии белка Oct4. Повышение миграционной способности клеток наблюдалось при экспрессии белков c-Мус и NANOG.

#### **РАЗРАБОТКА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ МУТАЦИИ В ГЕНЕ GART, АССОЦИИРОВАННОМ С ГАПЛОТИПОМ ФЕРТИЛЬНОСТИ NN4**

**Романенкова О.С., Гладырь Е.А., Костюнина О.В., Зиновьева Н.А.**  
ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства имени академика Л.К. Эрнста,  
Дубровицы, Россия

*ksilosa@gmail.com*

Увеличение уровня гомозиготности в культурных породах крупного рогатого скота приводит к усилению влияния LoF-мутаций, которые считаются сегодня одной из причин снижения воспроизводительной способности коров.

С использованием данных генотипирования 47878 голов голштинского скота, полученных с применением Illumina Bovine 50k Beadchip на хромосоме 1 в области 1.9-3.3Mb (UMD 3.1 genome assembly) был картирован ген GART, ассоциированный с летальным гаплотипом фертильности HH4.

Проведенный нами анализ родословных быков-производителей, используемых в системе искусственного осеменения в РФ, показал, что в 1-м и 2-м поколениях предков у 1,6% быков встречаются носители мутантного аллеля GART.

Целью исследований стала разработка молекулярно-генетической тест-системы для диагностики мутации в гене GART, ассоциированной с HH4.

ДНК из проб ткани уха или спермы выделяли методом экстракции перхлоратом или с помощью колонок Nexttec (Nexttec Biotechnologie GmbH, Германия). На первом этапе посредством прямого определения последовательности в области мутации методом пиросеквенирования была создана серия референтных образцов с известными генотипами по HH4 (n=60). С этой целью проводили амплификацию фрагмента GART, содержащего мутацию, длиной 154 п.о., с последующим отжигом зонда и пиросеквенированием. Для определения полиморфизма GART в режиме скрининга нами предложена тест-система на основе ПЦР-ПДРФ с использованием эндонуклеазы рестрикции SspMI с дальнейшей визуализацией образующихся фрагментов в агарозном геле.

Генотипирование референтных образцов с использованием разработанной тест-системы показало полное совпадение генотипов животных. Анализ родословных выявленных носителей мутации GART, ассоциированной с HH4, показал, что они принадлежали (по отцу) к линии Уэс Идеала.

Таким образом, предложенная нами тест-система может быть использована для идентификации скрытых носителей гаплотипа HH4 у голштинского и голштинизированного скота.

Исследования выполнены при финансовой поддержке Минобрнауки России, уникальный идентификационный номер проекта RFMEFI60414X0062. В проведении исследований использовано оборудование ЦКП «Биоресурсы и биоинженерия сельскохозяйственных животных» ВИЖ им. Л.К. Эрнста.

## **РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ДРОЖЖЕВОГО БЕЛКА CANDIDA MALTOSA, ВЛИЯЮЩЕГО НА ИММУННЫЙ СТАТУС ЖИВОТНЫХ**

**Рустамов Р.Д.**

ФГБОУ ВО Тюменский государственный университет, Тюмень, Россия

*rizvanich@mail.ru*

Для успешного развития современного животноводства необходимо внедрение биотехнологических способов производства. С помощью биотехнологических методов можно решить ряд актуальных проблем животноводства, среди которых повышение питательной ценности кормов и иммунорезистентности животных. В сложившейся ситуации актуальными остаются исследования, связанные с разработкой кормовых добавок, полноценных по белково-витаминному составу и способных повышать устойчивость животных к возбудителям заболеваний.

Целью настоящей работы являлась разработка технологии получения дрожжевого белка, влияющего на продуктивность и иммунологические показатели сельскохозяйственных животных.

Для проведения исследования была разработана технология производства дрожжевой добавки на основе штамма-продуцента *Candida maltosa*. Нужные количества дрожжевой биомассы получали методом прерывистого культивирования микроорганизмов в ферментере «BioFlo 115» (New Brunswick Sci.). Испытание проводили на сельскохозяйственных животных (цыплятах-бройлерах, кроликах и телятах), которые в течение 40-50 дней получали корма, обогащенные полезной микробной биомассой. После окончания периода кормления проводили анализ некоторых иммунологических показателей методом иммуноферментного анализа, методом количественного определения иммуноглобулинов по Бредфорду и электрофорезом по Лэммли. В случае с бройлерами для проведения иммуноферментного анализа часть цыплят после 20 суточного периода кормления вакцинировали комплексной вакциной против нескольких возбудителей.

В ходе научного исследования была разработана оптимальная технология для получения максимального выхода дрожжевой добавки на основе штамма-продуцента *Candida maltosa*. Разработанная технология позволила получить необходимое количество продукта с наименьшими затратами для проведения испытания на сельскохозяйственных животных.

В результате испытаний было установлено, что замещение в рационе питания кормов испытуемыми белками на 1,0-2,0% положительно отразилось на основных иммунологических показателях животных. Анализ концентрации иммуноглобулинов в сыворотке крови, определенных по методу Бредфорда и электрофорезом по Лэммли, а также анализ титра антител методом иммуноферментного анализа выявил стимулирующее действие полученной дрожжевой добавки на основные звенья гуморального иммунитета сельскохозяйственных животных.

## ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ РЕКОМБИНАНТНОЙ ЭСТЕРАЗЫ БАКТЕРИИ *UREIBACILLUS THERMOSPHERICUS*

Самойлова Ю.В.<sup>1</sup>, Сорокина К.Н.<sup>1,2</sup>, Пармон В.Н.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт катализа им. Г.К. Борескова СО Российской академии наук, Новосибирск, Россия;

<sup>2</sup>Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

*samoylova.jv@catanalysis.ru*

Эстеразы (КФ 3.1.1.1) являются ферментами класса гидролаз, катализирующие расщепление сложноэфирных связей. Одно из наиболее важных промышленных применений эстеразы нашли в реакции переэтерификации масел и жиров с одноатомными спиртами, которая является основным процессом получения эфиров жирных кислот, как основы биодизельного топлива. Поэтому получение и исследование свойств эстераз, устойчивых к влиянию спиртов, является актуальной задачей биотехнологии.

В данной работе получен фермент estUT1 клонированием гена эстеразы бактерии *Ureibacillus thermosphericus* в составе вектора pET32b, и проведена его экспрессия в *E. coli* BL21 (DE3).

Рекомбинантный штамм обеспечивает эффективную экспрессию химерной эстеразы массой 28.4 кДа с белком тиоредоксином А (TrxA). Эстераза проявляет субстратную специфичность к остаткам жирных кислот короткой и средней длины (C2>C4>C8) и имеет оптимальные значения температуры 70-80 °С и рН 8.0. Фермент показал высокую стабильность в присутствии одноатомных спиртов (этанола и метанола) в концентрации 30 %. После инкубации при 50 °С в 30 % этаноле в течение 3, 6 и 24 ч estUT1 показала 72.6, 66.2 и 17.7 % от первоначальной активности, соответственно. Устойчивость эстеразы к влиянию метанола оказалась еще выше: после инкубации при 50 °С в 30 % метаноле в течение 3, 6 и 24 ч estUT1 показала 103.8, 85.8 и 36.0 % от первоначальной активности, соответственно.

Таким образом, высокая стабильность исследуемой в данной работе эстеразы estUT1 в одноатомных спиртах (в метаноле, в частности) делает ее хорошим кандидатом для применения в составе биокатализаторов переэтерификация для получения метиловых эфиров жирных кислот (основа биодизельного топлива).

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 16-38-00425 мол\_а.

## НОВЫЙ БИОРЕАКТОР ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МЕТАНОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ

Сафонов А.С.<sup>1,2</sup>, Редикюльцев Ю.В.<sup>2</sup>, Ширшиков Н.В.<sup>2</sup>, Гаврилов А.Б.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН

Институт биологического приборостроения с опытным производством Российской академии наук,  
Пушино, Россия

*sifopozatronmink@mail.ru*

Актуальной задачей современной биотехнологии является расширение сырьевой базы пищевой промышленности, в частности, за счет развития технологий производства микробного белка.

Современные технологии получения микробного белка культивированием метанотрофных бактерий дорогостоящи, что сопряжено с низкой окупаемостью, а также взрывоопасны.

Целью данной работы является создание безопасного биореактора для производства микробного белка методом культивирования метанотрофных бактерий *Methylomicrobium album* BG8 в водно-минеральной среде, насыщенной природным газом.

Основные газообразные компоненты питания метанотрофных микроорганизмов, метан и кислород, потребляются лишь в растворенном виде. Вследствие их в водных средах, одной из основных задач при создании высокопроизводительного процесса получения биомассы культивированием метанотрофных микроорганизмов является создание условий культивирования, обеспечивающих высокую эффективность перевода газообразных субстратов из газообразной фазы в жидкую.

Принципиальное отличие разрабатываемой технологии от существующих аналогов –отсутствие взрывоопасных газовых смесей за счет насыщения метаном рабочей жидкости, насыщенной кислородом воздуха, посредством диффузии через стенки множественных мембран, равномерно распределенных по всему рабочему объему, что позволяет рационально использовать входящее сырье и получать качественный продукт, характеристики которого аналогичны таковым для костно-рыбной муки.

Нерастворенный в минеральном растворе воздух в виде мелкодисперсных пузырьков поднимается по зазорам межтрубного пространства газопроницаемых мембран, выполняя роль множественных газлифтных насосов, под действием которых происходит перемешивание минерального раствора и газов.

Контроллер управления ферментационным процессом позволяет задавать частоту работы диафрагменного насоса, пределы величин рН рабочей жидкости, параметры отходящих газов. Поддержание заданного соотношения растворенных метана и кислорода в рабочей жидкости осуществляется при



постоянном давлении метана в газопроницаемых мембранах за счет регулирования расхода воздуха посредством обратной связи, установленной между анализатором отходящих газов и регулятором расхода аэрирующего воздуха. Высокая степень автоматизации процесса позволяет контролировать и регулировать все параметры ферментации в режиме реального времени.

В целом, в настоящем проекте предложена принципиально новая конструкция безопасного автоматизированного биореактора для культивирования метанотрофных микроорганизмов, позволяющая использовать как природный газ, так и сжиженный метан.

### **ЩАДЯЩАЯ ДЕЛИПИДИЗАЦИЯ КАК ОСНОВНОЙ ФАКТОР СОХРАНЕНИЯ ОСТЕОКОНДУКТИВНОСТИ БИОМАТЕРИАЛОВ ДЛЯ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ**

**Сенотов А.С.<sup>1,2</sup>, Фадеева И.С.<sup>1,2,3</sup>, Кирсанова П.О.<sup>1,2</sup>, Фадеев Р.С.<sup>1,2,3</sup>, Просвирин А.А.<sup>2,4</sup>,  
Горбачев Д.П.<sup>1,2,3</sup>, Кузьмин М.В.<sup>1,2,3</sup>, Фесенко Н.И.<sup>3</sup>, Лекишвили М.В.<sup>2,5</sup>, Акатов В.С.<sup>1,2,3</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ООО «НПК «Рецептор», Пушкино, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия; <sup>4</sup>ГБОУ ВПО МГМСУ им. А.И. Евдокимова, Москва, Россия; <sup>5</sup>ФГБУ Центральный научно-исследовательский институт Травматологии и Ортопедии им. Н.Н. Приорова МЗ РФ, Москва, Россия

*a.s.senotov@gmail.com*

Общеизвестно, что в современной восстановительной хирургии/ортопедии и стоматологии часть патологий и дефектов костной ткани или ее возрастную утрату невозможно устранить путём физиологической регенерации или простого хирургического вмешательства. Именно с этой целью применяется широкий спектр остеопластических материалов как природного, так и искусственного происхождения. В связи с тем, что аутотрансплантация костной ткани пациента используется достаточно редко ввиду излишней травматичности, трудоемкости и тяжелых побочных эффектов, разработка столь же эффективных по функциональности и регенеративному потенциалу биоискусственных материалов для замещения костной ткани является актуальной и востребованной задачей.

В лаборатории тканевой инженерии ИТЭБ РАН были разработаны эффективные предимплантационные протоколы обработки донорской костной ткани ксеногенного происхождения (половозрелые быки, губчатая кость), обладающие выраженным остеокондуктивным эффектом. Одним из путей повышения регенеративного потенциала костных биоматериалов и достоверного обеспечения их остеоинтеграции в организме реципиента являлась разработка и модификация технологий предимплантационной обработки (децеллуларизации и деминерализации) донорского костного матрикса, направленных на максимальное сохранение структуры коллагенового матрикса, а также полное удаление липидов и клеточного дебриса из предобработанной костной ткани.

С помощью избирательной окраски тотальных препаратов (Судан III, Oil Red O) и дифференциальной окраски криосрезов образцов (Голднер-Массон, Direct Red 80) показано, что большинство предоставленных на рынке костнозамещающих материалов (различные виды ДКМ) содержат большое количество остаточных липидов и имеют выраженные повреждения коллагеновых структур матрикса. В отличие от этого, в костных материалах, полученных с помощью разработанной авторами доклада технологии, содержались лишь следовые количества липидов, повреждений трабекулярных структур матрикса не наблюдалось.

В модели гетеротопической имплантации крысам, в соответствии с требованиями ISO 10993 (сроки – 2, 6 и 13 нед.) показано, что при наличии липидов в матриксе костнозамещающего материала развивается воспалительный процесс и наблюдается активная резорбция материала путем деструктивной минерализации матрикса; при этом признаков биоинтеграции или физиологической минерализации данных материалов не наблюдалось. В отличие от этого, в полностью делипидизированных материалах, не имеющих повреждений трабекулярного матрикса, наблюдались активные признаки остеоинтеграции биоматериала и образование коллагенового структурированного неоматрикса уже к 6 неделе имплантации.

В докладе обсуждаются основные использованные подходы и полученные результаты.

Полученные с помощью разработанной авторами доклада технологии предимплантационной обработки костной ткани биоматериалы переданы для проведения следующего цикла испытаний в модели ортотопической имплантации лабораторным животным.

Работа поддержана Минобрнауки РФ в рамках госзадания ВУЗу, а также Фондом содействия РМП НТС.

**ПЕЧАТНЫЕ ЭЛЕКТРОДЫ, МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ГЛЮКОЗООКСИДАЗОЙ,  
ИММОБИЛИЗОВАННОЙ В ПРОВОДЯЩИЙ БЕЛКОВЫЙ ГИДРОГЕЛЬ, КАК ОСНОВА  
БИОСЕНСОРА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛЮКОЗЫ**

**Скворцова Л.С., Коина Е.А., Каманин С.С., Арляпов В.А.**  
ФГБОУ ВО Тульский государственный университет, Тула, Россия

*chem@tsu.tula.ru*

Определение содержания веществ с использованием амперометрических биосенсоров является востребованным направлением развития аналитических методов анализа. При этом, печатные электроды, выступая в качестве основы биосенсоров, представляют собой удобную и экономичную площадку для модификации характеристик аналитического устройства. Большое внимание при создании биосенсоров уделяется применению медиаторов электронного транспорта, способных к переносу электронов от активного центра фермента на электрод. Наиболее распространенный метод фиксации медиаторов – адсорбция на поверхности электрода – как показывает практика, не обеспечивает достаточную стабильность сенсоров и приводит к постепенному уменьшению аналитического сигнала из-за вымывания медиатора с течением времени. Кроме того, данный метод не применим при использовании водорастворимых медиаторов. Однако устойчивую фиксацию медиатора можно обеспечить ковалентным связыванием его с матрицей иммобилизующего агента с образованием проводящего гидрогеля.

Настоящая работа посвящена оценке характеристик биосенсора на основе глюкозооксидазы, иммобилизованной в проводящий гидрогель на основе бычьего сывороточного альбумина (БСА), ковалентно связанного с медиатором нейтральным красным (НК). Проводящий гидрогель получали путем ковалентной сшивки НК с БСА по аминок группам. В качестве сшивающего агента использовали глутаровый альдегид, который помимо этого сшивал молекулы БСА между собой с образованием сетчатой структуры. Рабочий потенциал, который составил -0,4 В, определяли эмпирически на основе вольтамперных зависимостей модифицированного электрода в присутствии глюкозы.

Биосенсор на основе полученного модифицированного электрода отличается низким относительным стандартным отклонением – 1,6%, что доказывает эффективность фиксации медиатора в проводящем гидрогеле, и позволяет определять концентрацию глюкозы в диапазоне 0,6-2,7 ммоль/дм<sup>3</sup> с пределом обнаружения в 0,2 ммоль/дм<sup>3</sup> и коэффициентом чувствительности 250±10 мкА·дм<sup>3</sup>/моль. Долговременная стабильность электрода составила 12 суток.

Апробация модифицированного печатного электрода на образцах вин показала, что значения концентраций глюкозы, полученные с использованием биосенсорного и референтного метода (спектрофотометрия), совпадают с учетом доверительных интервалов, из чего следует, что разработанный ферментный сенсор может быть использован для определения содержания глюкозы в винной продукции.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук, заявка № МК-5425.2016.4

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ УГЛЕВОД-СВЯЗЫВАЮЩЕГО МОДУЛЯ БАКТЕРИЙ THERMOTOGA  
MARITIMA ДЛЯ ОЧИСТКИ ФЬЮЖН-БЕЛКОВ, СОДЕРЖАЩИХ АНТИМИКРОБНЫЕ ПЕПТИДЫ**

**Совгир Н.В., Нагорная А.А., Прокулевич В.А.**  
Белорусский Государственный Университет, Минск, Беларусь

*sovgirnv@gmail.com*

Углевод-связывающий модуль (carbohydrate binding module 9-2, CBM9-2) ксиланазы 10А термофильных бактерий вида *T. maritima* является эффективным фьюжн-партнером для очистки рекомбинантных белков, поскольку специфически связывается с относительно дешевыми сорбентами на основе целлюлозы и других полисахаридов. При этом для эффективного элюирования фьюжн-белков, содержащих CBM9-2, используют буферы с растворимыми сахарами, например, с глюкозой. Сшивание белков с углевод-связывающим модулем также способствует повышению их растворимости и правильному фолдингу.

Белок CBM9-2 мы использовали в качестве фьюжн-партнера для антимикробных пептидов эскулентина-1b (Esc-1b) и эскулентина-a(1-21) (Esc-a(1-21)). В белках CBMT-Esc-1b и CBMT-Esc-a(1-21) углевод-связывающий модуль через сайт узнавания для TEV протеазы связан с одним из пептидов. Ранее в клетках штамма *E. coli* BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL нами было установлено накопление фьюжн-белков CBMT-Esc-1b и CBMT-Esc-a(1-21) в количестве 8 % и 33 % от общего клеточного белка соответственно.

Целью данной работы являлась хроматографическая очистка белков CBMT-Esc-1b и CBMT-Esc-a(1-21) batch-методом с использованием сорбентов на основе микрокристаллической целлюлозы (МКЦ).

Для оценки возможности получения фьюжн-белков в растворимой форме, штаммы-продуценты *E. coli* индуцировали ИПТГ в концентрации 0,5 ммоль/л как при 37 °С, так и при 20 °С. Результаты ДСН-ПААГ электрофореза свидетельствовали о преобладании растворимой формы белков при обеих

температурах, поэтому дальнейшую наработку продуктов осуществляли при оптимальной для роста бактерий температуре, равной 37 °С.

Первоначально для очистки белка СВМТ-Esc-1b использовали МКЦ производства «Chemapol» (Чехия), с которой инкубировали супернатант клеточного лизата. В результате элюции буфером, содержащем глюкозу (1 моль/л), получили белок в концентрации 0,184 мг/мл и степень очистки 98 %. При очистке белка СВМТ-Esc-a(1-21) использовали по 1 г МКЦ «Chemapol» и МКЦ «Sigma-Aldrich» (США). Определив концентрацию целевого белка и проведя денситометрический анализ ПААГ, установили, что концентрация очищенного белка СВМТ-Esc-a(1-21) при использовании МКЦ «Sigma-Aldrich» составила 0,93 мг/мл, а при использовании МКЦ «Chemapol» – 0,75 мг/мл. Следует отметить, что степени очистки белков при этом также составляли 98 %.

Полученные результаты демонстрируют эффективность использования углеводов-связывающего модуля *T. maritima* в качестве фьюжн-партнера для антимикробных пептидов и целлюлозных сорбентов производства «Chemapol» (Чехия) и «Sigma-Aldrich» (США) для очистки фьюжн-белков.

### ПОЛУЧЕНИЕ ГИБРИДНОГО АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО БЕЛКА ESC-C/LYSKHIS

**Тарашкевич Ю.С., Совгир Н.В., Жидецкий А.В., Прокулевич В.А.**

Белорусский Государственный Университет, Минск, Беларусь

*julia10095@mail.ru*

Гибридный белок Esc-C/LysKH<sub>is</sub> состоит из пептида эскулентина-С (Esc-C) и лизирующего фермента, или эндолизина, бактериофага К, меченного шестью остатками гистидина (LysKH<sub>is</sub>). Эскулентин-С является функциональным аналогом антимикробного пептида эскулентина-1b, от которого отличается аминокислотной заменой M28L. По литературным данным эскулентин-С и эндолизин проявляют антимикробную активность, но если пептид обладает широким спектром действия, то фермент проявляет специфическую литическую активность в отношении различных штаммов *Staphylococcus aureus*, в том числе антибиотикоустойчивых.

Ранее химерный ген, кодирующий белок Esc-C/LysKH<sub>is</sub>, клонировали в клетках штамма *E. coli* BL21-CodonPlus(DE3)-R1PL в составе вектора pET-24b(+). Индукция экспрессии гена при 37 °С приводила к внутриклеточному накоплению белка Esc-C/LysKH<sub>is</sub> преимущественно в нерастворимой форме в количестве 14% от общего клеточного белка.

Целью данной работы являлось получение гибридного белка Esc-C/LysKH<sub>is</sub> для определения его антибактериальной активности.

Известно, что эндолизин бактериофага К, синтезированный при 37°С, образует тельца включения, но при 19°С часть белковых молекул синтезируется в клетках *E. coli* в растворимой форме. Предполагали, что наличие двух остатков цистеина в аминокислотной последовательности эскулентина-С значительно уменьшит растворимость эндолизина, в свою очередь содержащего три остатка цистеина, однако в результате последующего электрофоретического анализа белков супернатанта лизата клеток *E. coli*, полученных при пониженной температуре культивирования, установили наличие Esc-C/LysKH<sub>is</sub> в растворимой форме в количестве 10–11% от общего клеточного белка.

При помощи никель-хелатной хроматографии получили препараты грубой очистки гибридного белка, синтезированного бактериями при разных температурных режимах культивирования: при 19°С и 37°С. Далее турбидиметрическим методом определяли наличие антибактериальной активности белка в отношении клеток штамма *S. aureus* ATCC 25923. Антистафилококковая активность фьюжн-белка Esc-C/LysKH<sub>is</sub>, полученного путем рефолдинга, была меньше по сравнению с таковой изначально растворимого белка, т.к. часть белка могла не рефолдироваться. Антибактериальную активность эскулентина-С в отношении *E. coli* В и *Pseudomonas aeruginosa*, проверенную путем подсчета числа жизнеспособных клеток тест-культур, установить не удалось. Это может быть связано с недостаточной концентрацией фьюжн-белка для образования молекулами эскулентина пор в мембранах тест-культур и гибели клеток; либо с тем, что эскулентин «пришит» к эндолизину и не активен.

### ВЛИЯНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА ГРИБНОЙ ЛАККАЗЫ НА ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ДРЕВЕСИНЫ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ОСИНЫ

**Тугбаева А.С.<sup>1</sup>, Ковалицкая Ю.А.<sup>2</sup>, Шестибратов К.А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия; <sup>2</sup>Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Пушкино, Россия

*anastasia.tugbaeva@gmail.com*

Лигнин – сложный природный гетерополимер, основной компонент вторичной клеточной стенки растений, который придает ей прочность и обеспечивает проницаемость для воды. При получении бумаги

очистка целлюлозы от лигнина наиболее трудоемкая стадия, в результате образуется технический лигнин, который невозможно утилизировать из-за его химических свойств. Исследования последних десятилетий направлены на разработку методов и подходов получения древесных растений со сниженным содержанием лигнина. Поскольку грибные лакказы осуществляют окисление и деградацию лигнина в природе, в группе лесной биотехнологии ФИБХ РАН были получены растения осины, экспрессирующие ген грибной лакказы.

Цель работы – исследовать влияние экспрессии гена грибной лакказы на химический состав древесины трансгенных растений осины.

С помощью агробактериальной трансформации вектором pVI-Lac были получены трансгенные растения осины с инсерцией целевой конструкции. Экспрессия гена *lac-072* подтверждена в 7 из 11 проанализированных линий осины методом ОТ-ПЦР. Клоны осины с экспрессией грибной лакказы были микроклонально размножены, адаптированы к условиям защищенного грунта и использованы для биометрических и биохимических исследований, количественного определения компонентов древесины.

По данным биометрического анализа, показано, что высота адаптированных растений в возрасте 4 месяцев у 3 линий выше контроля на 26,47%, для 4 линий высота ниже контроля на 63,43%.

В ходе анализа химического состава древесины обнаружено: снижение общего содержания лигнина на 8,22-13,8% для 4 клонов осины, для трех клонов увеличение содержания общего лигнина на 2-3%. Уменьшается не только содержание лигнина, но и его химический состав: для ряда клонов отмечено увеличение доли кислоторастворимого лигнина и уменьшение содержания кислотонерастворимого лигнина. Кроме того, у линий с пониженным содержанием лигнина увеличивается количество целлюлозы в древесине на 5,88 – 25,29%. Также у двух клонов отмечено снижение количества пентозанов на 8,65%. Все результаты исследований приведены для клонов осины с экспрессией целевой конструкции.

Суммируя вышесказанное, можно отметить, что экспрессия гена грибной лакказы приводит к уменьшению содержания и изменению химического состава лигнина, увеличивает количество целлюлозы в древесине трансгенных растений осины.

## АМАРАНТ КАК ПЕРСПЕКТИВНАЯ КОРМОВАЯ КУЛЬТУРА ДЛЯ ВОЗДЕЛЫВАНИЯ

Тухтабаева Ф.М., Хошимжонова Н.Н.

Андижанский государственный университет, Андижан, Узбекистан

*Nozimjon@rambler.ru*

Обладая столь широким спектром полезных качеств, амарант абсолютно неприхотлив и очень «экономичен». Урожай 10 растений амаранта обеспечивает 1 га посевным материалом. Одно растение может дать до 300 тысяч семян. Энергетические затраты человека на производство единицы биомассы амаранта наименьшие по сравнению с другими культурами (для получения 1 ккал энергии при производстве сои затрачивается 0,8 ккал, пшеницы – 0,1-0,2 ккал, а амаранта – менее 0,1 ккал). Это обеспечивает наиболее высокую конкурентоспособность амаранта среди всех возделываемых зерновых и кормовых растений. Эта культура, все органы которой (зерно, листья, стебли, корни) могут использоваться человеком. Зерно амаранта содержит от 13 до 17 % белка, что значительно выше, чем у большинства других зерновых растений. С 1 га за 100 дней вегетации можно получить 2-3 т белка.

Амарант является самым дешёвым кормом, как в свежем виде, так и в силосе зелёная масса растений является ценным высокобелковым кормом, может использоваться в свежем виде, для силосования, приготовления травяной муки, гранул, брикетов. По содержанию переваримого протеина (150-220 г на 1 к.е.) в вегетативной массе эта культура превосходит многие другие силосные культуры. Комбинированный силос, сбалансированный по протеину и незаменимым аминокислотам получают в смеси с кукурузой или другими злаковыми культурами, а также с бобовыми (козлятник).

Урожай зелёной массы превышает на 20-30% традиционную силосную культуру кукурузу и составляет в среднем 500-800 ц/га. В 100 кг зелёной массы амаранта содержится в среднем 15-18 корм. ед. На 1 корм. ед. в зелёной массе амаранта приходится 180-292 гр. перевариваемого протеина, валовый сбор которого составляет 1,5-2,0 т/га. Белок амаранта сбалансирован по содержанию незаменимых аминокислот, в частности, лизина в амаранте в 3-3,5 раза больше, чем в пшенице. Зелёная масса хорошо поедается всеми видами животных. По белковой продуктивности и выходу кормовых единиц амарант превосходит многие культуры в 1,5-2,2 раза: кукурузу, овёс, овсяноряпсовую смесь и другие.

Учитывая важность этой культуры для народного хозяйства, нами изучаются особенности агротехники возделывания этой культуры в почвенно-климатических условиях Андижана. Предварительные исследования показывают, что растения, выращенные в наших почвенно-климатических условиях, существенно превосходят зарубежные аналоги по урожайности и содержанию указанных выше полезных веществ.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ЦИТОКИНОВ ДЛЯ УСИЛЕНИЯ РЕГЕНЕРАТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА БИОМАТЕРИАЛОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ПРИ ЗАМЕЩЕНИИ ДЕФЕКТОВ КОСТНОЙ ТКАНИ И СОСУДОВ РЕЦИПИЕНТА

Фадеева И.С.<sup>1,2</sup>, Кузьмин М.В.<sup>1,2</sup>, Сенотов А.С.<sup>1</sup>, Горбачев Д.П.<sup>1,2</sup>, Кирсанова П.О.<sup>1</sup>, Фадеев Р.С.<sup>1,2</sup>,  
Фесенко Н.О.<sup>2</sup>, Акатов В.С.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия

*aurin.fad@gmail.com*

Традиционным способом лечения заболеваний, связанных со значительным поражением сосудистой или костной ткани, является хирургическое вмешательство с заменой пораженных структур соответствующим биологическим или синтетическим протезом. Несмотря на значительные успехи в разработке функциональных заменителей «золотым стандартом» для полноценной регенерации крупных сосудов или больших дефектов костной ткани по-прежнему является использование аутотрансплантатов. В свою очередь использование аутологичных вен/артерий или фрагментов костной ткани крайне ограничено (аутодефицит), либо приносит больший вред (нанесение дополнительной травмы) нежели пользу для пациента.

Эффективной и доступной альтернативой является использование модифицированных (с подавленной иммуногенностью, высокой степенью гомологичности ВКМ) имплантов, полученных из донорской ткани. Однако, несмотря на повсеместное использование такого рода биоматериалов, существует ряд проблем, возникающих после имплантации, особенно в долговременный период. Одной из таких проблем является отсутствие репопуляции и, следовательно, ремоделирования и биоинтеграции импланта, что в свою очередь приводит к деградации опорного матрикса и необходимости проведения травматичной для пациента реоперации.

Известно, что миграция клеток внутрь матрикса имплантата не наблюдается без придания им дополнительного стимула – как правило, наблюдается лишь поверхностная эндотелизация (для сосудистых графтов) или слабое прорастание реактивно-измененной соединительной ткани реципиента по границе контакта с последующей резорбцией или, наоборот, консервирующей инкапсуляцией имплантата (для костных материалов).

Наиболее эффективным способом привлечения клеток реципиента является использование цитокинов, как молекул, способных повысить миграцию клеток из периферической крови и здоровых тканей реципиента. Среди них наиболее доступных и безопасных цитокинов наилучшие результаты для сосудистых графтов показывают SDF1 $\alpha$ , G-CSF, VEGF, PDGF BB; для костной ткани – VEGF, PDGF BB и BMP-2.

В лаборатории тканевой инженерии ИТЭБ РАН было исследовано влияние комплексного применения цитокинов VEGF/PDGF BB при их мягкой фиксации в матриксе девитализированных аортальных графтов, а также в ряде деминерализованных костных матриц (коммерч. матрицы и собственные разработки).

В модели гетеротопической имплантации крысам (♂, 180-200 гр; 6 недель имплантации) методами адсорбционной спектроскопии, комплексного гистохимического анализа, конфокальной и световой микроскопии показано, что использование рекомбинантных цитокинов PDGF BB и/или VEGF способно как вызвать полную физиологическую репопуляцию и, следовательно, биоинтергацию исследованных биоматериалов, так и провоцировать активный воспалительный эффект, проявляющийся в развитии ряда симптомов хронического отторжения.

Авторами доклада предполагается, что активное разрушение матрикса биоимплантов, как сосудистых, так и костных является следствием атерогенного эффекта проинфламаторных модифицированных липидов вкупе с первичным повреждением внеклеточных структур биоматериалов (как следствие предимплантационной обработки), многократно усиленных проинфламаторным влиянием самих цитокинов. В отличие от вышесказанного, в ряде биоматриц (собственные разработки), в которых отсутствовали липидные компоненты и была максимально сохранена интактность ВКМ признаки отторжения отсутствовали и наблюдалась выраженная биоинтеграция имплантированных материалов со значительным сокращением сроков регенерации тканей реципиента.

В докладе обсуждаются основные использованные подходы и полученные результаты.

Работа поддержана РФФИ, Минобрнауки РФ в рамках госзадания ВУЗу, а также Фондом содействия РМП НТС.

### СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ДВУХ ЛИНИЙ КАЛЛУСНОЙ КУЛЬТУРЫ *CONIUM MACULATUM* L.

Филонова М.В.<sup>1,2</sup>, Чурин А.А.<sup>1,2</sup>, Шилова И.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия;

<sup>2</sup>ФГБНУ НИИ фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, Томск, Россия

*Maria-Caurus7@yandex.ru*

На кафедре физиологии растений и биотехнологии ТГУ получены 2 линии продуктивной, жизнеспособной каллусной культуры болиголова пятнистого. Первая линия каллусной культуры культивировалась на среде с добавлением гормонов НУК и 6-БАП, вторая линия – на составе гормонов и 2,4-D и 6-БАП.

Цель исследования – выявление основных групп биологически активных веществ (БАВ) экстрактов двух линий каллусной культуры болиголова пятнистого с применением метода газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ/МС).

Сырье экстрагировали подкисленной водой с последующей реэкстракцией БАВ хлороформом из кислой и щелочной среды.

БАВ в двух линиях культуры клеток болиголова изучали с применением метода ГХ/МС на приборе Trace DSQ (Thermoelectron corp., США), с программным обеспечением Xcalibur 1.4. В работе использовали колонку TR-5MS (30м\*0,25мм\*0,25мкм).

В результате ГХ/МС – анализа в кислом извлечении из каллусных культур болиголова обнаружены следующие БАВ: фуранокумарины, эфиры фталевой кислоты, в первой линии дополнительно выявлены ациклические терпеноиды и насыщенные алифатические углеводороды. Причем во второй линии культуры определено большее содержание фуранокумаринов и фталатов. В щелочном извлечении из двух линий каллусной культуры выявлены БАВ: эфиры фталевой кислоты, с преобладанием дибутилфталата, фосфорной и жирной (миристиновой) кислот, алифатические и ароматические углеводороды. В полученных экстрактах двух линий каллусной культуры алкалоидов не обнаружено.

Таким образом, в экстрактах двух линиях каллусной культуры болиголова пятнистого с помощью метода ГХ/МС показано наличие фуранокумаринов, ациклических терпеноидов, производных органических кислот, алифатических и ароматических углеводородов.

### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НАНОТРУБОК ГАЛЛУАЗИТА В КАЧЕСТВЕ НАНОКОНТЕЙНЕРА ДЛЯ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО БАКТЕРИАЛЬНОГО ФЕРМЕНТА

Ходжаева В.С., Ульянова В.В., Фахруллин Р.Ф., Ильинская О.Н.

ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань, Россия

*khojaewa.vera@mail.ru*

В настоящее время особый интерес исследователей привлекает разработка методов целевой доставки различных веществ непосредственно в клетки и ткани человека при использовании различных наноконструкций.

В нашем исследовании мы рассматриваем нанотрубки галлуазита в качестве потенциального наноконтейнера для бактериального фермента – рибонуклеазы *Bacillus pumilus* – биназы. Для биназы показаны противоопухолевая активность в отношении опухолевых линий клеток аденокарциномы легких A549, глиомы мышей С 6, альвеолярного эпителия легких MLE 12. Важным аспектом для обоснования практического применения микробных рибонуклеаз является их селективное цитотоксическое действие на раковые клетки, а также их нечувствительность к ингибитору РНКаз млекопитающих. На основе имеющихся данных о свойствах фермента, биназу можно рассматривать в качестве альтернативного целевого противоопухолевого препарата.

Нанотрубки галлуазита (ГНТ) представляют собой природную глину в виде полых трубочек длиной от 500 до 1200 нм, с внешним диаметром 50-60 нм и внутренним – 12-15 нм. Наружная поверхность ГНТ представлена оксидом кремния (SiO<sub>2</sub>) и имеет отрицательный заряд при нейтральном pH, а внутренняя полость – оксидом алюминия (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) с положительным зарядом. Это свойство позволяет использовать их для избирательной загрузки заряженных молекул.

В нашей работе мы подбирали подходящие условия для загрузки биназы внутрь ГНТ, а также для выхода фермента из трубок. Экспериментальным путем было установлено, что до 90% фермента адсорбируется на ГНТ при загрузке в воде pH 5.5. Загрузка в более кислых условиях позволяет

иммобилизовать до 75% биназы. Слабощелочная среда не подходит для загрузки фермента. Данные подтверждаются результатами анализа концентрации белка в суспензии и каталитической активности фермента.

Для проведения выгрузки биназы из нанотрубок мы использовали различные варианты растворов, при этом повышали ионную силу исходного буфера или изменяли pH раствора. Выгрузка биназы из ГНТ происходила не сразу, после 22 ч инкубации. Выход фермента в слабощелочной среде (натрий фосфатный буфер pH 7.0) составил 30-40% по активности и по белку.

Следует отметить, что иммобилизованная на ГНТ биназа остается активной внутри высушенных трубок в течение длительного времени, а при контакте с водой фермент будет выходить из ГНТ и оказывать пролонгированное действие.

## ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧНОСТИ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ГЛАЗНЫХ ПРЕПАРАТОВ МЕТОДАМИ *IN VITRO*

Хорольская Ю.И.<sup>1,2</sup>, Александрова О.И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт цитологии Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

*juliya\_khorolskaya@mail.ru*

В фармакотерапии заболеваний глаз применяются многочисленные противовоспалительные лекарственные средства, относящиеся к двум большим группам: кортикостероиды (глюкокортикоиды) и нестероидные противовоспалительные средства (НПВС). НПВС разнообразны по химическому строению, особенностям действия и применению. Они широко используются в общей клинической практике, однако, использование их в офтальмологической практике для местного лечения значительно ограничено, т.к. НПВС значительно уступают по эффективности кортикостероидам. Одним из важных критериев выбора лекарственного средства, помимо эффективности, является его безопасность.

Целью данной работы было сравнение в условиях *in vitro* с использованием культивируемых клеток общей (базовой) токсичности пяти нестероидных противовоспалительных препаратов: Акьюлар<sup>TM</sup>, Неванак<sup>TM</sup>, Броксинак<sup>TM</sup>, Индоколлир<sup>TM</sup>, ДиклоФ<sup>TM</sup>. В качестве тест системы была использована линия леток Slope 1-5c-4 (клетки нормальной конъюнктивы человека). Препараты добавляли в питательную среду в двух концентрациях (1% и 10% от объема питательной среды) в момент посева клеток, а также после формирования клетками субконфлюэнтного монослоя. Оценка жизнеспособности клеток проводили двумя способами: методом МТТ-теста и при помощи клеточного анализатора RTCA-DP (The Real-Time Cell Analyzer Dual Purpose) ACEA Biosciences.

Представленные в работе результаты исследований по оценке общей цитотоксичности противовоспалительных глазных капель из группы НПВС демонстрируют, что данные препараты могут оказывать цитостатический эффект в условиях *in vitro* и отличаются по своему цитотоксическому потенциалу. Проведенное исследование показало принципиальную возможность использования культивируемых клеток для сравнительной оценки цитотоксического действия офтальмологических препаратов в условиях *in vitro*.

## ОСОБЕННОСТИ МОРФОГЕНЕЗА В КУЛЬТУРЕ ВЕГЕТАТИВНЫХ ОРГАНОВ МЯТЫ *IN VITRO*

Чайковский В.А.

ФГБУН Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма, Симферополь, Россия

*v\_l\_a\_d\_91@mail.ru*

Разработаны биотехнологические приёмы и биотехнологическая схема получения растений-регенерантов в культуре вегетативных органов (листьев, стеблевых сегментов) мяты сортов Заграва и Удайчанка *in vitro*.

Установлено влияние состава питательной среды и типа экспланта, на индукцию морфогенеза в культуре вегетативных органов мяты сортов Удайчанка и Заграва.

Экспериментально определено, что наиболее эффективной питательной средой для регенерации растительного материала мяты сортов Заграва и Удайчанка при выращивании листьев и стеблевых сегментов *in vitro* является модифицированная питательная среда МС с добавлением БАП и ИУК.

Выявлены различные морфогенетические реакции листовых и стеблевых эксплантов в ходе культивирования на модифицированной среде МС.

Установлено, что в культуре *in vitro* у сорта Заграва у разных видов эксплантов и у сорта Удайчанка у листовых эксплантов наблюдался как прямой, так и непрямой морфогенез. У сорта Удайчанка

в культуре *in vitro* из стеблевых сегментов наблюдался только прямой морфогенез. Регенерация растений проходила как при прямом морфогенезе, так и при непрямом в течение одного цикла выращивания.

Впервые при выращивании *in vitro* из стеблевых сегментов мяты сорта Заграва из каллусной культуры было получено растение–регенерант, которое по своим морфологическим признакам и химическому составу эфирного масла отличается от материнского растения и является соматклоном.

Полученный соматклон и его потомство превосходил по морфометрическим характеристикам надземной и подземной частей растений растение-донор, а также отличался от него по выходу эфирного масла (выше на 28%) и его компонентному составу (преобладание ментола на 10-74%, лимонена в ранних фазах развития выше на 0,53-12.25%).

Впервые экспериментально показано, что регенерация растений в каллусной культуре мяты сорта Заграва проходила через создание вегетативных почек (соматический органогенез). Положительные результаты исследования свидетельствуют о необходимости внедрения соматклонов мяты в практику селекционной работы, а растений-регенерантов, полученных методом прямого морфогенеза, для клонального размножения и оздоровления исследуемых сортов мяты.

### **РАЗРАБОТКА МАТЕРИАЛА С ТРОМБОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ НА ОСНОВЕ ОКСИГИДРОКСИДА АЛЮМИНИЯ**

**Чапурина Ю.Е., Виноградов В.В.**

ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия

*chapurina@scamt.ru*

Разработан композит, обладающий тромболитической активностью на основе «захвата» (энтрапирования) тромболитического белка внутри неорганической матрицы. Энтрапирование (Entrapment of enzymes) – это вид иммобилизации ферментов с помощью органического полимера или процесса золь-гель перехода (Brady, Jordaan, 2009). В качестве неорганического компонента могут использоваться оксид кремния, титана, алюминия и т.д. Молекула белка оказывается «захваченной» внутри пористой матрицы, размер пор которой может варьироваться в зависимости от условий синтеза. Таким образом, молекула в матрице защищена от воздействий внешней среды, и может сохранять свою активность длительное время (Avnir, Coradin et al., 2006).

В нашей статье было впервые продемонстрировано сохранение активности тромболитическим ферментом в матрице из оксигидроксида алюминия (Vinogradov, Vinogradov et al., 2015). Этот материал одобрен FDA (Food and drug administration) для парентерального введения и давно используется в качестве адьюванта при изготовлении вакцин. Предполагается, что фермент (тканевой активатор плазминогена) проявлял свою активность вследствие бимодальной пористой структуры композита, где обеспечивался контакт субстрата (плазминогена) и активатора из-за наличия крупных (20 нм) пор (Vinogradov, Vinogradov et al., 2015).

Затем нашей задачей стало оценка активности композита в качестве возможного тромболитического покрытия для имплантов кровеносных сосудов (Chapurina, Vinogradov et al., 2015). В работе оценивалось время растворения фибринового сгустка, полученного *in vitro* из плазмы крови человека и тромбина. Сгусток помещали на плёнку, состоящую из композита, и наблюдали его динамику в световой микроскоп. Также, композит был нанесён на внутреннюю поверхность фрагментов сосудистого импланта, внутри которых находился фибриновый сгусток (модель тромба), время выпадения которого в результате пристеночного лизиса внутри фрагмента, фиксировалось.

Было установлено, что при концентрации фермента в матрице 5% время начала лизиса сгустка составило 55 минут, а спустя ≈400 минут он растворялся полностью. Также, в зависимости от содержания фермента в покрытии импланта время выпадения сгустка составило от 80 минут (при концентрации фермента 2.5%) до 10 минут (10%).

### **ДЕЙСТВИЕ МЕТИЛЖАСМОНАТА НА СОДЕРЖАНИЕ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ ФЕНОЛЬНОЙ ПРИРОДЫ В КЛЕТКАХ СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ ESCHINACEA PALLIDA**

**Черепко М. А.**

Белорусский Государственный Университет, Минск, Беларусь

*mashabum13.01@mail.ru*

Использование элиситоров является одной из стратегий увеличения синтеза продуктов вторичного метаболизма в культурах растительных клеток и тканей *in vitro*. К их числу относится метилжасмонат (МеЖ), который способен активировать транскрипцию генов, участвующих в комплексе защитных реакций



у растений, включающих синтез фитоалексинов. Эффективность воздействия МеЖ зависит от его концентрации, времени обработки, типа используемой культуры, состава питательной среды и др.

Целью настоящей работы явилось изучение характера влияния МеЖ в широком диапазоне концентраций на содержание вторичных метаболитов фенольной природы в клетках суспензионной культуры эхинацеи бледной (*Echinacea pallida* (nutl.)).

Для культивирования клеточной суспензии использовалась питательная среда по прописи Мурасиге и Скуга, содержащая 3% сахарозы и фитогормоны: 0,2 мг/л 2,4-Д, 0,5 мг/л кинетина и 1 мг/л ИУК. Культивирование проводилось в условиях термостата при 25°C в темноте. Перемешивание питательной среды обеспечивали с помощью орбитального шейкера-инкубатора MaxQ 6000 ThermoScientific при 120 об/мин. Длительность ростового цикла составляла 15 сут. Внесение в питательные среды МеЖ осуществляли на 10 сут культивирования при переходе культуры в фазу замедления роста. Содержание фенольных соединений (гидроксикоричные кислоты и флавоноиды) определяли в конце цикла выращивания на 15 сут. МеЖ растворяли в 95%-ном этиловом спирте, стерилизовали с помощью мембранного фильтра с диаметром пор 0,2 мкм и добавляли в питательные среды до конечных концентраций  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $5 \cdot 10^{-5}$ ,  $10^{-4}$ ,  $5 \cdot 10^{-4}$  моль/л.

Установлено, что внесение в среду инкубации клеток суспензионной культуры эхинацеи бледной МеЖ приводило к повышению уровней накопления суммы фенольных соединений, начиная с концентрации  $10^{-6}$  моль/л. Максимальный стимулирующий эффект обнаружен в присутствии  $5 \cdot 10^{-5}$  и  $10^{-4}$  моль/л МеЖ, который составил в среднем 2,3–2,5 раза относительно контроля. Доминирующей группой фенольного комплекса исследуемой культуры являются гидроксикоричные кислоты, тогда как флавоноиды относятся к минорным его компонентам. Анализ количественного содержания гидроксикоричных кислот позволил выявить, что МеЖ в наибольшей степени индуцировал рост их накопления в концентрациях  $10^{-5}$ – $10^{-4}$  моль/л. Рост содержания флавоноидов отмечался, только начиная с концентрации  $5 \cdot 10^{-5}$  моль/л.

Полученные результаты позволяют сделать заключение, что для повышения продукционного потенциала суспензионной культуры эхинацеи бледной может быть рекомендовано использование МеЖ в концентрациях  $5 \cdot 10^{-5}$ – $10^{-4}$  моль/л при переходе культуры в фазу замедления роста.

## ДВУХУРОВНЕВЫЕ СИСТЕМЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ – НОВЫЙ ПОДХОД К СЕЛЕКЦИИ КЛЕТОК С АДИПОГЕННЫМ ПОТЕНЦИАЛОМ

**Черноруцкий М.В.**

ГБОУ ВПО Тверской Государственный медицинский университет Минздрава России, Тверь, Россия

*michail1911@mail.ru*

В работе с первичными культурами клеток жировой ткани, помимо монослойного культивирования используют «потолочные» культуры, позволяющие разделять клетки, занимающие разное положение в гистогенетическом ряду адипогенной дифференцировки. Использование для этих целей культуральных матрасов требует значительного количества биологического материала и питательных сред, ограничивает одновременную закладку нескольких опытных серий. Устранить описанные недостатки путем простой миниатюризации в полной мере не удастся.

В настоящей работе опробована двухуровневая система, сочетающая в себе преимущества монослойных и «потолочных» культур.

Система культивирования представляла собой 24-луночный планшет с ячейками, доверху заполненными питательной средой. «Потолком» служили покровные стекла, размещенные поверх каждой лунки. Метод опробован при выращивании клеток, полученных из жировой ткани мышей и крыс. Наблюдение за «потолочной» культурой проводили с помощью микроскопа с прямой оптической схемой, осмотр дна планшета – через инвертированный микроскоп. Контроль за прикреплением клеток к стеклам производили путем окрашивания по Романовскому-Гимза. Адипогенную дифференцировку оценивали по накоплению Oil Red O.

Показано, что предлагаемый подход позволяет повысить эффективность выделения преадипоцитов и мезенхимальных стромальных клеток, снизить лизис загрязняющих эти культуры адипоцитов. Разборная система дает возможность свободно оперировать прикрепившимися к покровному стеклу зрелыми адипоцитами с целью их изоляции, очистки, пересадки, окраски и т.д. Двухуровневая система не только облегчает манипуляции при селекции дифференцирующихся в адипоциты клеток-предшественников «донного» уровня. Она позволяет учитывать флотировавшие адипоциты, сохранять их живыми на покровном стекле и тем самым расширяет возможности изучения адипогенеза в популяции клеток.

Считаем, что двухуровневая система культивирования может служить модификацией традиционных методов выделения из жировой ткани мезенхимальных стромальных клеток, преадипоцитов и зрелых адипоцитов для первичного культивирования, а также селекции клеток, накапливающих жир при культивировании.

## **ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНОВ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗ БАКТЕРИЙ ШТАММА ENTEROCOCCUS FAECALIS BIM B-1012 – ПЕРСПЕКТИВНОГО ПРОДУЦЕНТА МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ**

**Шонина М.Ю., Галкина А.М., Лагодич А.В.**

Белорусский Государственный Университет, Минск, Беларусь

*LagodichAV@bsu.by*

Одним из перспективных применений молочной кислоты является получение полилактида – биоразлагаемого, биосовместимого, термопластичного, алифатического полиэфира, мономером которого и является молочная кислота. Полилактид применяется для производства экологически чистой биоразлагаемой упаковки, одноразовой посуды, средств личной гигиены. Ввиду своей биосовместимости, полилактид широко применяется в медицине, для производства хирургических нитей и штифтов, а также в системах доставки лекарств. Получение эффективных продуцентов молочной кислоты является важным и востребованным направлением современной биотехнологии.

В результате проведенной работы были подобраны условия для культивирования и электропорирования клеток штамма *E. faecalis* BIM B-1012. Осуществлен анализ наследования различных векторных молекул в клетках изучаемого штамма, определена их сохранность за 20 поколений в неселективных условиях. Для плазмиды pJM2279 сохранность репликаона в клетках штамма *E. faecalis* BIM B-1012 составила около 70%, при этом изменений в размере и организации молекулы выявлено не было.

Были подобраны условия для эффективного получения клеточного лизата с последующим определением ферментативной активности лактатдегидрогеназ. Активность лактатдегидрогеназ была определена у исходного штамма *E. faecalis* BIM B-1012 и его кислотоустойчивых мутантов. С помощью сконструированных праймеров получены продукты амплификации, представленные последовательностью генов лактатдегидрогеназ 1-го и 2-го типов, размер открытой рамки считывания которых составляет соответственно 984 и 954 п.о.

Верификацию генов лактатдегидрогеназ осуществляли с помощью ПДРФ и сиквенс-анализа, которые позволили выявить новое аллельное состояние у изучаемых генов и их мутантных вариантов.

## **ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ НАПРЯЖЕНИЯ В МТЭ ЭЛЕКТРОГЕННЫМИ КУЛЬТУРАМИ СЕМЕЙСТВА ENTEROBACTER**

**Юрьев Д.А.**

ФГБОУ ВПО Восточно-Сибирский Государственный университет технологий и управления,

Улан-Удэ, Республика Бурятия, Россия

*Starcarry1666@gmail.com*

Проблемы экологии и вопросы по охране окружающей среды всё чаще привлекают к себе внимание. Полезные ископаемые – исчерпаемы, а отходы промышленного и сельского хозяйства накапливаются. Технология микробных топливных элементов (МТЭ) позволяет утилизировать различные отходы производства как топливо с получением электрической энергии. Перспективной областью применения МТЭ является очистка сточных вод различных предприятий.

Культивирование исследуемых культур проводили в МТЭ разработанных НИИ Биологии ИГУ лабораторией водной токсикологии. В качестве объектов исследования были использованы бактериальные культуры, выделенные из образцов различных коммерческих препаратов, показавшие наиболее интенсивный рост в анаэробных условиях (изоляты №СЭ-1, №СЭ-2, №4, №7).

Изучение динамики напряжения исследуемых культур проводилось с использованием модельной сточной воды (ГОСТ Р 50595-93) и пептона в качестве субстрата, концентрация которого составляла 0,5 %.

Культуры №СЭ-1 и №7 вызвали наибольший прирост напряжения в МТЭ – через 36 часов инкубирования исследуемый показатель составлял 464 mV и 458 mV, соответственно. Наименьшее увеличение напряжения происходило при использовании в качестве электрогена культуры № СЭ-2, которая в аналогичный временной промежуток генерировала ЭДС до 279 mV.

Таким образом, наибольшей электрогенной активностью среди исследуемых штаммов обладали №СЭ-1 и №7, что позволяет рекомендовать их для дальнейших исследований и возможного применения в качестве электрогенов в МТЭ при утилизации компонентов сточных вод.

**ПОЛУЧЕНИЕ ОЧИЩЕННОГО РЕКОМБИНАНТНОГО ФЬЮЖН-БЕЛКА, СОДЕРЖАЩЕГО N-  
КОНЦЕВОЙ ФРАГМЕНТ АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА ЭСКУЛЕНТИНА-1А**

**Янушкевич Д.М., Совгир Н.В., Потапович М.И., Прокулевич В.А.**  
Белорусский Государственный Университет, Минск, Беларусь

*dasha.yanushkevich@tut.by*

Антимикробные пептиды (АМП), являясь перспективными агентами против многих инфекционных заболеваний, выступают альтернативой антибиотикам. Однако изготовление лекарственных препаратов на основе АМП связано с рядом трудностей, в связи с чем, актуальны исследования по разработке новых биотехнологических способов получения таких молекул.

Активность АМП эскулентина-1а (*Rana esculenta*) против многих видов патогенных бактерий и грибов обусловлена его N-концевой областью. Технологию слияния генов с образованием фьюжн-белков можно использовать не только для получения в клетках *E. coli* полноразмерных АМП, но и их производных.

Целью работы являлось получение N-концевого фрагмента АМП эскулентина-1а длиной 21 аминокислотный остаток (Esc-a(1-21)) в составе фьюжн-белка, изучение особенностей синтеза химерного белка в бактериальных клетках, а также его хроматографическая очистка. В качестве фьюжн-партнера Esc-a(1-21) при этом выступал малый убиквитин-подобный модификатор (small ubiquitin-related modifier, SUMO) *Saccharomyces cerevisiae*, снабженный полигистидиновой аффинной меткой для никель-хелатной хроматографии (6xHis). Между фьюжн-партнером (6xHis-SUMO) и целевым белком был введен сайт узнавания для TEV протеазы.

Нуклеотидную последовательность 6xHis-SUMO-TEV (HST) клонировали в составе плазмиды pET-Esc-a(1-21). Секвенированной рекомбинантной плазмидой pET-HST-Esc-a(1-21) трансформировали клетки штамма *E. coli* BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL. В результате проведения индукции экспрессии гибридного гена установили накопление продукта, по массе соответствующего белку HST-Esc-a(1-21) (16,7 кДа), который при 37 °С синтезировался преимущественно в растворимой форме, что значительно облегчило дальнейшую работу по его очистке. По итогам оптимизации условий индукции экспрессии гена определили, что максимальное количество белка HST-Esc-a(1-21), синтезируемого клетками *E. coli*, равно 24–25 % от общего клеточного белка.

После проведения ферментации, клетки штамма-продуцента разрушали френч-прессом, разделяли клеточный лизат на две фракции центрифугированием, а растворимый целевой белок из полученного супернатанта очищали путем никель-хелатной хроматографии с использованием сорбента HisPur Ni-NTA Superflow Agarose («Thermo Scientific») согласно инструкции производителя.

Таким образом, получен препарат химерного белка HST-Esc-a(1-21) высокой степени очистки, пригодного для дальнейших манипуляций по отделению пептида Esc-a(1-21) от фьюжн-партнера с использованием TEV протеазы.

## **СЕКЦИЯ «ФИЗИОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ И БИОМЕДИЦИНА»**

### **ВЛИЯНИЕ УМЕРЕННОЙ ГИПОТЕРМИИ РАЗНОЙ ДЛИТЕЛЬНОСТИ НА ЦИТОКИНЕТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЭРИТРОЦИТАРНОГО БАЛАНСА КРОВИ КРЫС**

**Аль-Раби М.А.М., Койсултанова З.К., Муртазаева А.З.**  
ФГБОУ ВО Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

*alrabee@mail.ru*

Показатель функциональной активности эритроидного ростка кроветворения является одним из важных диагностических тестов, применяемых при оценке интенсивности процессов физиологической и репаративной регенерации в системе крови. Цель работы – изучить влияние умеренной гипотермии разной длительности на показатели эритроцитарного баланса крови крыс.

Путем наружного охлаждения температуру тела крыс снижали за 30 мин до 30°C (кратковременная умеренная гипотермия – КГ), а затем пролонгировали (ПГ) это состояние в течение 90 и 180 мин. Диагностику функционального состояния системы красной крови производили по показателям эритроцитарного баланса.

Сразу после КГ отмечено увеличение количества ретикулоцитов в крови на 50,2%, после 90 мин ПГ – на 89,7%, а после 180 мин ПГ их количество снижалось до уровня контроля. Таким образом, через 90 мин гипотермии наблюдается сильный выброс ретикулоцитов в кровь. При этом почти в два раза ускоряется созревание ретикулоцитов: сразу после КГ время созревания ретикулоцитов сокращается на 43,1%, а после 90 мин ПГ – на 56,5% относительно контроля. После КГ наблюдалось закономерное снижение продолжительности жизни эритроцитов и, как следствие, происходило усиление суточного эритропоэза в качестве компенсации. Изменения показателей красной крови в негативную сторону усиливаются после 90 мин ПГ. У этой группы животных самая низкая продолжительность жизни эритроцитов ( $16,7 \pm 3,6$  сут.) по сравнению с контрольной. Компенсаторной реакцией на самую низкую среднюю продолжительность жизни эритроцитов явился самый напряженный суточный эритропоэз из всех исследуемых групп. Однако в крови животных после 90 мин ПГ количество эритроцитов не увеличилось по сравнению с контрольной группой, что, видимо, связано с усиленным гемолизом эритроцитов. Кроме того, при гипотермии в функциональном плане многие эритроциты являются неполноценными. После 180 мин ПГ благоприятным фактором явилось повышение средней продолжительности жизни эритроцитов до  $26,0 \pm 3,1$  сут., что привело к достоверному снижению напряжения суточного эритропоэза. Сокращение продолжительности функционирования эритроцитов в кровяном русле и усиление кроветворения после 90 мин ПГ является результатом компенсаторно-приспособительной перестройки системы крови в ответ на воздействие низкой температуры. В целом, полученные нами данные позволяют заключить, что после 180 мин ПГ показатели костномозговой продукции эритроцитов стабилизируются и приближаются к контрольным значениям.

### **ВЛИЯНИЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ ПОЧКИ НА ВЫРАЖЕННОСТЬ АЦЕТИЛИРОВАНИЯ БЕЛКОВ КЛЕТКИ У МОЛОДЫХ И СТАРЫХ ЖИВОТНЫХ**

**Андреанова Н.В.<sup>1</sup>, Янкаускас С.С.<sup>2</sup>, Плотников Е.Ю.<sup>2</sup>, Зоров Д.Б.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова Минздрав РФ, Москва, Россия; <sup>2</sup>НИИ Физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*andnadya12@yandex.ru*

Острое почечное повреждение (ОПП) является распространённой патологией с высокой смертностью. Одним из методов, защищающих почку от ишемического повреждения, является ишемическое preconditionирование (ИПК), заключающееся в увеличении толерантности ткани к действию длительной ишемии с последующей реперфузией (И/Р) при предварительном воздействии одного или нескольких эпизодов кратковременной И/Р.

Целью данной работы было исследовать влияние сверхкороткого ишемического preconditionирования (СК-ИПК) на процессы ацетилирования ядерных белков клеток почки, а также изучить влияние старения на данный феномен.

СК-ИПК заключалось в 4-х циклах, состоящих из 15 секунд ишемии и 15 секунд реперфузии каждый, непосредственно перед длительной 40-мин ишемией. Эксперименты проводили на молодых (4-5 месяцев) и старых (20-23 месяца) крысах.

Через 48 часов после И/Р уровень креатинина и мочевины в сыворотке крови увеличивался как у молодых (в 8 и 6,6 раз соответственно), так и у старых (в 6 и 5,8 раз) крыс, что доказывало развитие ОПП.

СК-ИПК уменьшало уровень креатинина и мочевины у молодых крыс на 38% и 40%. У старых животных СК-ИПК не оказывало влияния на тяжесть ОПП.

В зафиксированных через 40 минут после И/Р срезах почек иммуногистохимически исследовали уровень ацетилирования белков. Для каждого среза подсчитывали: а) процент канальцев с высоким уровнем ацетилирования в ядрах; б) процент проксимальных канальцев (по наличию щёточной каёмки); в) процент проксимальных канальцев с высоким уровнем ацетилирования в ядрах.

У молодых интактных крыс наблюдали ацетилирование белков ядер только в 10% канальцев на срезе. У старых интактных крыс данный параметр увеличивался до 21%. При этом ацетилированных белков в ядрах проксимальных канальцев у молодых крыс не обнаруживали, а у старых ацетилирование было отмечено в 4% проксимальных канальцев. Процент канальцев с высоким уровнем ацетилирования ядерных белков возрастал через 40 минут после И/Р и у молодых, и у старых крыс (до 21% и 25% соответственно). При этом у молодых крыс после И/Р отмечали ацетилирование белков ядер проксимальных канальцев. СК-ИПК возвращало уровень ацетилирования к норме у молодых, однако, наоборот, увеличивало его уровень у старых крыс (7% и 37% соответственно).

Таким образом, СК-ИПК оказывает защитное действие при И/Р почки у молодых крыс, уменьшая тяжесть ОПП и нормализуя процессы ацетилирования белков в ткани органа. Данные положительные эффекты исчезают у старых крыс.

Поддержано грантами РФФИ № 16-34-01314, 14-04-00300 и 14-04-00542.

### **ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА И ЛИГАНДА TSPO, РК11195 НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ И ИНДУКЦИЮ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ КЛЕТОК НЕЙРОБЛАСТОМЫ МЫШИ N1E-115**

**Бабурин Ю.Л.<sup>1</sup>, Мякишева С.Н.<sup>2</sup>, Азарашвили Т.С.<sup>1</sup>, Одиноква И.В.<sup>1</sup>, Крестинин Р.Р.<sup>3</sup>, Ломовский А.И.<sup>4</sup>, Крестинина О.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФАНО ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ФАНО ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия, <sup>3</sup>ФГБОУ ВПО Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Москва, Россия, <sup>4</sup>ФГБОУ ВО Тульский Государственный Университет, Тула, Россия

byul@rambler.ru

В настоящее время известно, что транслокаторный белок (TSPO) показывает сверхэкспрессию в раковых клетках. TSPO вовлекается в регуляцию митохондриального апоптоза так как он блокирует действие белков семейства Bcl-2, включая сам Bcl-2, Bcl-X<sub>L</sub> и Mcl-1. Лиганды TSPO, такие как РК11195, Ro5-4864 и диазепам показали антираковые эффекты *in vitro* и *in vivo*, причем как поодиночке, так и в комплексе с химиотерапевтическими агентами.

Целью настоящей работы было исследовать действие лиганда TSPO, РК11195 на изменения в пролиферации и дифференцировке клеток клеточной линии нейробластомы мыши N1E-115. Согласно полученным данным, в присутствии РК11195 уже на третьи сутки наблюдалось замедление роста клеток, увеличение дифференцировки и снижение пролиферации.

В наших предыдущих работах было показано также влияние главного гормона эпифиза, мелатонина, на изменение пролиферации, которое проявляется в торможении пролиферативной активности и индуцировании дифференцировки при культивировании клеток нейробластомы мыши N1E-115, что позволяет предположительно считать его препаратом противоопухолевого действия. В рамках данной работы мы исследовали совместное действие мелатонина и РК 11195 на пролиферацию и дифференцировку клеток. В результате проведенных исследований, нами обнаружен синергический эффект, то есть, действие мелатонина и лиганда TSPO усиливалось при совместном введении.

Работа поддержана грантом РФФИ №№14-04-00625, 16-04-00927, и мегагрантом Правительства Российской Федерации №14.Z50.0028.

### **ВЛИЯНИЕ БЛОКАДЫ ГИСТАМИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ДО И ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ СТРЕССА У КРЫС**

**Батянина О.В.**

ФГАОУ ВО Самарский государственный аэрокосмический университет имени академика С.П. Королёва (национальный исследовательский университет), Самара, Россия

olgakilina92@gmail.com

В настоящее время в физиологии продолжается исследование влияния гистаминергической системы на различные функции организма. В ЦНС нейроны, вырабатывающие гистамин, локализованы преимущественно в туберомаммилярном ядре заднего гипоталамуса. Их коллатерали достигают различных структур головного мозга. Реализация влияния гистамина происходит через определенные типы рецепторов.

Центральные эффекты гистамина связаны, в основном, с активацией H1-рецепторов, которые являются наиболее распространенными в мозге. Их отсутствие у мышей ассоциируется с агрессией, двигательными нарушениями и различными неврологическими симптомами.

В нашем исследовании для изучения влияния гистаминергической системы на поведенческие реакции были сформированы две группы крыс. Крысам опытной группы ежедневно на протяжении 6 недель *per os* вводили раствор дифенгидрамина, проникающего через гематоэнцефалический барьер и эффективно блокирующего центральные H1- и H3-рецепторы. Крысы контрольной группы по аналогичной схеме получали физиологический раствор. Во второй части нашего эксперимента крысам был введен гормон гидрокортизон для изучения влияния блокады гистаминовых рецепторов на поведение в условиях стресса. Изучение особенностей поведенческих реакций проводилось при помощи тестов «Открытое поле», «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Черно-белая камера». Полученные экспериментальные данные обрабатывали статистически с помощью пакетов анализа данных программы SigmaPlot.

Основным эффектом блокады центральных H-рецепторов явилось увеличение двигательной и исследовательской активности, которое сочеталось со снижением уровня тревожно-фобического состояния. При введении гидрокортизона отмечено повышение тревожности в обеих группах. При этом в опытной группе увеличился показатель вертикальной двигательной активности, но снизилась горизонтальная двигательная и исследовательская активность. В контрольной группе наблюдались противоположные эффекты.

Отмеченные выше особенности поведенческого паттерна крыс могут быть непосредственно связаны с уменьшением активности гистаминергической системы мозга. Используемый в настоящем исследовании дифенгидрамин является не только эффективным блокатором гистамина, но и обладает способностью угнетать нейротрансдукцию посредством ацетилхолина и серотонина. Возможно, это обстоятельство также обеспечивает развитие моторного дефицита и нарушает сложившуюся у крыс структуру видоспецифического груминга.

#### **УВЕЛИЧЕНИЕ РАЗМЕРА КВАНТОВОГО ВЫБРОСА АЦЕТИЛХОЛИНА ПРИ АКТИВАЦИИ PAR-1 РЕЦЕПТОРОВ В ЗРЕЛЫХ МОТОРНЫХ СИНАПСАХ МЫШИ**

**Белусова Ю.В.**

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

*dzhulia.belousova@yandex.ru*

PAR (Proteinase-Activated Receptor) – семейство G-белок-сцепленных метаболитных рецепторов, активируемых как протеиназами гемостаза (тромбином, трипсином и др.), так и синтетическими пептидами – PAR-агонистами. Использование PAR-агонистов выявило присутствие разных типов PAR на мембране различных клеток, включая нервные терминалы, где они участвуют в регуляции кальциевого гомеостаза и синаптической пластичности. Показано наличие PAR1 в моторных синапсах, но их роль в регуляции секреции ацетилхолина (АХ) – мало изучена. Целью работы было исследование действия экзогенного пептида-агониста

PAR1 – TRAP-6 – на параметры спонтанной секреции квантов АХ.

Эксперименты проводились на нервно-мышечном препарате диафрагмы мыши с использованием микроэлектродной регистрации миниатюрных потенциалов концевой пластинки (МПКП). Анализировали амплитуду МПКП, их частоту и временной ход.

TRAP-6 (1 мкМ) увеличивал амплитуду МПКП на 23% от контроля, не изменяя частоту и временной ход МПКП. В ходе отмывки от TRAP-6 амплитуда МПКП не возвращалась к контрольному уровню, а продолжала увеличиваться – до 37% от контроля. Ингибитор везикулярной H-АТФазы, прекращающий загрузку АХ в везикулы – бафиломицин А1 (0,5 мкМ) предотвращал прирост амплитуды МПКП, вызываемый TRAP-6. Эти данные позволяют предполагать, что эффекты TRAP-6 связаны с его рецепторным действием на PAR1 в моторных синапсах, направленным на увеличение размера кванта АХ.

Анализ сигнальных механизмов, запускаемых при действии TRAP-6, выявил определенное участие освобождения депонированного кальция в реализации эффектов пептида-агониста. Блокатор рианодинных рецепторов рианодин (5 мкМ) не изменил прирост амплитуды МПКП при аппликации TRAP-6, однако полностью предотвращал увеличение амплитуды МПКП на отмывке. Блокатор протеинкиназы А (ПКА) – H-89 (1 мкМ) – эффективно предотвращал возрастание амплитуды МПКП под действием TRAP-6, что может свидетельствовать о запуске каскадов с участием ПКА при активации PAR1-рецепторов.

Таким образом, впервые показано, что активация PAR1-рецепторов экзогенным пептидом-агонистом приводит к возрастанию амплитуды МПКП в моторных синапсах мыши за счет прироста размера кванта АХ с участием депонированного кальция и ПКА.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА В НЕЙРОНАХ И АСТРОЦИТАХ ПРИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ РАДАХЛОРИНА

**Бережная Е.В., Негинская М.А.**

ФГАОУ ВО Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия

*evberezh@sfedu.ru*

Фотодинамическая терапия (ФДТ) – это селективное разрушение клеток, окрашенных фотосенсибилизатором, при облучении светом определенной длины волны в присутствии кислорода. ФДТ используется в онкологии, в том числе для удаления опухолей мозга. При облучении повреждаются также и здоровые клетки, поэтому важно исследовать влияние ФДТ на здоровые нервные и глиальные клетки. В данной работе с помощью флуоресцентных зондов исследовались клеточные механизмы фотодинамического воздействия фотосенсибилизатора радахлорина (200 нМ) на нейроны и астроциты в первичной клеточной культуре. С помощью флуоресцентного зонда, дигидроэтидия, было показано, что фотодинамическое воздействие радахлорина повышает генерацию супероксид анионов. Также при облучении наблюдалось повышение митохондриального потенциала, измеренного с помощью родамина 123. Фотодинамическое воздействие снижало флуоресценцию НАДН и митохондриальное депо НАДН. Уменьшение флуоресценции НАДН при облучении может быть связано с потреблением НАД<sup>+</sup> ферментом PARP, т.к. этот эффект исчезал при добавлении ингибитора PARP DPQ (20 мкМ). Таким образом, возможно, фотодинамическое воздействие радахлорина активирует PARP, повреждая ДНК.

Исследование поддержано грантом РФФИ № 16-34-01145.

## ВЛИЯНИЕ КОРВИТИНА НА ХОЛЕРЕЗ У КРЫС В УСЛОВИЯХ ДОКСИЦИКЛИНОВОЙ НАГРУЗКИ

**Борисевич В.О., Весельский С.П., Ляшевич А.М., Решетник Е.Н.**

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченка, Киев, Украина

*vlol@i.ua*

Эффективными лекарственными средствами для предупреждения гепатотоксичности являются биофлавоноиды, к которым относится препарат корвитин, являющийся водорастворимой формой кверцетина, обладающий существенным антиоксидантным и мембраностабилизирующим действием.

Цель работы: оценить влияние корвитина на желчсекреторную функцию печени в условиях доксициклиновой нагрузки в острых опытах на крысах с канюлированным желчным протоком.

Опыты проведены на 19 белых крысах-самцах (185-270 г). Животные были разделены на 3 группы. Первая группа – контроль. Животные 2-й группы получали в течение 5 дней доксициклин (540 мг/кг, перорально), а затем 7 дней находились на стандартном рационе вивария, 3-ей группы – доксициклин (540 мг/кг, перорально, 5 дней), а потом корвитин (1 мг/кг, перорально, 7 дней). Перед экспериментом животных взвешивали и помещали на сутки в клетку без доступа к пище, но со свободным доступом к воде. Животных наркотизировали тиопенталом натрия, проводили лапаротомию и канюлировали желчный проток с помощью пластиковой канюли, соединённой с микропипеткой для сбора желчи. Регистрировали объем секреторируемой желчи, собирая 6 десятиминутных проб за 3 часа. Единица, характеризующая холерез – средняя объемная скорость секреции, рассчитана по объему желчи (мкл) продуцированному за 1 мин 1 г печени. В желчи методом тонкослойной хроматографии определяли 6 фракций холатов: таурохолевой, таурохенодезоксихолевой и тауродезоксихолевой, гликохолевой, гликохенодезоксихолевой и гликодезоксихолевой, холевой, хенодезоксихолевой и дезоксихолевой кислот.

Наши исследования показали, что после 5-дневного воздействия доксициклина объем выделяемой желчи уменьшался относительно контроля в среднем на 21,54% ( $p < 0,05$ ). При применении корвитина после нагрузки доксициклином существенного угнетения холереза не наблюдалось. Содержание таурохолевой, таурохенодезоксихолевой и тауродезоксихолевой, гликохолевой кислот значительно снижалось после воздействия доксициклина, а корвитин существенно повышал концентрацию этих холатов в желчи. Так, если в контроле концентрация таурохолевой кислоты в последней получасовой пробе желчи составляла  $160,17 \pm 11,47$  мг%, то после нагрузки доксициклином –  $125,62 \pm 12,76$  мг%, а под влиянием корвитина –  $136,73 \pm 19,89$  мг%. Содержание таурохенодезоксихолевой и тауродезоксихолевой кислот в этой же пробе в контроле –  $89,75 \pm 7,97$  мг%, после доксициклина  $59,63 \pm 10,37$  мг%, а при применении корвитина  $80,77 \pm 13,32$  мг%, гликохолевой кислоты в контроле  $122,13 \pm 16,06$  мг%, после доксициклина  $80,52 \pm 25,42$  мг%, а при действии корвитина  $116,48 \pm 23,14$  мг%. Также корвитин вызывал значительное повышение концентрации в желчи свободных дигидроксихолановых кислот.

Вывод: корвитин устранял угнетающее действие доксициклина на желчсекреторную функцию печени крыс и оказывал корригирующее влияние на секрецию желчных кислот.

### **КОМПЛЕКСНЫЙ АНАЛИЗ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СТАТУСА, ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО pH, ВЯЗКОСТИ И УЛЬТРАСТРУКТУРЫ ЦИТОСКЕЛЕТА НЕДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ КОСТНО-МОЗГОВЫХ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА**

**Быстрова А.С.<sup>1</sup>, Мелешина А.В.<sup>1,2</sup>, Дуденкова В.В.<sup>1,2</sup>, Клементьева Н.В.<sup>2</sup>, Загайнова Е.В.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия; <sup>2</sup>Научно-исследовательский институт Биомедицинских технологий Нижегородской государственной медицинской академии, Нижний Новгород, Россия

*bystrova93@gmail.com*

Неинвазивная визуализация клеточного метаболизма, внутриклеточного pH, вязкости и ультраструктуры цитоскелета является ценным подходом к оценке дифференцировки стволовых клеток. В данной работе исследовали метаболический статус костно-мозговых мезенхимных стволовых клеток (МСК) человека по времени жизни флуоресценции свободной и связанной форм НАД(Ф)Н. Уровень внутриклеточного pH определяли, используя флуоресцентный pH-зонд BCECF. Исследование вязкости плазматической мембраны клеток осуществлялось с помощью флуоресцентного молекулярного ротора BODIPY 2. Ультраструктуру цитоскелета МСК визуализировали с использованием системы STORM на основе красного флуоресцентного белка TagRFP.

МСК визуализировали с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа Zeiss 710, соединенного с системой FLIM и моторизованного микроскопа EclipseTi, оснащенного модулем N-STORM. Для изучения клеточного метаболизма МСК анализировали времена жизни флуоресценции и вклады во время жизни флуоресценции свободной и связанной форм НАД(Ф)Н. Флуоресценцию НАД(Ф)Н возбуждали на длине волны 750 нм. Для оценки внутриклеточного pH флуоресценцию BCECF возбуждали на длине волны 880 нм и 488 нм, с последующей детекцией в диапазоне 510-560 нм. Интенсивность флуоресценции pH-зонда представляли в виде отношения интенсивностей (448/880). Для оценки вязкости плазматической мембраны анализировали время жизни флуоресценции BODIPY 2. Флуоресценцию возбуждали на длине волны 950 нм, эмиссию детектировали в диапазоне от 520 до 560 нм. Для визуализации актина в культуре МСК-TagRFP флуоресценцию возбуждали на длине волны 555 нм, эмиссию детектировали на длине волны 584 нм.

Время жизни флуоресценции свободной и связанной форм НАД(Ф)Н, а также вклад во время жизни флуоресценции связанной формы составили  $451 \pm 74$  пс,  $2848 \pm 127$  пс и 24,5% соответственно, что указывает на преобладание гликолиза в МСК. В соответствии с калибровочной кривой, уровень внутриклеточного pH составил  $7,6 \pm 0,05$ . Полученный результат согласуется с имеющимися литературными данными. Внутриклеточный pH стволовых клеток является более щелочным по сравнению с pH дифференцированных клеток. Значение показателя вязкости плазматической мембраны МСК составило  $364,06 \pm 20$  сП ( $2,6 \pm 0,07$  нс). С помощью STORM микроскопии были детектированы отдельные стресс-фибриллы актина на молекулярном уровне в недифференцированных МСК. Полученные результаты могут открыть новые пути для лучшего понимания функциональных изменений в процессе дифференцировки МСК.

### **АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ НЕКОТОРЫХ ЦИТОКИНОВ С ЛЕГОЧНЫМИ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ РАБОТНИКОВ УГОЛЬНЫХ ШАХТ**

**Волобаев В.П., Лесников А.И.**

ФГБОУ ВПО Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия

*kitsuneoni42@gmail.com*

Воспаление – это немедленная защитная реакция ткани на какое-либо ее повреждение, которое может быть вызвано инфекцией, а также воздействием на ткань химических или физических агентов. В ходе первичной и вторичной альтерации высвобождается большое количество медиаторов воспаления – цитокинов. Цитокины, в свою очередь, делятся на провоспалительные (IL-1b, IL-6) и противовоспалительные (IL-12b). В патогенезе легочных профессиональных заболеваний (ЛПЗ) работников угольных шахт воспаление, и, как следствие, уровень и активность медиаторов воспаления, имеют первостепенное значение. Известно, что полиморфизмы генов IL-1b T-511C (rs 16944), IL-6 C-174G (rs 1800795), IL-12b A1188C (rs 3212227) оказывают влияние на функциональную активность вырабатываемых интерлейкинов и тем самым должны оказывать модифицирующее влияние на развитие ЛПЗ, ассоциация с которыми и является темой данного исследования.

Материалом для исследования послужила венозная кровь 120 шахтеров мужского пола, работающих на угольных шахтах Кемеровской области и страдающих ЛПЗ, такими как антракосиликоз и хронический профессиональный обструктивный бронхит. В группу контроля вошли 80 здоровых работников тех же угледобывающих предприятий. Средний возраст в экспериментальной группе составил



54,98 ± 4,36 года, средний стаж работы в условиях угольных шахт — 28,18 ± 4,55 лет. Средний возраст здоровых работников угольных шахт составил 52,44 ± 6,37 года, при среднем стаже 23,08 ± 10,97 года. Выделение ДНК осуществляли с помощью метода фенол-хлороформной экстракции. Генотипирование проводили с помощью наборов НПФ «Литех». Частоту генотипов в группах сравнивали при помощи критерия Стьюдента для выборочной доли, частоту аллелей – критерием хи-квадрат.

Для полиморфизма гена IL-6 C-174G в выборке больных ЛПЗ в сравнении с контрольной группой значимо увеличена частота генотипа G/G (41,25 ± 5,50 против 21,43 ± 6,33, p<0,05), снижение частоты генотипа C/C не достоверно (13,75 ± 3,85 против 23,8 ± 6,57). Полиморфизмы генов IL-1b T-511C, IL-12b A1188C не имели значимых ассоциаций с наличием ЛПЗ.

В результате исследования выявлена ассоциация генотипа G/G полиморфизма гена IL-6 C-174G с наличием ЛПЗ, что, вероятно, связано с пониженной функциональной способностью модифицированного фермента. Отсутствие значимых ассоциаций с заболеваниями для полиморфизмов генов IL-1b T-511C и IL-12b A1188C предположительно объясняется малым объемом выборки, в связи с чем требуются дополнительные исследования.

### **СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ И ИХ ПРОЕКЦИЯ НА МОРФОЛОГИЧЕСКУЮ КАРТИНУ СЛЮННОЙ ЖИДКОСТИ СТУДЕНТОВ РАЗНЫХ ЭТНОСОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ЭКЗАМЕНАЦИОННОГО СТРЕССА**

**Высоцкая А.Г., Щербатюк Т.Г.**

ГБОУ ВПО Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава РФ, Нижний Новгород, Россия

*aleks.vysotzkaya@yandex.ru*

Перспективным направлением исследований в настоящее время является изучение этногенетических особенностей популяций, проводятся исследования этнических особенностей неспецифических реакций организма, лежащих в основе адапционно-компенсаторных механизмов. Известно, что любая стрессорная реакция, как результат развертывания адапционного процесса, сопровождается развитием окислительного стресса, поэтому выяснение особенностей процессов свободнорадикального окисления – антиоксидантной защиты – важно для раскрытия закономерностей формирования адаптивных реакций на клеточном уровне. Адаптация студентов представляет собой сложный психофизиологический процесс, так как эмоциональные и умственные нагрузки могут привести к его срыву, что сопровождается выраженной картиной метаболических изменений в организме.

Цель исследования – изучить характер протекания свободнорадикальных процессов и их отражение в структурной организации слюнной жидкости студентов разных этносов под действием экзаменационного стресса. В исследовании приняли участие 70 условно здоровых студентов в возрасте 19 ± 1 лет. Согласно этнической принадлежности было сформировано 3 группы – русские, индусы и африканцы. В качестве биологического материала использовалась слюнная жидкость, которая изучалась методами индуцированной хемилюминесценции и клиновидной дегидратации.

На основании предэкзаменационных значений интенсивности хемилюминесцентного свечения слюнной жидкости внутри каждой этнической группы были установлены 3 категории: имеющие низкий (0-0,35), средний (0,35-0,5) и высокий (0,5≤) уровень свободнорадикального окисления. Нами была выявлена этническая зависимость для студентов с высоким предэкзаменационным хемилюминесцентным свечением: под влиянием стрессора африканские и индийские студенты демонстрировали снижение уровня свободнорадикального окисления, у русских проявилось его повышение.

При проведении корреляционного анализа была обнаружена статистически достоверная (p<0,05) взаимосвязь интенсивности хемилюминесцентного свечения и следующих элементов структуры фации: количество (r=-0,488) и величина (r=-0,645) кристаллов центральной зоны, толщина кристаллов центральной зоны (r=0,661), включения центральной зоны (r=-0,392), элементы промежуточной зоны (r=0,344).

### **ПОСТАКТИВАЦИОННОЕ УВЕЛИЧЕНИЕ РАЗМЕРА КВАНТА МЕДИАТОРА В НЕРВНО-МЫШЕЧНЫХ СИНАПСАХ МЫШИ**

**Голикова Е.А., Богачева П.О.**

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

*katushka123321@mail.ru*

В настоящей работе на нервно-мышечных синапсах mEDL мышцы исследовали спонтанную секрецию ацетилхолина (АХ). Электрофизиологическим проявлением секреции кванта медиатора являются миниатюрные потенциалы концевой пластинки (МПКП). Их амплитуда зависит от числа квантов медиатора, выделяющихся при экзоцитозе, и постсинаптической чувствительности, а также от пресинаптических

событий, приводящих к изменению размера кванта, т.е. количества медиатора в везикуле. Терминаль двигательного нерва позвоночных содержит большое количество везикул, но только небольшая часть принимает участие в вызванном высвобождении медиатора, а остальные составляют резервный пул. Поэтому в периоды активного экзоцитоза везикулярное рециклирование и пополнение из резервного пула необходимо увеличить, чтобы избежать истощения пула готовых к освобождению везикул. Приток везикул происходит за счет эндоцитоза, а новообразованные везикулы пополняются АХ в процессе, который зависит от везикулярного транспортера АХ.

В работе использовали стандартную микроэлектродную технику регистрации МПКП. После записи контроля проводили стимуляцию малоберцового нерва длинным залпом сверхпороговых импульсов в течение 2 минут с частотой 30 Гц. Затем в течение часа регистрировали максимально возможное количество МПКП для последующей оценки постактивационных изменений амплитуды, временного хода и частоты.

Через 20 минут после длительной высокочастотной активности наблюдалось выраженное увеличение средней амплитуды МПКП на 25%, а также сдвиг гистограммы распределения амплитуд МПКП в сторону более высоких значений. Этот эффект мог иметь как пост- так и пресинаптическую природу. Для выяснения этого был использован везамикол – блокатор везикулярного транспортера АХ. Как известно, эффект везамикола проявляется только после длительной работы синапса, а в покое размер кванта на фоне его действия не уменьшается, что связано с наличием в моторных синапсах большого пула уже заполненных медиатором везикул и инерционностью процесса заполнения. В ходе эксперимента везамикол (1 мкМ) добавляли сразу после длительной высокочастотной стимуляции, и это полностью предотвращало прирост амплитуды МПКП в течение часа после стимуляции. Полученные данные указывают на пресинаптическую природу наблюдавшегося постактивационного облегчения спонтанной секреции, которое, по всей видимости, было связано с увеличением размера кванта АХ за счет усиленной закачки АХ в везикулы.

Работа поддержана грантом РФФИ № 16-04-00554А.

## **СОДЕРЖАНИЕ ЦИНКА В ГРАНУЛОЦИТАХ КРОВИ ЗЛОТИСТЫХ ХОМЯЧКОВ С АЛЛОКСАНОВЫМ ДИАБЕТОМ**

**Головченко Т.Р.**

Запорожский национальный университет, Запорожье, Украина

*zlychka\_i@mail.ru*

Сахарный диабет – группа эндокринных заболеваний, развивающихся вследствие абсолютной или относительной недостаточности гормона инсулина. Это обуславливает возникновение гипергликемии и нарушений всех видов обмена веществ.

На сегодняшний день отсутствуют данные о содержании цинка в гранулоцитах крови из-за отсутствия совершенных цитохимических методов их определения. Разработка таких методов в условиях нашей лаборатории позволила провести исследования содержания металла в зернистых лейкоцитах у животных при сахарном диабете.

Цель исследования – изучить влияние аллоксана на содержание цинка в гранулоцитах крови золотистых хомячков.

В опытах было использовано 16 половозрелых хомячков в возрасте 5-6 мес. Контрольную группу составляли интактные животные. Диабет у животных вызывали путем подкожного введения аллоксана в дозе 200-400 мг/кг в виде 2-5% растворов. У животных через 5 суток после инъекции диабетогенного вещества прижизненно брали кровь из уха или хвоста для приготовления мазков.

Содержание цинка в гранулоцитах крови устанавливали по интенсивности цитохимической реакции сульфарсазена. Мазки крови предварительно фиксировали в формалине, после окончания термина фиксации мазки окунали в смесь для окрашивания, где выдерживали в течение 3 часов при температуре 70 °С. Смесь содержала в определенном объемном соотношении водные растворы сульфарсазена, ацетата натрия и гидроксида аммония. После этого препараты промывали в течение 1 мин дистиллированной водой и заключали в желатин. Мазки рассматривали под световым микроскопом. На препаратах цинк выявляли в цитоплазме зернистых лейкоцитов в виде гранул оранжевого цвета.

Интенсивность цитохимической реакции сульфарсазена оценивали по трехбалльной системе, предложенной Соколовским, Хейхоу и Кваглино. За 1 балл принимали слабopоложительную реакцию, 2 балла – умеренную, 3 балла – выраженную реакцию. На основании подсчета на 100 клетках выводили среднее значение интенсивности реакции. Экспериментальные результаты обрабатывали с использованием t-критерия Стьюдента. На всех этапах эксперимента придерживались требований «Общие этические принципы экспериментов на животных».

В результате исследований установлено, что интенсивность цитохимической реакции сульфарсазена в гранулоцитах крови золотистых хомячков, которые составляли контрольную группу, в среднем равнялась  $1,0 \pm 0,08$  усл. ед. После введения диабетогенного агента количество металла в клетках в среднем составляло  $0,5 \pm 0,04$  усл. ед., что на 50% меньше по сравнению с контрольными величинами. Разница с контролем носит высокодостоверный характер ( $p < 0,001$ ).

Таким образом, развитие аллоксанового диабета у золотистых хомячков сопровождается снижением содержания цинка в гранулоцитах крови.

### **ПОДАВЛЯЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ЦИС-ВАКЦЕНИЛ АЦЕТАТА НА ДВИГАТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ САМЦОВ ДРОЗОФИЛЫ**

**Гончарова А.А.**

ФГБУН Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

*AnemoneNemorosa@yandex.ru*

Поведение дрозофилы подвержено влиянию химических веществ. Самки дрозофилы синтезируют аттрактанты для привлечения самцов и репелленты для их отпугивания. Самцы синтезируют феромоны, в чьи функции входит привлечение насекомых обоих полов, а также подавление ухаживания и взаимной агрессии между особями мужского пола. Наиболее активным феромоном самцов является цис-вакценил ацетат, его роль в регуляции упомянутых выше форм активности подтверждена экспериментально. Ранее мы показали, что групповое содержание самцов дрозофилы приводит к значительному снижению их двигательной активности, сохраняющемуся до 5 суток после изоляции из группы. У самок аналогичных изменений двигательной активности не наблюдается. В настоящей работе мы решили выяснить, опосредовано ли наблюдаемое подавление двигательной активности действием феромонов, в частности цис-вакценил ацетата, синтезируемых самцами дрозофилы.

Самцов *Drosophila melanogaster* линии дикого типа Canton-S собирали сразу после вылупления и содержали поодиночке или в группе из 20 особей. На 3 день без обездвиживания переносили мух в индивидуальные камеры и тестировали в автоматическом режиме их двигательную активность непрерывно в течение 5 часов. На дно камеры на время тестирования помещали бумажку с нанесенными на нее гексановой вытяжкой из половозрелых самцов или искусственно синтезированным цис-вакценил ацетатом. В качестве контроля апплицировали чистый гексан. Во всех случаях перед посадкой насекомых в камеры ждали несколько минут, пока гексан испарится.

Было показано, что самцы, содержащиеся индивидуально, при тестировании в присутствии вытяжки из половозрелых самцов снижают свою двигательную активность до уровня самцов, содержащихся в группе. Наличие вытяжки не оказывает влияния на поведение насекомых, предварительно содержащихся в группе. Аналогичные изменения поведения наблюдались у наивных самцов в присутствии чистого цис-вакценил ацетата.

На основании полученных данных, а также уже известного отсутствия подавления двигательной активности у самок после их содержания в однополых группах, мы полагаем, что снижение двигательной активности вследствие группового содержания является результатом действия феромонов, синтезируемых самцами дрозофилы. Вероятно, именно цис-вакценил ацетат (или преимущественно он) является феромоном, вызывающим наблюдаемые изменения поведения.

Работа поддержана грантом РФФИ № 13-04-02153.

### **ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ВАЗОПРЕССИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ У КРЫС ЛИНИИ КРУШИНСКОГО-МОЛОДКИНОЙ В НОРМЕ И В ХОДЕ АУДИОГЕННОГО СУДОРОЖНОГО ПРИПАДКА**

**Горбачёва Е.Л.<sup>1</sup>, Никитина Л.С.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург,

Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет,

Санкт-Петербург, Россия

*jengorbacheva@gmail.com*

Взаимосвязь между интенсивностью секреции вазопрессина и предрасположенностью к эпилептиформной активности была отмечена довольно давно. На фармакологических моделях эпилепсии были продемонстрированы моделирующие эффекты вазопрессина на судорожную активность. Объектом исследования являлись крысы линии Крушинского-Молодкиной (КМ), имеющие генетическую предрасположенность к возникновению аудиогенного судорожного припадка. Целью работы было оценить функциональную активность вазопрессинергической системы крыс линии КМ в норме, а также в ходе и после судорожного припадка. Эксперимент состоял из двух серий. Первая серия эксперимента была проведена на крысах линии КМ и крысах линии Вистар в возрасте 4,5-5 месяцев. Во второй серии экспериментов были проанализированы 4 группы крыс линии КМ: интактные животные, крысы на тонико-клонической стадии судорожного припадка, а также через 1 и 24 часа после его завершения.

Показано, что у крыс линии КМ концентрация вазопрессина в крови была снижена по сравнению с крысами линии Вистар. При этом у крыс линии КМ было показано снижение содержания вазопрессина в нейронах супраоптического ядра (СОЯ) на фоне его неизменной транскрипции и накопление нейрогормона

в задней доле гипофиза (ЗДГ). Полученные данные указывают на нарушение секреции вазопрессина на этапе экзоцитоза нейросекреторных гранул у крыс линии КМ по сравнению с крысами линии Вистар.

В ходе аудиогенного судорожного припадка концентрация вазопрессина в плазме крови у крыс линии КМ была значительно повышена уже на тонико-клонической стадии по сравнению с животными контрольной группы. Через 1 и 24 часа после его завершения концентрация вазопрессина вернулась к контрольным значениям. Содержание вазопрессин-нейрофизина II в СОЯ крыс линии КМ на тонико-клонической стадии судорожного припадка было снижено по сравнению с интактными крысами. Содержание вазопрессин-нейрофизина II в ЗДГ у крыс линии КМ до, в ходе и после судорожного припадка не различалось. Полученные данные указывают на то, что в ходе аудиогенного судорожного припадка происходит активация вазопрессинергических нейронов, что влечет за собой однократный выброс нейрогормона в кровь непосредственно на тонико-клонической стадии судорожного припадка.

В целом, полученные нами данные свидетельствуют о вовлеченности вазопрессинергической системы в развитие предрасположенности и в реализацию судорожной активности у крыс линии Крушинского-Молодкиной.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант №14-04-00811).

### **МОДЕЛЬ ДЕПРЕССИВНОГО СОСТОЯНИЯ, ВЫЗВАННОГО РАННИМ СТРЕССОМ: ПОВЕДЕНИЕ, НЕЙРОГЕНЕЗ, НЕЙРОТРОФИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ**

**Горбунова А.А.<sup>1,2</sup>, Тишкина А.О.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВПО Московский физико-технический институт (государственный университет), Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

*aleksandra.gorbunova@phystech.edu*

Депрессия – психическое заболевание, которым, по данным Всемирной организации здравоохранения, страдает более 350 млн. человек. Предполагается, что депрессия сопряжена со значительными нарушениями нейрогенеза и метаболизма нейротрофических факторов. Одной из причин и/или фактором риска депрессии является перенесенный в раннем возрасте стресс. Механизмы влияния «детского» стресса на нейрогенез и систему нейротрофинов до конца не выяснены. Целью данной работы было исследование системы нейротрофических факторов мозга и процессов нейрогенеза в животной модели депрессивного состояния, вызванного стрессом в раннем онтогенезе.

В эксперименте использовали 42 крысы самца линии Вистар. Стресс индуцировали подкожным введением бактериального липополисахарида (ЛПС) на 3-й и 5-й постнатальные дни. Контрольной группе вводили физиологический раствор. На 6-й и 7-й дни животным вводили бромдезоксипуридин (BrdU) – маркер вновь образовавшихся клеток. Спустя три месяца проводили поведенческое тестирование с целью выявления уровней тревожности и депрессивности животных. Использовали тесты «открытое поле», «приподнятый крестообразный лабиринт», «условно-рефлекторное замирание», «вынужденное плавание». Для изучения метаболизма нейротрофических факторов измеряли концентрацию фактора роста нервов (NGF) в неокортексе и гиппокампе методом иммунофлуоресцентного анализа. Оценку состояния нейрогенеза в пролиферативной зоне гиппокампа проводили иммуногистохимически на срезах мозга, окрашенных антителами к BrdU.

Поведенческое тестирование показало, что введение ЛПС в раннем онтогенезе приводит к развитию депрессивного фенотипа к трехмесячному возрасту. Проведение поведенческих тестов, которое само по себе является умеренным стрессом, снижало уровень NGF в гиппокампе крыс, подвергнутых раннему стрессу, но не в контрольной группе. Таким образом, депрессивные животные демонстрировали изменение стресс-реактивности по этому показателю, что свидетельствует о модификации системы нейротрофинов. Стресс в раннем онтогенезе приводил к увеличению числа BrdU-позитивных клеток в субгранулярном слое зубчатой фасции, что может быть следствием изменения пролиферации или выживания вновь образованных клеток в ответ на неонатальный провоспалительный стресс. Полученные данные подтверждают концепцию о том, что вызванные стрессом в раннем онтогенезе проявления депрессивного фенотипа сопряжены с изменениями метаболизма нейротрофических факторов и изменениями нейрогенеза.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-25-00136.

### **ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНО-НАПРАВЛЕННОГО АНТИОКСИДАНТА SKQ1 НА ПРОЦЕСС ОСТРОГО ВОСПАЛЕНИЯ**

**Дворянинова Е.Е.**

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

*Katya.Dvoryaninova@yandex.ru*

Активные формы кислорода (АФК) – важные участники процессов передачи сигналов внутри клетки. Помимо этого, АФК выполняют роль бактерицидных агентов. Однако гиперпродукция АФК приводит к окислительному стрессу, сопровождающему ряд патологических состояний, в том числе

воспалительные процессы. В связи с тем, что главным источником АФК в клетке является электрон-транспортная цепь митохондрий (ЭТЦ), можно предположить, что применение митохондриально-направленных антиоксидантных препаратов будет оказывать противовоспалительное действие.

Целью работы стало изучение действия митохондриально-направленного антиоксиданта SkQ1 (10-(6'-пластохинонил) децилтрифенилфосфония бромид) на острый подкожный воспалительный процесс, индуцированный  $\lambda$ -каррагинаном, у мышей линии C57Bl/6. В качестве препарата сравнения выбран C12TPP (децилтрифенилфосфоний) – фрагмент молекулы SkQ1, не обладающий прямым антиоксидантным действием.

В 1-й день эксперимента в межлопаточной области у мышей сформированы субдермальные «воздушные мешки» путём введения стерильного воздуха. На 4-ый день проведена повторная инъекция стерильного воздуха. На 7-й день введение 1% раствора каррагинана в область «воздушного мешка» активировало острый воспалительный процесс. Введение исследуемых веществ в дозе 250 нмоль/кг (объем введения составлял 10 мкл раствора на 1 г веса животного) и контрольного вещества (физраствор) в аналогичном объёме проводилось внутривенно один раз в сутки в течение 7 дней до индукции воспаления. В день индукции воспаления введение препаратов проведено за час до инъекции раствора каррагинана. Через 4 часа после индукции воспаления животные выводились из эксперимента, и для дальнейшего исследования забирался образец периферической крови из хвостовой вены, экссудат из полости «воздушного мешка» и кожный лоскут из верхней стенки «воздушного мешка».

Выявлено, что число клеток в экссудате группы животных, получавших SkQ1, было на 30,1% ниже, чем в контрольной группе. Данный эффект достигался за счёт снижения численности гранулоцитов в экссудате группы животных, принимавших SkQ1, на 39,8%. Процентное содержание нейтрофилов при этом уменьшалось на 4,3%, а относительное количество макрофагов и тучных клеток увеличивалось на 31,3%. Наблюдалась также тенденция к понижению концентрации провоспалительного цитокина IL-6 на 43,8%.

На тканевом уровне действие SkQ1 проявлялось в уменьшении количества тучных клеток в стенке «воздушного мешка» на 26,8% и увеличении доли дегранулирующих на 64,8%. C12TPP при этом снижал численность мастоцитов на 28,7% и долю дегранулирующих среди них на 59,5%.

## **РОЛЬ ERK И MEK КИНАЗ В АКТИВАЦИИ ПРОЦЕССОВ РЕГЕНЕРАЦИИ У ПЛОСКИХ ЧЕРВЕЙ ПЛАНАРИЙ**

**Ермаков А.М., Ермакова О.Н.**

ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия

*ao\_ermakovy@rambler.ru*

Пресноводные плоские черви планарии известны своей уникальной способностью к неограниченному восстановлению утраченных частей тела путем регенерации за счет пролиферации и дифференцировки стволовых клеток – необластов. Между тем на сегодняшний день мало известно о том, какие молекулярные механизмы активируют пролиферацию стволовых клеток в ответ на повреждение тела планарии. Нами ранее было показано, что ингибирование с помощью фармакологических веществ или РНК интерференции системы митоген-активируемых протеинкиназ в теле планарий приводит к нарушениям в процессах регенерации и морфогенеза. Также известно, что ранние стадии регенерации и, видимо, активации пролиферации стволовых клеток зависят от ранней экспрессии «рана-индуцируемых генов» (РИГ) в клетках планарии, окружающих рану. Поэтому цель нашей работы – исследование ERK и MEK киназ в регуляции транскрипционной активности «рана-индуцируемых генов» и активации процессов регенерации у планарий.

Работа была выполнена на бесполой расе планарий *Schmidtea mediterranea*. Путем РНК интерференции у планарий подавляли транскрипцию исследуемых митоген-активируемых протеинкиназ и далее у нокаутных животных с помощью ПЦР в реальном времени оценивали экспрессию 44 РИГ и методом иммуногистохимии изучали митотическую активность необластов. Нами было обнаружено, что РНК интерференция ERK и MEK киназ у планарий приводила к нарушению временной динамики транскрипции РИГ. При этом также у них нарушался пространственно-временной ход митотической активности необластов. В частности, на начальных стадиях регенерации митотическая активность стволовых клеток была сильно подавлена, а на более поздних – прекращалась миграция необластов к зоне регенерации.

Таким образом, нами была показана важная роль системы митоген-активируемых протеинкиназ в активации и регуляции ранних стадий регенеративного процесса у планарий.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 14-04-01517-а.

## ИММУННЫЙ СТАТУС И ЕГО КОРРЕКЦИЯ У ЯЩЕРИЦ-ЖЕЛТОПУЗИКОВ (*PSEUDOPUS APODUS*) В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

Желанкин Р.В.<sup>1</sup>, Макарян Э.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт проблем передачи информации имени А.А. Харкевича РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Тверская государственная сельскохозяйственная академия, Сахарово, Россия

*littletick@ya.ru*

Для диагностики инфекционных и других болезней рептилий может быть необходима оценка их иммунного статуса с целью выявления иммуносупрессии какого-либо звена иммунитета, а также иммунокоррекции. Объектами исследования были 4 особи безногих ящериц-желтопузиков (*Pseudopus apodus*). У ящериц была обнаружена инвазия лёгочными нематодами (*Entomelas* sp.), а также учитывалась иммуносупрессия при содержании их в неволе. Для лечения нематодоза были применены препараты-антгельминтики ивермектин, празиквантел, а дексаметазон однократно. После этого проводилась иммунотропная терапия препаратом "Имунофан" внутримышечно в дозе 0,1 мл/кг, через день 3 раза. Кровь для анализа у ящериц брали из вентральной хвостовой вены. В крови желтопузиков при подсчете лейкограммы учитывалось количество гетерофилов ( $58 \pm 7$ ) и лимфоцитов ( $42 \pm 7$ ) в процентах. После применения антгельминтика количество лимфоцитов уменьшилось в 1,68 раз, а гетерофилов – возросло в 1,29 раза. После применения иммунофана количество лимфоцитов возросло в 1,36 раза, а гетерофилов уменьшилось в 1,14 раз. При последовательном применении антгельминтика и иммуномодулятора показатели фагоцитарной активности крови ящериц: процент фагоцитоза, фагоцитарный индекс, индекс завершенности фагоцитоза резко снижались, а затем приобретали положительную динамику на восстановление активности. Проводилось исследование общей гемолитической активности комплемента крови ящериц: после применения антгельминтика она снижалась в 2,90 раза, а после применения иммунофана возрастала в 1,46 раз. При определении количества Т- и В-лимфоцитов проводилось выделение лимфоцитарной фракции в градиенте фиколл-верографина и использовался тест спонтанного образования розеток. При последовательном применении антгельминтика и иммуномодулятора количество Т-лимфоцитов снижалось в 1,38 раза, а к концу исследования возрастало в 1,62 раза. Количество В-лимфоцитов снижалось в 1,62 раза, а после иммуностимуляции повышалось в 1,54 раза. Электрофорез белков сыворотки крови ящериц проводился с целью оценки гамма-глобулиновой фракции. При сканировании электрофоретогамм на денситометре определено количество гамма-глобулинов: при последовательном применении антгельминтика и иммуномодулятора количество гамма-глобулинов снижалось в 4,13 раза, а затем возрастало в 2,50 раз. Апробация методов оценки иммунного статуса, принятых в ветеринарии млекопитающих, показала, что большинство методов могут быть применены и для рептилий.

## CD39+ TREG-КЛЕТКИ И СИГНАЛЬНЫЙ ПУТЬ АДЕНОЗИН-A2A-РЕЦЕПТОР В РАЗВИТИИ ИММУННОЙ СУПРЕССИИ ПРИ КОЛОРЕКТАЛЬНОМ РАКЕ

Жулай Г.А.<sup>1</sup>, Чуров А.В.<sup>1</sup>, Кравченко П.Н.<sup>1</sup>, Романов А.А.<sup>2</sup>, Олейник Е.К.<sup>1</sup>, Олейник В.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия; <sup>2</sup>ГБУЗ Республиканский онкологический диспансер, Петрозаводск, Россия

*zhgali-111@yandex.ru*

Внеклеточный аденозин является сигнальной молекулой, модулирующей многие физиологические процессы. Недавно была показана его важная роль в формировании иммуносупрессии при канцерогенезе. Противовоспалительное действие аденозина на Т-клетки реализуется при активации аденозинового рецептора A2A (A2AR), что делает сигнальный путь аденозин-A2AR потенциальной мишенью для противоопухолевой иммунотерапии. Колоректальный рак (КРР) является одним из наиболее распространенных типов злокачественных новообразований, однако роль аденозина в его развитии до конца не изучена.

Целью работы была оценка уровня мРНК генов A2AR, эктонуклеотидаз CD39 и CD73 (гидролизующих АТФ до аденозина), а также оценка экспрессии молекулы CD39 регуляторными Т-клетками (Treg) в периферической крови больных КРР.

Обследовано 42 больных КРР и 30 здоровых доноров. Уровень мРНК CD39, CD73, A2AR определяли методом ПЦР в реальном времени. Экспрессию клетками молекул CD4, CD25, CD127, FOXP3, CD39 оценивали методом проточной цитометрии. Достоверность различий между группами рассчитывали по критерию Манна-Уитни при уровне значимости  $p < 0,05$ .

Показано, что у больных КРР содержание мРНК CD39 в лейкоцитах увеличивается в процессе развития заболевания, тогда как для CD73 значительных различий по сравнению с контролем не найдено. Наряду с этим для больных с поздними стадиями КРР отмечено повышение экспрессии мРНК A2AR, что может свидетельствовать об активации аденозин-A2AR иммуносупрессорного механизма.

Важную роль в формировании иммунной супрессии при канцерогенезе играет популяция Treg-клеток, которые могут участвовать в накоплении внеклеточного аденозина посредством экспрессии CD39 и CD73. У больных КРР при анализе CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>lo/-</sup> Treg-клеток наблюдали усиление уровня экспрессии молекулы CD39. Показано, что экспрессия этой эктонуклеотидазы Treg-клетками увеличивается уже на начальных стадиях развития опухоли (55,24 ± 4,2%) по сравнению с контролем (41,16 ± 3,1%) и достигает максимальных значений у больных с более поздними стадиями КРР (67,95 ± 3,1%). Отмечено также усиление экспрессии CD39 на активированных CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T-клетках на III-IV стадиях КРР. Кроме того, при оценке связи экспрессии молекулы CD39 на Treg-клетках с уровнем мРНК A2AR, в крови больных КРР обнаружена положительная корреляция ( $r=0,45$ ,  $p<0,05$ ). Таким образом, у больных КРР происходит активация аденозин-опосредованной супрессии, значительную роль при этом могут играть Treg-клетки.

Финансовая поддержка работы: РФФИ, проект № 16-34-00970, бюджетная тема № 0221-2014-0011.

### **MIND-FITNESS КАК МЕТОД ПРОФИЛАКТИКИ СТРЕССОВОГО ПЕРЕНАПРЯЖЕНИЯ**

**Захарова О.В.<sup>1</sup>, Маракасова А.А.<sup>2</sup>, Мерзлякова О.Ю.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт мозга человека им. Н.П. Бехтерева РАН, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГАОУ ВО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

*sy.olesya@gmail.com*

Стресс и напряженность современной жизни являются неотъемлемой частью современного общества. Стресс-индуцированные психоэмоциональные состояния, сопровождающиеся длительной генерацией отрицательных эмоций, зачастую приводят к развитию различных невротических расстройств и психосоматических заболеваний.

Цель: провести психофизиологический анализ влияния длительной практики mind-технологий на стрессоустойчивость организма и индивидуальную эмоциональную реактивность человека.

Материалы и методы: в исследовании приняли участие 44 добровольца, в возрасте от 20 до 45 лет, из них 23 составили группу контрольных испытуемых, не практикующих техники психической саморегуляции, а 21 – экспериментальную группу, которые были ознакомлены с методикой mind-fitness и начали регулярно применять ее. У испытуемых обеих групп проведено психометрическое тестирование – оценка уровней личностной тревожности (STAI-t), алекситимии (TAS-20), депрессии (BDI), а также экстраверсии/интроверсии, нейротизма и психотизма (EPQ), выполнен ряд экспериментальных моделей – тестирование трех систем внимания (ANT) и оценка Струп-теста с предъявлением лиц, выражающих различные эмоции. Также проведены контрольные измерения АД и ЧСС.

Результаты: по данным психометрии представители экспериментальной группы, несмотря на большую интровертированность, обладают более высокой психоэмоциональной стабильностью. В сравнении с контрольными испытуемыми, характеризуются более низкими значениями нейротизма, психотизма, личностной тревожности и депрессивности, а так же обнаруживают лучшие способности к идентификации чувств и выражению эмоций. При тестировании сетей внимания, отмечены значимо лучшие по сравнению с контрольными испытуемыми показатели работы сети внимания, контролирующей управление (Executive control). В экспериментальной модели Струп-теста выявлена одинаковая реакция на все категории стимулов, которые проявляют "избегание" гневных лиц, и "застывание" на лицах, выражающих испуг.

Выводы: mind-fitness – технология саморегуляции, способствующая развитию таких навыков как сохранение устойчивого самообладания в ответ на негативные стимулы, способность к концентрации внимания и эффективному разрешению внутренних конфликтов, своевременной идентификации принципиально важной информации и умению адекватно оценивать реальность. Mind-технологии нивелируют нарушения ментально-эмоциональной сферы и являются эффективным методом в повышении резистентности организма к воздействию психосоциального стресса.

### **РОЛЬ КОРТИКОЛИБЕРИНА И ГЛЮКОКОРТИКОИДНЫХ ГОРМОНОВ В РАЗВИТИИ ПОСТСТРЕССОВЫХ ТРЕВОЖНЫХ СОСТОЯНИЙ У КРЫС И ИХ КОРРЕКЦИИ ГИПОКСИЧЕСКИМ ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЕМ**

**Зенько М.Ю.**

ФГБУН Институт физиологии имени И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

*zenkomichail@mail.ru*

Посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР) – это одно из наиболее распространенных заболеваний тревожно-депрессивного спектра, возникающее в отдаленный период после сверхинтенсивных стрессорных воздействий. Данное заболевание сопровождается нарушением работы гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы (ГГАС), ответственной за адекватный нейроэндокринный ответ на стресс. Ранее нами было установлено, что эффективным способом коррекции ПТСР в моделях на крысах является посткондиционирование умеренной гипобарической гипоксией (3 сеанса – 360 мм рт. ст., 2 ч),

обладающее выраженным анксиолитическим и адаптогенным эффектом. В связи с необходимостью раскрытия роли центральных механизмов регуляции ГГАС в патогенезе ПТСР, а также уточнения молекулярных механизмов гипоксического посткондиционирования, целью данной работы являлось изучение роли кортиколиберина и глюкокортикоидов в формировании и коррекции экспериментального ПТСР. Методом количественной иммуногистохимии было показано, что посткондиционирование нормализует экспрессию кортиколиберина и его рецепторов, нарушенную при экспериментальном ПТСР, в экстрагипоталамических структурах-регуляторах работы ГГАС: гиппокампе, фронто-париетальном и префронтальном неокортексе. В модели экспериментального ПТСР гипоксическое посткондиционирование повышает уровень глюкокортикоидных гормонов в крови крыс, в то время как стресс-протективный эффект посткондиционирования в данной модели не проявляется на фоне блокады синтеза кортикостероидов метирапоном. Полученные данные свидетельствуют о вовлечении экстрагипоталамической кортиколиберинергической системы в патогенез тревожных расстройств и важной роли этого нейрогормона и глюкокортикоидов в реализации проадаптивного действия гипоксического посткондиционирования.

### **РЕПАРАТИВНАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ СЕМЕННИКОВ И СОСТОЯНИЕ ИХ ТУЧНОКЛЕТОЧНОЙ ПОПУЛЯЦИИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ПРЕДНИЗОЛОНА**

**Иванова И.Г.**

ФГАОУ ВПО Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина,  
Екатеринбург, Россия

*I2irina.ivanova@gmail.com*

Увеличение количества тучных клеток в семенниках сопровождается расстройствами сперматогенеза. После травмы яичек, в качестве стимулирующих регенерацию средств, могут быть использованы кортикостероиды. Однако действие этих препаратов на количественные и качественные показатели тучных клеток в семенниках не установлено. Данные сведения позволили бы определить точную роль данных клеток в регуляции репарации тестикул.

Цель работы: изучение репаративной регенерации семенников и состояние их тучноклеточной популяции при действии преднизолонa.

Исследование проводили на крысах линии Wistar половозрелого возраста. Были сформированы 3 группы: интактные животные (n=8); животные, которым проводили прокол правого семенника иглой (n=10); животные, которым после прокола вводили преднизолон в течение недели в дозе 4 мг/кг (n=10). Исследуемые сроки: 7 и 30 сутки. На препаратах измеряли ряд показателей, свидетельствующих о ходе репарации. Производили подсчет общего числа тучных клеток на единицу площади с пересчетом на 1 мм<sup>2</sup>, а также их типирование по интенсивности окрашивания и содержанию гранул в цитоплазме. Сравнение групп выполняли с использованием критерия Манна-Уитни. Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

При механическом повреждении целостности семенника путем прокола развиваются интенсивные и не угасающие спустя месяц процессы деструкции органа. По сравнению с группой без введения препарата в группе с преднизолоном достоверно увеличивается количество нормальных сперматогоний в поврежденном семеннике уже на 7 сутки ( $59,05 \pm 4,74$  и  $79,18 \pm 3,63$ ), а также уменьшается количество нефункционирующих канальцев ( $23,9 \pm 7,88$  и  $6,75 \pm 1,11$ ). Кроме этого, диаметр извитых семенных канальцев к 30 суткам достигает уровня интактной группы ( $0,415 \pm 0,02$  и  $0,408 \pm 0,01$  мм). Общее число тучных клеток при проколе не изменяется. Но через 7 суток происходит повышение их индекса дегрануляции ( $10,125 \pm 0,85$  и  $15,73 \pm 1,95$  усл. ед.) и синтетической активности ( $1,625 \pm 0,04$  и  $2,12 \pm 0,05$  усл. ед.). На фоне введения преднизолонa общее количество тучных клеток повышается на 7 сутки ( $10,22 \pm 0,82$  и  $13,83 \pm 0,94$  на 1 мм<sup>2</sup>). При этом преднизолон не оказывает влияния на синтетическую активность ( $2,12 \pm 0,05$  и  $2,10 \pm 0,08$ ) и индекс дегрануляции ( $12,22 \pm 1,86$  и  $13 \pm 2,27$ ).

Таким образом, на фоне введения кортикостероидов наблюдается улучшение репаративной регенерации, несмотря на то, что преднизолон увеличивает количество тучных клеток в семеннике и не меняет их функциональную активность, что может быть связано с тем, что преднизолон реализует свой эффект не через тучные клетки.

### **ОЦЕНКА ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ЛЕВОМИЦЕТИНА НА МОДЕЛИ КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЫ СНО-К1**

**Искендерова Н.Э.<sup>2,3</sup>, Лаврик А.А.<sup>1,3</sup>, Буркова В.В.<sup>2,3</sup>**

<sup>1</sup>Институт микробиологии и иммунологии имени И.И. Мечникова НАМН Украины, Харьков, Украина;

<sup>2</sup>Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков, Украина; <sup>3</sup>ПАО «ФАРМСТАНДАРТ-БИОЛЕК», Померки, Украина

*NadiiaIskenderova@gmail.com*

Одним из основных этапов оценки качества фармацевтических препаратов является проверка их токсичности. В большинстве стран наряду с моделями *in vivo* активно применяются методы оценки этого



показателя на модели клеточных культур (*in vitro*) по методикам, рекомендованным регулирующими Международными организациями (ВОЗ, МЭБ, Фармакопейные комитеты и др.), в то время как на территории стран СНГ эти методы не получили широкого распространения.

Целью работы было изучить возможность оценки токсичности фармацевтических препаратов твердых лекарственных форм на примере Левомецетина на модели клеточной культуры СНО-К1 (Chinese Hamster Ovary Cells) – клетки яичника китайского хомяка.

Учитывали следующие показатели: морфологические повреждения, наличие нарушения пролиферативных свойств и митотической активности на 24 ч, 48 ч и 72 ч роста культуры.

Исследуемый препарат добавлялся в ростовую среду для культивирования клеток (90% DMEM, 10% FBS) в концентрациях: 3 мкг/мл, 15 мкг/мл, 75 мкг/мл; контроль – клетки, которые культивировали без содержания препарата.

Результаты исследований показали, что под влиянием Левомецетина индекс пролиферации (ИП) изучаемой культуры снижался статистически значимо ( $p \leq 0,05$ ) и составил  $2,95 \pm 0,41$  (концентрация – 3 мкг/мл),  $2,61 \pm 0,71$  (15 мкг/мл) и  $2,39 \pm 0,91$  (75 мкг/мл), по сравнению с контролем, где ИП =  $3,97 \pm 0,64$ .

Первые 24 ч роста культуры Левомецетин не оказывал влияния на митотическую активность клеток. При этом количество патологических форм митозов (ПФМ) в варианте с терапевтической концентрацией (15 мкг/мл) достигало  $61,76 \pm 5,03$  %. На 2-е сутки (48 ч), при концентрации препарата в ростовой среде 3 мкг/мл наблюдалось статистически значимое снижение МИ до  $4,33 \pm 0,24$  % (в контроле МИ =  $15,67 \pm 0,81$  %), при 15 мкг/мл – до  $4,0 \pm 0,32$  % и при 75 мкг/мл – до  $6,0 \pm 0,38$  % ( $p \leq 0,05$ ). На третьи сутки (72 ч) количество ПФМ в контроле было на уровне  $10,64 \pm 5,18$  %, в то время как Левомецетин повышал данный показатель в концентрациях: 3 мкг/мл – до  $36,36 \pm 6,76$  %; 15 мкг/мл – до  $37,5 \pm 4,72$  % и 75 мкг/мл – до  $38,46 \pm 5,66$  %. Различия данных по сравнению с контролем были статистически значимы ( $p \leq 0,05$ ).

Таким образом, оценка токсичности Левомецетина на модели клеточной культуры СНО-К1 по ряду параметров – адгезия, пролиферация (пролиферативный индекс), митотический режим, морфологические изменения цитоплазмы и ядер клеток под действием исследуемого препарата – является информативным и требует продолжения исследований с использованием других лекарственных препаратов.

#### **ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА SOD2 A16V В КОНТЕКСТЕ ПОДВЕРЖЕННОСТИ ПРОФЕССИОНАЛЬНОМУ ФЛЮОРОЗУ РАБОЧИХ АЛЮМИНИЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВ**

**Калюжная Е.Э.<sup>1</sup>, Волобаев В.П.<sup>1</sup>, Казницкая А.С.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия; <sup>2</sup>ФГБНУ Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний, Новокузнецк, Россия

*Ekaterina.Eduardovna@yandex.ru*

Обсуждаются результаты исследования полиморфизма гена супероксиддисмутазы II типа (SOD2, MnSOD) у рабочих Новокузнецкого алюминиевого завода (НкАЗ) с установленным диагнозом профессиональный флюороз. Разные темпы манифестации данного заболевания у стажированных рабочих свидетельствуют в пользу индивидуальных наследственно обусловленных механизмов подверженности и резистентности развитию флюороза в провоцирующих условиях производственной среды. Основными вредными факторами производства алюминия методом электролиза криолитоглиноземного расплава являются фтор и его соединения. Фтор – мощный окислитель. Фтор и его соединения оказывают влияние на различные системы организма, в том числе, на состояние антиоксидантной защиты. Супероксиддисмутаза (SOD) – фермент антиоксидантной защиты, катализирующий превращение супероксид-аниона в кислород и перекись водорода. Известно также, что фтор способен оказывать ингибирующее влияние на ферменты цепи переноса электронов. SOD2 работает в митохондриях, нейтрализует активные формы кислорода, образующиеся на электротранспортной дыхательной цепи, и, таким образом, способна компенсировать или усугублять оксидативный стресс. SNP-полиморфизм – С на Т (rs4880) – в гене SOD2 является миссенс-мутацией и приводит к замене аланина на валин в 16 позиции, что сопряжено с изменением конформации белковой цепи и уменьшением активности фермента на 30-40% из-за менее эффективного транспорта в матрикс митохондрий.

Материалом для исследования послужили образцы крови рабочих НкАЗа, с установленным диагнозом профессиональный флюороз (средний стаж работы во вредных условиях составил  $18,16 \pm 1,73$  года) – группа «Случай». В группу «Контроль» вошли рабочие НкАЗа (стаж  $16,63 \pm 1,29$  года) без данного заболевания. Экстракцию ДНК проводили фенол-хлороформным методом. Генотипирование осуществляли с помощью наборов НПФ «Литех». Частоту генотипов в группах сравнивали при помощи критерия Стьюдента для выборочной доли, частоту аллелей – критерием  $\chi^2$ . Оценку значимости

генотипа в отношении подверженности заболеванию осуществляли на основе показателя отношения шансов (OR) при заданном доверительном интервале (CI).

Сравнительный анализ выявил статистически значимое ( $p < 0,05$ ) снижение частоты носителей гомозиготного генотипа СС в группе «Случай» по сравнению с группой «Контроль» (18,6 и 36,0 соответственно). Генотип ТТ, ассоциированный со снижением активности фермента, напротив, чаще регистрировался у больных профессиональным флюорозом (38,6 и 24,0 соответственно). Величина показателя OR в отношении генотипа ТТ составила 2,69 (95% при  $p = 0,0017$ ). Что касается частоты встречаемости гетерозиготного генотипа СТ, то она в исследованных группах находилась примерно на одном уровне – около 40%. Частота аллеля Т гена SOD2 при профессиональном флюорозе составила 0,600 и 0,440 в группе «Контроль».

## ВЛИЯНИЕ ГИПОКИНЕЗИИ И ХОЛОДОВОГО СТРЕССА НА МОРФОЛОГИЮ МЫШЦ M.SOLEUS И M.EDL ЛЕСНОЙ СОНИ DRYOMYS NITEDULA

Тяпкина О.В.<sup>1,2</sup>, Китаева К.В.<sup>1</sup>, Гусев О.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Казань, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, Казань, Россия

olleth@mail.ru

Исследование феномена уменьшения и/или отсутствия атрофии в скелетной мускулатуре среди зимнеящих животных, к которым относятся и сони (Gliridae), является весьма перспективным направлением в рамках астробиологических исследований. Однако лесная соня *Dryomys nitedula* до сих пор является малозученным видом; отсутствуют данные о реакции скелетных мышц животных в ответ на иммобилизационную гипокинезию и холодовой стресс (холод запускает спячку и гипокинезию при спячке). Цель данной работы состояла в **морфометрическом исследовании** «медленного» (*m. soleus*) и «быстрого» (*m. EDL*) типов скелетных мышц у лесной сони *Dryomys nitedula* после иммобилизационной гипокинезии и холодowego стресса.

Эксперименты были выполнены на разнополых диких лесных сонях *Dryomys nitedula* ( $n=9$ ), которых разделили на три группы – «контроль» и 2 подопытные (14 суток в эксперименте): «холодовой стресс» и «гипокинезия». Животные контрольной группы содержались в стандартных условиях вивария. Сони группы «холодовой стресс» находились при температуре в клетке  $-2^{\circ}$ – $+2^{\circ}$ С. Сони из группы «гипокинезия» находились в специальных пеналах для практически полного ограничения подвижности. После проведения эвтаназии забирали мышцы, фиксировали их в растворе фосфатного буфера (рН-7,3), затем помещали в раствор сахарозы. Поперечные срезы (20 мкм) изготавливали на криостате Thermo HM-320, в качестве среды для блоков использовали Tissue-Tek® OCT Compound, затем срезы окрашивали гематоксилин-эозином по общепринятому протоколу. Готовые препараты фотографировали на микроскопе Carl Zeiss Axiovision. Измерение площади каждого мышечного волокна производили в программе ZEN (blue edition).

Статистический анализ производили с помощью программы Statistica 10.0, применяли критерий Шапиро-Уилка (анализ нормальности распределения); достоверность различий оценивали с помощью критерия Манна-Уитни.

В ходе проведения экспериментов было выявлено, что животные, находясь в условиях холодowego стресса, впадали в неглубокую спячку: они реагировали на все внешние воздействия – просыпались и активно перемещались по клетке.

Морфометрическое исследование мышц показало, что в *m. soleus* после холодowego стресса наблюдается увеличение площади волокон (на 42%) относительно контрольной группы ( $p < 0,005$ ), а после иммобилизации изменения отсутствовали. Анализ площадей волокон в *m. EDL* выявил увеличение средних значений (на 17%) у животных после холодowego стресса ( $p < 0,005$ ) и достоверное уменьшение значений площади волокон (на 25%) после иммобилизации.

Таким образом, проведенное исследование дает основание заключить, что у лесной сони *Dryomys nitedula* отсутствует атрофия мышечных волокон в «медленной» *m. soleus* в ответ на гипокинезию и холодовой стресс, а в «быстрой» *m. EDL* напротив – иммобилизация приводит к атрофии. Выяснение данного феномена требует дальнейшего изучения.

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ МОЛЕКУЛ МЕЖКЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИИ КЛЕТОК ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА, ОТВЕТСТВЕННЫХ ЗА ФОРМИРОВАНИЕ ФЕНОТИПА ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ

Фадеев Р.С.<sup>1</sup>, Кобякова М.И.<sup>2</sup>, Соловьева М.Е.<sup>1</sup>, Захаров С.Г.<sup>3</sup>, Фадеева И.С.<sup>1</sup>,  
Голенков А.К.<sup>3</sup>, Акатов В.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, Пушино, Россия; <sup>2</sup> ФГБОУ ВО Тульский государственный университет, Тула, Россия; <sup>3</sup> ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф. Владимирского Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

*rita49@gmail.com*

Одну из важных ролей в формировании лекарственной устойчивости клеток острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) играет адгезия к клеткам паренхимы и молекулам межклеточного матрикса костного мозга. Ранее нами было показано, что фенотип лекарственной устойчивости у клеток ОМЛ также может возникнуть и при активации гомотипической межклеточной адгезии в многоклеточных агрегатах. В свою очередь, подавление гомотипической межклеточной адгезии предотвращало формирование фенотипа лекарственной устойчивости клеток ОМЛ.

В данном исследовании была проведена идентификация молекул межклеточной адгезии клеток ОМЛ и исследование роли идентифицированных молекул в активации гомотипической межклеточной адгезии и формировании многоклеточных агрегатов.

В качестве объекта исследования использовали клетки ОМЛ человека формирующие многоклеточные агрегаты ТНР-1 и не формирующие многоклеточные агрегаты КГ-1. Идентификацию молекул межклеточной адгезии на представленных клетках проводили основываясь на данных проточной цитометрии с использованием панели антител к CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD50, CD54, CD102. Для изучения роли идентифицированных молекул межклеточной адгезии в формировании клетками ОМЛ многоклеточных агрегатов клетки ТНР-1 инкубировали с соответствующими ингибирующими антителами, индуцировали межклеточную адгезию с помощью форболового эфира и определяли количество формирующихся агрегатов по отношению к контрольным, не обработанным антителами клеткам.

Определение качественного состава молекул межклеточной адгезии представленных на поверхности клеток способных и не способных к формированию многоклеточных агрегатов показало, что на поверхности клеток способных к формированию многоклеточных агрегатов (ТНР-1) представлены молекулы межклеточной адгезии CD11a, CD11c, CD18, CD54. В свою очередь на поверхности клеток не способных к формированию многоклеточных агрегатов (КГ-1) представлены только CD11a и CD18.

Далее было показано, что применение ингибирующих антител к CD11a и CD18 снижало образование агрегатов клеток ТНР-1 до 51±6 %. Применение ингибирующих антител к CD54 снижало образование агрегатов до 25±4 % относительно контрольных значений. В свою очередь, применение ингибирующих антител к CD11c практически не оказывало действие на способность клеток ТНР-1 к агрегации.

Таким образом, в формировании многоклеточных агрегатов и, соответственно, в приобретении фенотипа лекарственной устойчивости клетками ОМЛ могут принимать участие молекулы межклеточной адгезии CD11a, CD18 и CD54.

Работа выполнена при финансовой поддержке стипендиального гранта Президента РФ (№СП-1519.2015.4) и при поддержке Правительства РФ (грант №14.Z50.31.0028).

## МЕТАЛЛ-ВОССТАНАВЛИВАЮЩИЕ, МЕТАЛЛ-СВЯЗЫВАЮЩИЕ И АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ФЛАВОНОИДОВ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ

Козина В.И.<sup>1,2</sup>, Шаталин Ю.В.<sup>1,2</sup>, Шубина В.С.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушино, Россия; <sup>2</sup> ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушино, Россия

*ernie.nike@yandex.ru*

Флавоноиды – это полифенольные соединения растительного происхождения, широко распространенные в природе и присутствующие в рационе питания человека и животных. Данные соединения проявляют широкий спектр биологической активности, включая противовоспалительную, антибактериальную и антиатеросклеротическую активности. Флавоноиды также оказывают антиоксидантное действие и могут быть отнесены к категории биологически значимых антиоксидантов. В основе их антиоксидантного действия может лежать несколько механизмов. В частности, соединения данного класса способны взаимодействовать с активными формами кислорода (АФК), что приводит к утилизации последних, а также хелатировать ионы переходных металлов, например ионы железа и меди.

Это, в свою очередь, может приводить к ингибированию реакции Фентона и, следовательно, ингибированию свободно-радикальных реакций. Тем не менее, существуют данные, согласно которым в определенных условиях флавоноиды способны оказывать прооксидантное действие, которое может быть связано с их металл-восстанавливающей способностью. Целью данного исследования являлось изучение металл-восстанавливающих, металл-связывающих и антиоксидантных свойств структурно близких флавоноидов и их производных. В частности, было установлено, что восстановление ионов железа протекает быстрее в присутствии катехина в концентрации 10 мкМ и выше по сравнению с кверцетином. В целом, способность исследованных флавоноидов восстанавливать ионы железа изменяется в ряду: катехин  $\geq$  кверцетин  $>$  таксифолин. В присутствии гесперетина и нарингенина концентрация восстановленных ионов железа была незначительной, что может быть связано с их железо-связывающей способностью, которая также исследовалась в рамках данной работы. Антиоксидантная активность соединений в модельной системе, содержащей люминол–пероксид водорода–пероксидазу хрена, изменялась следующим образом: кверцетин  $\geq$  катехин  $\geq$  таксифолин  $>$  гесперетин  $>$  нарингенин.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (№14-44-03622, №15-04-02377 и 16-34-01158 мол\_а).

### СТАРЫЙ ОПЫТ И НОВЫЕ НЕЙРОНЫ: ВЛИЯНИЕ ОБУЧЕНИЯ НА НЕЙРОГЕНЕЗ В ОБОНЯТЕЛЬНОЙ ЛУКОВИЦЕ МЫШИ

Кокорина А.А.<sup>1</sup>, Кудабеева М.С.<sup>2</sup>, Крутенкова Е.П.<sup>3</sup>, Широкова В.В.<sup>2</sup>, Китаева Е.С.<sup>2</sup>, Немирович-Данченко Н.М.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия; <sup>3</sup>ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Томский государственный университет, НИИ биологии и биофизики, Томск, Россия

*el-kaa@mail.ru*

В настоящее время известно, что в головном мозге взрослых млекопитающих происходит образование нервных клеток, и особенно интенсивно этот процесс идет в обонятельных луковицах, где за несколько месяцев может почти полностью обновиться клеточный состав. Однако как нейрогенез влияет на долговременную память, неясно: перенимают ли новые нейроны полученную ранее другими клетками информацию, или же встраивание нового нейрона ведет к «стиранию» памятного следа вследствие потери синаптических связей между старыми клетками?

В связи с этим была определена цель исследования: оценка влияния обучения различению сходных запахов на число новых нейронов, образовавшихся и включившихся в нейронную сеть после обучения.

Исследование проводили на 60 мышах линии C57BL/6, которых обучали различать по запаху две изоформы лимонена. Животные были разделены на 3 группы: группа «ассоциативное обучение», различение изоформ лимонена в которой было связано с положительным подкреплением, группа «перцептуальное обучение», где случайным образом каждая изоформа была то сопряжена, то не сопряжена с подкреплением, и контрольная группа животных, которым не предъявлялся лимонен.

Определение новых нейронов производили при помощи иммуногистохимического метода с использованием маркера новых нейронов – бромдезоксинуридина. Это синтетический нуклеозид, аналог тимидина. Он способен заменять тимидин в процессе репликации ДНК, встраиваясь в новую ДНК. Бромдезоксинуридин вводили животным в течение недели после окончания обучения. Также мы использовали нейрон-специфический маркер NeuN для детекции нейронов.

Анализ данных иммуногистохимического метода показал, что между контрольной группой и группой «ассоциативное обучение» нет значимых различий по плотности новых клеток, а в группе «перцептуальное обучение» значение этого параметра достоверно выше, чем в контрольной группе.

Таким образом, мы обнаружили влияние прошлого опыта животного на уровень нейрогенеза. Этот результат позволяет предположить, что новые нейроны могут принимать участие в хранении, консолидации или модификации ранее приобретённой информации. Возможно также, что увеличение числа новых нейронов после обучения служит для повышения когнитивных способностей животного. К последней интерпретации нас склоняет тот факт, что повышение нейрогенеза наблюдается только в группе «перцептуальное обучение», в которой каждая изоформа лимонена была то сопряжена, то не сопряжена с подкреплением. То, что животные из этой группы не нашли связь между запахом и подкреплением, могло послужить стимулом к повышению уровня нейрогенеза.

## **ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНОГО ТИАЗОЛИДИНОНА НА ПСИХОМОТОРНУЮ АКТИВНОСТЬ КРЫС В ТЕСТЕ ОТКРЫТОЕ ПОЛЕ**

**Колесникова Т.О., Хацко С.Л., Обыденнов К.Л., Моржерин Ю.Ю.**

ФГАОУ ВПО Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина,  
Екатеринбург, Россия

*hardscore@mail.ru, philimontani@yandex.ru*

Поиск новых химических веществ, обладающих фармакологической активностью, и их первичный скрининг – важная задача современной химии и фармакологии.

Цель настоящего исследования – изучение влияния вещества (Z)-2-((Z)-2-(2-(нефтален-1-иламино)-2-оксоэтилиден)-4-оксотиазолидин-5-илиден)-уксусная кислота на психомоторную активность крыс в тесте «открытое поле».

Эксперимент был проведен на 36 беспородных крысах-самцах весом 350-400 г. возрастом 6 месяцев. Животные содержались в соответствии с основными положениями ДИРЕКТИВЫ 2010/63/EU от 22 сентября 2010 года.

Исследования было проведено 3 серии испытаний по две группы животных в каждой. В первой серии опытной группе производилась внутрибрюшинная инъекция вещества в дозе 50 мг/кг, растворенного в фосфодитилхолине (ПАВ), контролем был физиологический раствор. В следующей серии опытная группа получала вещество в дозе 50 мг/кг, растворенное в олеиновой кислоте, контрольной группе вводилась олеиновая кислота. В третьей серии оценивалось влияние олеиновой кислоты в сравнении с интактными животными.

Установка «Открытое поле» серого цвета с отверстиями, сборки OpenScience. Время тестирования – 5 минут. Оценивается горизонтальная и вертикальная двигательная активность, исследовательское поведение, груминговое поведение, а также вегетативный баланс.

Анализ данных проводили с помощью программы Statistica 8.0. Нормальность распределения проверяли критерием Колмогорова-Смирнова. Сравнение опытной и контрольной групп проводили с использованием критерия Манна-Уитни ( $p < 0,05$ ).

### **Результаты.**

В ходе исследования было выявлено, что исследуемое вещество в действующей дозе 50 мг/кг значительно изменяет показатели горизонтальной и вертикальной двигательной активности животных в первой и второй серии экспериментов. Показатели исследовательской активности в опытной группе также значительно изменяются по сравнению с контрольной группой. В опытной группе у животных также наблюдается неустойчивость позы, шаткость походки, взъерошенность шерсти.

Также выявлено влияние олеиновой кислоты на поведение животных. Отмечено снижение показателей горизонтальной и вертикальной двигательной активности у животных, внутрибрюшинно получавших олеиновую кислоту.

На основании полученных экспериментальных данных можно сделать вывод, что исследуемое вещество в дозе 50 мг/кг оказывает угнетающий эффект на ЦНС, формируя неадекватный ответ животного при помещении его в новые условия. Таким образом, исследуемое вещество обладает психотропными свойствами и его применение в качестве лекарственного средства небезопасно.

## **ДЕПО-УПРАВЛЯЕМЫЙ ВХОД КАЛЬЦИЯ НАРУШЕН В КЛЕТКАХ НЕЙРОБЛАСТОМЫ МЫШИ (NEURO-2A), МОДЕЛИРУЮЩИХ БОЛЕЗНЬ ХАНТИНГТОНА**

**Колобкова Ю.А., Вигонт В.А.**

ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

*kolobkova\_yulia@mail.ru*

Фосфатидилинозитольный сигнальный путь является одним из наиболее распространенных сигнальных путей в клетке. При активации данного сигнального пути наблюдается выброс кальция из внутриклеточных депо в цитозоль через рецептор инозитолтрифосфата. Понижение концентрации кальция в депо приводит к активации депо-управляемого входа кальция в клетку через каналы плазматической мембраны. В последнее время все больше исследований высказываются в пользу того, что патогенез различных нейродегенеративных заболеваний, в том числе болезни Хантингтона (БХ), связан с нарушениями внутриклеточной кальциевой сигнализации.

Чтобы исследовать нарушение депо-управляемого кальциевого входа при БХ мы смоделировали БХ в клетках нейробластомы мыши (Neuro-2A) с помощью лентивируса, несущего конструктор для экспрессии 1-ого экзона мутантного белка хантингтина с полиглутаминовым трактом длиной 138 остатков глутамина (клетки Neuro-2A-138Q).

Регистрация депо-управляемых токов показала, что в клетках Neuro-2A-138Q депо-управляемый вход кальция существенно (в 2 раза) выше, чем в клетках, экспрессирующих хантингтин с длиной тракта 15 остатков глутамина Neuro-2A-15Q (что является нормой) и в интактных клетках Neuro-2A.

Чтобы исследовать роль белков-каналотормозов TRPC1 и Orai1 в поддержании депо-управляемого входа кальция, мы подавили их экспрессию в клетках Neuro-2A-138Q с помощью малых интерферирующих РНК и подтвердили эффективность супрессии с помощью иммуноблотов. В условиях супрессии данных белков депо-управляемый вход кальция снижался примерно на 70%. Последующие эксперименты на клетках Neuro-2A-138Q, в которых была подавлена экспрессия обоих белков TRPC1 и Orai1, выявили, что совместная супрессия TRPC1 и Orai1 не приводит к дополнительному снижению амплитуды депо-управляемых токов по сравнению с супрессией одного из белков.

Результаты проточной цитометрии продемонстрировали повышенную смертность клеток Neuro-2A-138Q по сравнению с Neuro-2A-15Q и интактными Neuro-2A. Время жизни клеток Neuro-2A-138Q увеличивалось при воздействии соединения EVP4593, для которого ранее было показано положительное влияние на моторику *Drosophila melanogaster*, моделирующих БХ.

Таким образом, белки TRPC1 и Orai1 могут рассматриваться в качестве потенциальных терапевтических мишеней при лечении БХ, а соединение EVP4593 – в качестве компонента лекарств, направленных на борьбу с БХ.

Работа поддержана грантами РНФ № 14-14-00720, РФФИ № 13-04-01078, программой МКБ и стипендией Президента РФ.

### **ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ПУРИНЕРГИЧЕСКИХ РЕЦЕПТОРОВ В МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА**

**Котова П.Д.**

ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

*polinakotova88@gmail.com*

Мезенхимные стромальные клетки (МСК) представляют собой недифференцированные мультипотентные клетки, популяция которых поддерживается за счет пролиферации, и которые способны дифференцироваться в клетки как минимум костной, хрящевой и жировой тканей. Несмотря на то, что в последние годы МСК активно исследуются, существующие представления об их рецепторных системах весьма ограничены. Ранее нами было показано, что до 50% клеток в популяции МСК способны генерировать  $Ca^{2+}$  ответы на АТР. В настоящей работе исследовалась функциональная экспрессия пуринергических рецепторов МСК.

МСК выделяли из жировой ткани человека, поддерживали в культуре и изучали с использованием микрофотометрии,  $Ca^{2+}$  зондов и агонистов пуринергических рецепторов.

$Ca^{2+}$  ответы на АТР могут генерироваться за счет P2X и P2Y рецепторов. P2X рецепторы являются АТР-активируемыми  $Ca^{2+}$ -проницаемыми катионными каналами, а P2Y рецепторы представляют собой GPCR-рецепторы. Оказалось, что МСК способны генерировать полноценные ответы на АТР в отсутствие внешнего  $Ca^{2+}$ , что указывает на основной вклад в  $Ca^{2+}$  ответ P2Y рецепторов. Этот вывод подтверждается также тем, что МСК отвечают и на другие природные агонисты пуринорецепторов, в то время как P2X рецепторы активируются исключительно АТР. P2Y пуринорецепторы характеризуются определенной специфичностью к природным агонистам, для человека установлено следующее соответствие между рецепторами нуклеотидов и их полными природными агонистами: P2Y<sub>1</sub> (ADP), P2Y<sub>2</sub> (АТР, UTP), P2Y<sub>4</sub> (UTP), P2Y<sub>6</sub> (UDP), P2Y<sub>11</sub> (АТР), P2Y<sub>12</sub> (ADP), P2Y<sub>13</sub> (ADP), P2Y<sub>14</sub> (UDP, UDP-glucose). Оказалось, что индивидуальные МСК генерировали  $Ca^{2+}$  ответы не на все использовавшиеся природные агонисты P2Y рецепторов (АТР, ADP, UTP, UDP). Так, из 125 АТР-чувствительных клеток к ADP были чувствительны 56, к UTP – 49, а на UDP отвечали только 3 клетки. Это свидетельствовало о том, что во многих пуринергических МСК функционируют ADP-рецепторы (P2Y<sub>1</sub> и/или P2Y<sub>12</sub> и/или P2Y<sub>13</sub>) и UTP-рецепторы (P2Y<sub>2</sub> и/или P2Y<sub>4</sub>), UDP же рецепторы (P2Y<sub>6</sub> и/или P2Y<sub>14</sub>) активны лишь в их незначительной субпопуляции.

Таким образом, в МСК функционируют множественные пуринергические рецепторы P2Y типа, причем каждая отдельная МСК может использовать различные их комбинации, для выявления которых необходимо использование специфических агонистов P2Y рецепторов.

Работа поддержана РФФИ № 16-34-00210.

### **ВЛИЯНИЕ ПЕРОКСИРЕДОКСИНА 6 И РОСТОВЫХ ФАКТОРОВ НА СКОРОСТЬ РЕГЕНЕРАЦИИ ЭПИТЕЛИЯ В ОТКРЫТЫХ РАНАХ**

**Кочкина А.В.<sup>1,2</sup>, Новоселов В.И.<sup>1</sup>, Музафаров Е.Н.<sup>2</sup>, Темнов А.А.<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Тульский государственный университет, Тула, Россия; <sup>3</sup>НИИ Скорой помощи имени Н.В. Склифосовского, Москва, Россия

*a-kochkina@rambler.ru*

В работе проводилось экспериментальное исследование по оценке эффективности влияния препаратов на основе пероксиредоксина 6 (Prx 6) и паракринных факторов мезенхимальных стволовых клеток (МСК) на заживление открытых ран, то есть заживающих вторичным натяжением.

Исследования были проведены на крысах. Моделирование раневого процесса кожи предусматривало иссечение полнослойного кожного лоскута до фасции в свободной от шерсти межлопаточной области наркотизированного животного.

Подопытных животных разделили на 4 группы в зависимости от исследуемого препарата: физиологический раствор; Ptx 6; целлюлозный гидрофильный гель, содержащий паракринные факторы МСК; гель, содержащий паракринные факторы МСК + Ptx 6.

Так, гистологическая и иммуногистохимическая картина ран животных с применением Ptx 6, выведенных на 3-и сутки эксперимента, свидетельствовала о начале фазы пролиферации, что говорит о том, что сократилось время фазы воспаления. Использование геля с паракринными факторами МСК для заживления ран вторичным натяжением также является эффективным. Раны животных, выведенных из эксперимента на 3-и сутки, заживали быстрее, чем в контрольных группах. Применение комплекса гель с паракринными факторами + Ptx 6 показало наилучшие результаты. Совместное применение препаратов приводит к сокращению клеточного апоптоза и активации процесса пролиферации, что было показано иммуногистохимически. На гистологических снимках ран животных, выведенных из эксперимента на 3-и сутки, также отмечалось сокращение фазы воспаления и активации фазы пролиферации.

Эффект применения препарата с Ptx 6 на 7, 14 и 28-е сутки, по сравнению с эффектом, который оказывает гель с паракринными факторами, выражен неярко, поскольку пик окислительного стресса приходится на первые сутки, однако по сравнению с контрольной группой эффект наблюдается. Применение геля с кондиционированной средой МСК оказывает значительное положительное воздействие, усиливая регенерационные процессы. При использовании комбинации двух препаратов картина восстановления была наилучшей. В первые сутки оказывалось подавление окислительного стресса пероксиредоксином 6, что оказывало критически важное влияние на дальнейшее восстановление раневого дефекта. Из вышеописанного следует, что комплекс из паракринных факторов и Ptx 6 позволяет значительно увеличить скорость регенерации при заживлении открытых ран.

#### **ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ РЕГУЛЯТОРНЫХ БЕЛКОВ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПОРЫ ПРИ СТАРЕНИИ**

**Крестинин Р.Р.<sup>1</sup>, Бабурина Ю.Л.<sup>2</sup>, Одиноква И.В.<sup>2</sup>, Азарашвили Т.С.<sup>2</sup>,  
Ломовский А.И.<sup>3</sup>, Крестинина О.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Москва Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушино, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО  
Тульский Государственный Университет, Тула, Россия

*rkrestinin@bk.ru*

Старение является биологическим процессом, который характеризуется общим и прогрессивным спадом физиологических функций. Известно, что митохондрии непосредственно участвуют в процессе старения. Окислительный стресс и ухудшение Ca<sup>2+</sup> гомеостаза считаются важными факторами в митохондриальной дисфункции, связанной со старением. При старении может происходить нарушение функций митохондрий посредством изменения параметров открытия неселективной митохондриальной поры, которая представляет собой мультибелковый комплекс, который формируется в контактных сайтах между митохондриальными мембранами. Мелатонин является гормоном, вырабатываемым шишковидной железой. Важнейшая функция мелатонина — антиоксидантная активность, проявляющаяся в организме повсеместно, так как мелатонин проникает во все органы и ткани.

TSPO – транслокаторный белок, являющийся предполагаемым компонентом мРТР, который отличается от физиологического высоким сродством рецепторов мелатонина. 2',3' – циклонуклеотид-3'-фосфодиэстераза (CNPaза) участвует в регуляции мРТР. И TSPO, и CNP локализируются с VDAC (регулятор мРТР) и способны модулировать его функцию (через лиганды в случае TSPO). Согласно проведенным экспериментам мелатонин улучшает функциональное состояние митохондрий мозга крыс и изменяет содержание TSPO, CNP и VDAC в митохондриях при старении. Так как мелатонин улучшает митохондриальную физиологию при старении, то он может представлять терапевтическую стратегию также для нейродегенеративных заболеваний, связанных со старением.

Работа поддержана грантом РФФИ №№14-04-00625, 16-04-00927, и мегагрантом Правительства Российской Федерации №14.Z50.0028.

## **ЭНДОТОКСИНЕМИЯ ВЫЗЫВАЕТ ИЗМЕНЕНИЕ СКОРОСТИ МЕТАБОЛИЗМА ДОФАМИНА В КЛЕТКАХ ЦНС**

**Крицкая Д.В.**

ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

*darya\_uladzimirawna@mail.ru*

Эндотоксин – естественный активатор иммунной системы, который поддерживает ее в состоянии готовности. Превышение порогового уровня токсина в организме способствует развитию симптомокомплекса защитных реакций, включающих лихорадку, тахикардию, гипотензию, и может привести к развитию таких осложнений как эндотоксинемический шок и острая полиорганная недостаточность. Поэтому высокие дозы эндотоксина (липополисахарид – ЛПС) могут рассматриваться как эндогенный стресс-фактор. Хроническая эндотоксинемия дестабилизирует гематоэнцефалический барьер; воспаление распространяется на различные отделы мозга, вызывая нейродегенерацию. Поскольку дофаминергические нейроны наиболее чувствительны к стрессу, целью данного исследования было определить уровень дофамина и его метаболитов в особо уязвимой структуре мозга – стриатуме.

Работа выполнена на 20 самцах крыс линии Вистар, которым вводили ЛПС однократно внутривентрикулярно в дозе 1 мг/кг. Через 1, 3 и 10 дней после инъекции животных декапитировали, извлекали стриатум, гиппокамп, гипоталамус и определяли в образцах уровень дофамина (ДА) и его метаболитов (3,4-дигидроксифенилуксусной кислоты (ДОФУК), гомованилиновой кислоты (ГВК)) по стандартной методике с использованием ВЭЖХ с электрохимическим детектором.

Оказалось, что в стриатуме уровень ДА повышался в 1,5 раза на 3 и 10 день, а уровень ДОФУК увеличивался в 1,5 раза только на 3 день, при этом отношение ДОФУК/ДА оставалось неизменным. В гиппокампе уровень ДА и ДОФУК не изменялся, однако, отношение ДОФУК/ДА в первый день повышалось в 2 раза, что свидетельствует об увеличении катаболизма ДА. При этом в гипоталамусе уровень ДОФУК и ГВК на 10 день был выше в сравнении с 1-м, 3-м днем после введения эндотоксина и контролем, в то время как уровень ДА и отношение ДОФУК/ДА не изменялись.

Таким образом, однократное введение эндотоксина изменяет метаболизм ДА не только в стриатуме, но и в других структурах мозга (гиппокампе и гипоталамусе).

Работа поддержана грантом РФФИ номер 14-04-00987.

## **МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СУСТАВНОГО ХРЯЩА В УСЛОВИЯХ СТРУКТУРНОЙ МОДИФИКАЦИИ СИНОВИАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ У КРЫС**

**Крылов П.А.**

ФГАОУ ВПО Волгоградский государственный университет, Волгоград, Россия

*p.krylov.volau@yandex.ru*

На сегодняшний день в регенеративной биологии и медицине широкое распространение приобретает биомиметический подход воздействия, в котором положительное воздействие используемых соединений основано на их натуральных биологических свойствах. Примером может служить улучшение лубрикативных свойств синовиальной жидкости при болезнях суставов за счет введения в суставную полость гиалуроновой кислоты, которая является основным естественным компонентом синовиальной жидкости. В данном исследовании внимание было уделено белкам легочного сурфактанта, которые выполняют аналогичную функцию в легких. В составе легочного сурфактанта содержатся 90% фосфолипидов и 10% белков. Известно, что сурфактант-ассоциированные белки в комплексе с фосфолипидами снижают силы поверхностного натяжения и трения.

Целью работы стало изучение влияния структурной модификации синовиальной жидкости на состояние зон суставного хряща в эксперименте у крыс.

Материалом для экспериментального исследования послужили 15 белых крыс линии Wistar массой 220-280 г. Экспериментальный остеоартроз вызывали путем введения суспензии стерильного талька в соотношении с физиологическим раствором 1:5 у 12 животных, контрольная группа состояла из 3-х животных. Через 3 недели после формирования остеоартроза 2-м группам по 3 животных вводили смесь сурфактант-ассоциированных белков, после чего выводили из эксперимента с интервалом 6 и 12 недель. Для выявления структурных и морфологических изменений суставного хряща использовали окрашивание гематоксилином и эозином по общепринятой методике, для выявления структуры экстрацеллюлярного матрикса – сафранином О. Для выявления синтетической активности хондроцитов применяли иммуногистохимические методики. Использовали козы моноклональные антитела к агрекану, как маркеру синтетических активных хондроцитов зон суставного хряща.

Полученные данные морфометрического анализа позволяют нам наблюдать увеличение плотности экстрацеллюлярного матрикса поверхностной зоны суставного хряща, это свидетельствует снижении



нагрузки (силы трения) на поверхностную зону, в связи с этим также происходит увеличение численной плотности хондроцитов и запускаются процессы дифференцировки и пролиферации клеток хондрального ряда.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют об эффективности белков легочного сурфактанта в улучшении лубрикативных свойств синовиальной жидкости, что, в свою очередь, оказывает положительное действие на поверхностную зону суставного хряща.

### **ВЛИЯНИЕ ВЫБОРА КОГНИТИВНОЙ СТРАТЕГИИ НА УСПЕШНОСТЬ ОБУЧЕНИЯ СТУДЕНТОВ**

**Кундупьян О.Л., Кундупьян Ю.Л., Бибов М.Ю.**

ФГАОУ ВО Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, Ростов-на-Дону, Россия

*olkundupyan@mail.ru*

Эффективность обучения студентов зависит от особенностей пространственной памяти и скорости переработки информации (Pagulayan et.all, 2006; Semmes et.all, 2011). Целью данной работы было оценить влияние уровня развития навыка решения вербальных и невербальных задач на качество выполнения самостоятельной работы студентами в курсе «Анатомия человека».

В исследовании принимали участие студенты Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, 30 практически здоровых обследуемых, средний возраст – 19 лет. Все обследуемые участвовали в двух экспериментальных сериях. В первой серии в качестве модели деятельности использовали вербальные и невербальные задачи, а во второй серии студенту предлагали выполнить задание из электронного учебного пособия (ЭУП) «Анатомия человека». Во время выполнения теста в первой серии регистрировали время реакции (ВР), ЭЭГ. Во второй серии анализировали бюджет времени, который тратил студент на решение ЭУП. Оцифрованная ЭЭГ и ВР экспортировались в программную среду MATLAB, где проводилась дальнейшая обработка сигналов.

Анализ качества решения ЭУП по «Анатомии человека» показал, что «успешные» студенты затрачивали на работу небольшое количество времени, кроме того у них было высокое качество распознавания слов и картинок. Спектральные характеристики ЭЭГ в группе «успешных» студентов показали, что преобладали фокусы максимальной выраженности (ФМВ) дельта- и тета-активности в передних областях коры при решении невербальных задач, и в задних областях коры при решении вербальных задач. «Неуспешная» группа много времени затрачивала на выполнение работы, но имела низкое качество решения как вербальных, так и невербальных задач. При решении вербальных и невербальных задач у людей с низкой эффективностью деятельности происходила активация передних и задних областей коры в диапазоне дельта-активности, что вероятно связано с подключением к процессу обработки зрительной информации передней и задней системы внимания (Aydarkin et.all, 2013).

Таким образом, успешное решение вербальных задач сопровождается активацией задней системы внимания, а невербальных задач – передней системой внимания. Несоблюдение этих стратегий приводит к ухудшению качества когнитивной деятельности.

### **ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКА КОЛОНИИ МШАНОК: АНАЛИЗ НА УРОВНЕ ПРОТЕОМА**

**Кутюмов В.А.<sup>1</sup>, Мальцева А.Л.<sup>1</sup>, Котенко О.Н.<sup>1</sup>, Островский А.Н.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>Университет Вены, Департамент Палеонтологии, Вена, Австрия

*vkutiumov@gmail.com*

Колонии мшанок (Bryozoa) – типичный пример модульной организации среди Metazoa. Колония растет путем увеличения количества составляющих ее однотипных повторяющихся элементов (зооидов), причем образование нового модуля завершается закладкой зачатка следующего, идентичного предыдущему. Такой тип морфогенеза, называемый циклическим, приводит к тому, что более зрелые модули лежат проксимальнее более молодых, а формирование новых модулей приурочено к наиболее дистальным частям колонии (т.н. зоне роста). Таким образом, можно говорить о функциональной дифференцировке колонии в соответствии с онтогенетическими различиями между разными генерациями модулей. Приуроченность процесса почкования к определенной зоне колонии может быть связана с существованием молекулярных детерминантов, индуцирующих или ингибирующих закладку новых модулей в разных участках колонии. В данной работе мы оценили уровень информативности протеомного подхода к изучению молекулярных механизмов морфофункциональной дифференцировки колоний мшанок.

В нашей работе был проведен анализ трех различающихся по форме колонии видов беломорских мшанок: *Flustrellidra hispida*, *Terminoflustra membranaceotruncata* и *Securiflustra securifrons*. С помощью двумерного разностного электрофореза 2D-DIGE было проведено сравнение протеомов трех функционально и морфологически отличающихся зон, сменяющих друг друга вдоль дисто-проксимальной оси колонии. Также была произведена попытка идентификации конкретных белков при помощи масс-спектрометрического анализа. Было установлено, что доля специфичных белковых сигналов различается у трех изучаемых видов. Наименьшее количество зонаспецифичных белков, выявленных у *F. hispida*, в целом коррелирует с довольно слабой выраженностью функциональных зон в колониях этого вида.

Подавляющее количество зонаспецифичных белков, обнаруженных заявленным методом, приурочено к базальной (наиболее проксимальной), краевой (наиболее дистальной) или средне-краевой зонам; при этом белков, специфичных строго для средней зоны, выявить не удалось. На основании этих данных был сделан вывод о существовании двух противонаправленных градиентов специфичных белков, дисто-проксимального и проксимо-дистального, отдельные компоненты которых могут быть вовлечены в детерминацию зональной специфичности, или в реализацию ее специфической функции.

Белковые факторы, связанные со спецификацией функциональных зон колонии, идентифицировать не удалось, что указывает на ограниченную информативность протеомного подхода к поставленной проблеме до реализации транскриптомных или геномных проектов на изучаемых видах.

### СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕТОДОВ ОЦЕНКИ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ АНТИРАБИЧЕСКИХ ВАКЦИН

Лаврик А.А.

Институт микробиологии и иммунологии им. И. И. Мечникова НАМН Украины, Харьков, Украина

*lavrik@biolik.com.ua*

При производстве и контроле инактивированных антирабических вакцин основным критерием оценки качества является контроль специфической активности вакцины, в настоящий момент, общепринятым методом контроля вакцин, является тест по определению иммуногенности — НИН-тест. Несмотря на свою универсальность, данный метод имеет ряд недостатков: многостадийность (3 этапа), длительность проведения (28-30 дней) и риски неспецифических реакций, связанных со стандартизацией качества опытных животных и условий их содержания. С учетом этих особенностей, НИН-тест не может использоваться в качестве экспресс-теста контроля на промежуточных этапах производства вакцин. Группой экспертов WHO были разработаны и модифицированы тесты связывания антител *in vitro* – АВТ (antibody-binding test) и МАВТ (modified antibody-binding test). Данные методы основаны на проведении реакции двойной нейтрализации антиген-антитело и антитело — вирус, после чего избытком вируса в реакции заражались животные — белые мыши (АВТ), либо первичная культура клеток фибробластов кур (МАВТ). Данные методы позволяют определить антигенность вакцин — количество специфического антигена в них.

Целью нашей работы являлась модификация метода МАВТ для оптимизации ее применения в современной лабораторной практике. Нами был внесен ряд изменений, в том числе использование в качестве чувствительного тест-объекта переиваемой культуры клеток ВНК-21 (клетки почки сирийского хомячка), что позволило упростить методику, сократить сроки ее выполнения и стандартизировать объект и условия проведения теста. Также исследовали возможности применения данной методики в качестве близкого аналога НИН-теста на промежуточных этапах разработки вакцин. Было произведено сравнительное изучение перечисленных методов в процессе разработки и производства опытных серий инактивированных культуральных антирабических вакцин, разрабатываемых ПАО «Фармстандарт-Биолек» (Харьков, Украина).

Удалось сравнить показатели иммуногенности, полученные с помощью НИН-test и модифицированного нами АВТ в течение года применения данных методик. Для сравнения значений титров антител, полученных с помощью данных методик, нами был вычислен коэффициент корреляции Пирсона, он составил 0,98, что свидетельствует о сильной функциональной связи между сравниваемыми группами

При сравнении измерений по методу Блэнда-Алтмана средняя разность между измерениями равна 0,15, что говорит об отсутствии систематического расхождения. Стандартное отклонение разностей составило 0,4, что невелико по сравнению с самими значениями, при этом, отсутствует зависимость разности измерений от величины иммуногенной активности. Таким образом, измерения, полученные обоими методами, хорошо согласуются друг с другом.

Таким образом, для изучения специфической активности антирабических вакцин, в качестве экспресс-теста на промежуточных этапах производства, мы рекомендуем использование АВТ в нашей модификации, который занимает значительно меньше времени, нежели НИН-тест и позволяет сократить время разработки вакцин.

## **МОТОРНАЯ АСИММЕТРИЯ И ВЕЛИЧИНА ЛАТЕНТНОГО ПЕРИОДА НАХОЖДЕНИЯ СКРЫТОЙ ПЛАТФОРМЫ ПРИ ПРОСТРАНСТВЕННОМ ОБУЧЕНИИ В ВОДНОМ ЛАБИРИНТЕ МОРРИСА У КРЫС ДВУХ ЛИНИЙ, РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ПО ПОРОГУ ВОЗБУДИМОСТИ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ**

**Левина А.С.**

ФГБУН Институт физиологии имени И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

*anna.avia@gmail.com*

Целью данной работы являлось сопоставление данных о моторной асимметрии и динамике пространственного обучения в условиях водного лабиринта Морриса у двух линий крыс с различной возбудимостью нервной системы.

Для опытов использовали крыс-самцов линий ВП (высокий порог возбудимости) и НП (низкий порог возбудимости), селективированных на основе популяции Wistar. Эксперименты по пространственному обучению в водном лабиринте (поиск скрытой под водой платформы) проводились в течение пяти дней по четыре попытки в день. В каждой попытке крыса стартовала в одной из четырёх равноудалённых от платформы точек на периферии бассейна, которые каждый день чередовались в псевдослучайном порядке. Регистрировали направление первого поворота животного после того, как оно оказывалось в воде, и латентный период нахождения скрытой платформы. Для статистической обработки данных применяли набор непараметрических критериев (использовали программное обеспечение Statgraphics PLUS 5.0).

По итогам эксперимента в каждой линии достоверно были выделены животные с различной направленностью и выраженностью моторной асимметрии, наблюдаемой по первым поворотам, – “левши”, “правши” и “амбидекстры”. При этом соотношения этих трёх типов асимметрии в двух линиях различались: в линии ВП доля “амбидекстров” оказалась достоверно выше, чем в линии НП; соотношение “левой” и “правшей” в каждой линии статистически не отличалось от соотношения 1:1.

При сравнении медиан величины латентного периода достижения платформы не было обнаружено непосредственных достоверных различий между линиями ВП и НП ни в варианте без учёта типов асимметрии, ни с учётом данного параметра (между крысами разных линий в пределах каждого из типов асимметрии). Также, не было обнаружено различий между крысами с разными типами асимметрии в пределах линии ВП, в то время как в линии НП было обнаружено достоверное различие на третий день эксперимента: значение латентного периода у “левой” оказалось достоверно выше, чем у “правшей”.

Таким образом, мы можем предположить вероятную роль уровня возбудимости нервной системы и генетических детерминант в выраженности моторной асимметрии у крыс. Для выяснения вопроса о влиянии вышеуказанных факторов на динамику и эффективность пространственного обучения животных мы планируем проанализировать помимо латентного периода другие параметры траекторий с помощью специализированного программного обеспечения.

## **ХАРАКТЕРИСТИКА КОНФИГУРАЦИИ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МИОКАРДА МОРСКИХ РЫБ**

**Борисова М.А., Леонидова С.В.**

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

*svetlana.leonidova@inbox.ru*

Электрическая активность сердца считается одним из ключевых факторов, устанавливающих пределы допустимых отклонений температуры для эктотермных позвоночных. Рыбы, обитающие в мелководных зонах северных морей, сталкиваются со значительными изменениями температуры воды в течение года, и перед ними также стоит проблема температурной акклиматизации сердца. Исследования биоэлектрической активности миокарда рыб до сих пор были сосредоточены на пресноводных видах, в отношении сердца морских рыб сведений крайне мало. Цель нашей работы зарегистрировать потенциалы действия (ПД) миокарда предсердия и желудочка четырёх видов морских рыб и сравнить полученные данные.

В работе были использованы особи четырех видов морских рыб наваги (*Eleginus navaga*), трески (*Gadus morhua marisalbi*), камбалы (*Platichthys flesus*) и трехиглой колюшки (*Gasterosteus aculeatus*). Рыбу обездвигивали, разрушая головной и спинной мозг. Извлеченное предсердие или желудочек промывали, затем фиксировали энтомологическими иглами в камере, перфузируемой оксигенируемым и термостатируемым стандартным раствором для перфузирования сердца морских рыб. Регистрировали ПД кардиомиоцитов предсердия и желудочка при температурах 8, 12 и 16°C, используя стандартную микроэлектродную технику.

ПД миокарда предсердий всех четырех видов рыб имеют сходную конфигурацию, несмотря на радикальные различия в размерах тела, что может быть связано с тем, что ЧСС рыб изменяется в узких

пределах, а изменение сердечного выброса происходит благодаря регуляции ударного объема. ПД кардиомиоцитов желудочков же имеют различную конфигурацию (форму и длительность), что можно объяснить различиями в выраженности определяющих фазу реполяризации ПД калиевых токов  $I_{K1}$  и  $I_{Kr}$ . Температура оказывает сильное влияние на длительность ПД: снижение температуры приводит к увеличению длительности ПД. Наибольшее увеличение длительности ПД предсердного и желудочкового миокарда при температуре 8°C отмечено у трески. Это может быть связано с образом жизни: треска – это придонная рыба и температурный диапазон, в котором треска активна, составляет 2-10°C, следовательно, она приспособлена к жизни в водах низкой температуры. Интересно, что только ПД кардиомиоцитов желудочка колюшки имеет выраженную фазу быстрой реполяризации, отсутствовавшую у других видов.

Таким образом, ПД кардиомиоцитов предсердий всех четырех видов рыб имеют сходную конфигурацию. При этом ПД желудочковых кардиомиоцитов имеют различную конфигурацию. Увеличение температуры перфузируемого раствора приводит к уменьшению длительности ПД в кардиомиоцитах как предсердия, так и желудочка.

### **АУТОРЕГУЛЯЦИЯ СЕКРЕЦИИ МЕДИАТОРА В НОВООБРАЗУЕМЫХ МОТОРНЫХ СИНАПСАХ МЫШЦ С УЧАСТИЕМ ХОЛИНА**

**Леонов В.А., Богачева П.О.**

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

*l-j-l@mail.ru*

Исследования нервно-мышечных синапсов на стадии их формирования представляют интерес для понимания механизмов синаптической пластичности. Данное исследование было нацелено на выявление и оценку роли и возможного участия пресинаптических альфа7-никотиновых холинорецепторов ( $\alpha 7$ -нХР) в регуляции выброса ацетилхолина (АХ) в синапсах скелетной мышцы голени мыши на ранних стадиях их формирования в ходе реиннервации мышцы.

В работе исследовали нервно-мышечную передачу в моторных синапсах *m.EDL* мышцы на 11 сутки после пережатия малоберцового нерва. С помощью микроэлектродов регистрировали потенциалы концевой пластинки (ПКП) по ходу ритмических залпов (50 Гц), состоящих из 50 ПКП, и сопоставляли амплитуду и квантовый состав ПКП в интактных и новообразуемых синапсах на фоне аппликации блокаторов и активаторов  $\alpha 7$ -нХР.

В регенерирующих нервно-мышечных синапсах мышцы впервые была обнаружена способность антагониста  $\alpha 7$ -нХР метилликаконитина (20 нМ) вызывать усиление выброса АХ в ответ на ритмическое раздражение нерва, что выражалось в приросте квантового состава ПКП на 25%; в зрелых синапсах потенцирующее действие метилликаконитина было обнаружено только при более интенсивной и продолжительной залповой активности. Это позволяет думать о наличии в регенерирующих синапсах более выраженного тормозного ауторегуляторного действия эндогенного АХ на экзоцитоз везикул с участием  $\alpha 7$ -нХР. Возможно, это результат усиленного накопления и действия эндогенного АХ на нервные терминалы, вследствие ослабленной активности ацетилхолинэстеразы и наличия множественной полисинаптической иннервации волокон на этой стадии формирования синапсов. Неожиданно, аппликация агониста  $\alpha 7$ -нХР – холина (100 мкМ) – также вызвала прирост вызванного выброса АХ, сопоставимый с действием метилликаконитина. Сделано предположение, что холин, в добавление к выраженному действию эндогенного АХ/холина на  $\alpha 7$ -нХР, может вызывать характерную для этих рецепторов быструю десенситизацию, что и приводит к «выключению»  $\alpha 7$ -нХР. Тем самым, в присутствии холина может предотвращаться тормозное действие эндогенного АХ на  $\alpha 7$ -нХР, что выглядит как облегчение передачи в присутствии холина. В пользу этого свидетельствует обнаруженная нами потеря холином облегчающего действия на квантовый состав ПКП на фоне предварительного блокирования  $\alpha 7$ -нХР метилликаконитином.

Таким образом, впервые были получены свидетельства того, что и в регенерирующих моторных синапсах присутствует ауторегуляторное торможение выброса АХ с участием эндогенного АХ через пресинаптические  $\alpha 7$ -нХР, причем более выраженное, чем в зрелых.

### **ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ООЦИТАХ КОРОВ ПРИ ИХ КУЛЬТИВИРОВАНИИ IN VITRO**

**Лопухов А.В., Сингина Г.Н.**

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства имени академика Л.К. Эрнста, Подольск, Россия

*vubi\_myaso@mail.ru*

Пролонгирование культивирования созревшей яйцеклетки вследствие ее поздней активации во время процедуры переноса ядер соматических клеток, вероятно, сопровождается комплексом внутриклеточных процессов, которые называют «старением ооцита». Однако этот аспект снижения качества яйцеклеток до сих пор не учитывался при разработке научных подходов к модификации систем

культивирования ооцитов – источников цитопластов *in vitro*. В представленной работе были исследованы морфофункциональные изменения, а также способность к эмбриональному развитию после партеногенетической активации яйцеклеток в зависимости от условий их созревания и последующего старения *in vitro*. С этой целью изолированные и окруженные кумулюсом ооциты коров в одном случае культивировали в течение 28 часов в среде созревания (с ФСГ и ЛГ), во втором – первые 16 ч в присутствии гонадотропных гормонов и оставшиеся 12 ч в свежей среде без гормонов. После инкубации оценивали долю созревания (процент ооцитов, содержащих первое полярное тельце (ППТ)), миграцию ППТ и компетенцию к развитию до стадии бластоцисты после партеногенетической активации. Анализ данных показал, что доля созревания ооцитов варьировала от 65,3 до 69,4% и не зависела от условий культивирования и удаления клеток кумулюса. С другой стороны, через 28 часов непрерывного (без смены среды) культивирования ОКК в них наблюдалась существенная миграция ППТ. Доля ооцитов с локализацией ППТ рядом с метафазной пластинкой (0-20 град), а также с отклонением на 20-40 и более 40 градусов составляла  $25,5 \pm 2,8$ ,  $36,5 \pm 3,1$  и  $38,0 \pm 4,8\%$  соответственно, что свидетельствовало о возрастных изменениях в ооцитах в процессе их культивирования *in vitro*. Перенос ОКК через 16 часов созревания в среду без гормонов, а также удаление клеток кумулюса не влияло на данные возрастные изменения. Эксперименты не выявили действия условий культивирования ОКК на долю дробления ооцитов после их искусственной активации. Удаление соматических клеток перед переносом ооцитов в среду без гормонов приводило к повышению данного показателя с 62,2 до 81,6 % ( $p < 0,05$ ). С другой стороны, условия культивирования влияли на компетенцию к партеногенетическому развитию ооцитов, окруженных клетками кумулюса. Доля развития бластоцист ( $12,5 \pm 1,6\%$ ) была выше в случае переноса ОКК в среду без гормонов ( $p < 0,05$ ). Сделано предположение, что исключение гонадотропных гормонов, по крайней мере, через 16 ч созревания ОКК повышает качество зрелых стареющих *in vitro* ооцитов коров. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 15-08-99473).

#### **ЭФФЕКТЫ БЛОКАДЫ КАЛЬЦИНЕВРИНА НА ПРОЦЕССЫ ЭКЗОЦИТОЗА И ЭНДОЦИТОЗА СИНАПТИЧЕСКИХ ВЕЗИКУЛ В ДВИГАТЕЛЬНЫХ НЕРВНЫХ ОКОНЧАНИЯХ МЫШИ**

**Мавльева А.Ф.**

ГБОУ ВПО Казанский государственный медицинский университет Минздрава РФ, Казань, Россия

*a.mavlieva@mail.ru*

Известно, что кальциневрин, кальмодулин-зависимая фосфатаза, активируемая увеличением внутриклеточной концентрации ионов Са, оказывает значительное влияние на процессы рециклирования синаптических везикул. Однако накопленные в литературе сведения о роли данного фермента в процессах экзоцитоза, эндоцитоза и транспорта синаптических везикул оказались противоречивыми. В экспериментах на двигательных нервных окончаниях диафрагмы мыши при использовании флуоресцентной конфокальной микроскопии исследовались процессы экзоцитоза и эндоцитоза синаптических везикул в условиях использования блокатора кальциневрина циклоспорина А (10 мкМ). Обнаружено, что высокочастотное раздражение (50 имп/с) продолжительностью 1 мин в присутствии FM 1-43 (5 мкМ) при действии циклоспорина А приводило к более сильному, чем в контроле, захвату красителя процессами эндоцитоза синаптических везикул и увеличению интенсивности свечения нервных окончаний. Однако высокочастотное раздражение предварительно окрашенных FM 1-43 контрольных препаратов в стандартном растворе и при действии циклоспорина А приводило к выбросу красителя процессами экзоцитоза и падению свечения нервных окончаний примерно до одного уровня. Сделано заключение об особенностях рециклирования синаптических везикул в двигательных нервных окончаниях мыши в условиях блокады кальциневрина.

#### **КЛЕТОЧНАЯ МОДЕЛЬ ТРАНСЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО ТРАНСПОРТА МОЛЕКУЛ СЫВОРОТКИ КРОВИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЭНДОТЕЛИОЦИТОВ ЛИНИИ EA.HY926**

**Мальцева О.Н., Таянский Д.А.**

ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

*movolya@mail.ru*

Важной функцией эндотелия является регулирование транспорта жидкости и растворенных веществ через полупроницаемый сосудистый эндотелиальный барьер. Медиаторы воспаления индуцируют "протечку" в сосудах, путем повышения проницаемости эндотелия по отношению к белкам плазмы и другим молекулам. При атерогенезе происходит усиление транспорта липопротеинов из плазмы крови в интиму артерий. На данный момент трансэндотелиальный транспорт изучен слабо. Целью работы было изучение трансэндотелиального транспорта при воздействии медиаторов воспаления в культуре клеток эндотелия *in vitro*.

Методика. Эндотелиальные клетки человека линии EA.hy926 культивировали в среде DMEM в трансвеллах (BD Falcon, № 353104), покрытых коллагеном I типа до образования конфлюэнтного монослоя.

Конфлюентность монослоя оценивали микроскопически и с использованием ФИТЦ-декстрана (70кДа). В верхнюю камеру системы добавляли среду DMEM с содержанием белков плазмы крови и липопротеинов. Инкубацию проводили в течение 24 часов с отбором проб из верхней и нижней камер в определённые промежутки времени. Пробы анализировали с помощью биохимических методов и иммуноферментного анализа. Захват клетками макромолекул оценивали при помощи конфокального микроскопа (на базе центра коллективного пользования "Конфокальная микроскопия" Института физиологии им. И.П.Павлова РАН).

Результаты. В нижней камере обнаруживались белковые молекулы, такие как апо В, апо А-1, альбумин, концентрация которых нарастала со временем (в пределах от 1 до 24 часов). В системе без эндотелиального монослоя (контроль) трансэндотелиальный транспорт был более стремительным и быстро обеспечивал равновесие концентраций в нижней и верхней камерах. При добавлении в верхнюю камеру медиаторов воспаления отмечалось изменение скорости трансэндотелиального транспорта. В присутствии ингибиторов трансцеллюлярного транспорта, перенос белков снижался. По данным морфологического исследования, спустя 1 час клетки интенсивно захватывали меченые альбумин и ЛПНП. Захват усиливался во времени и подавлялся хлорпромазином (ингибитором транспорта).

Данная модель позволяет оценивать влияние различных медиаторов воспаления на трансэндотелиальный транспорт белков и липопротеинов.

### **ОСОБЕННОСТИ ФИЗИОЛОГИИ МАЛОГО КРУГА КРОВООБРАЩЕНИЯ У БЕЛЫХ КРЫС**

**Мамбетпаева Б.С., Бекбаев А.Ж.**

АО Медицинский университет Астана, Астана, Казахстан

*bekbaev.a@amu.kz*

При заборе крови для исследований, как экспериментального, так и клинического характера, необходимо принимать во внимание функциональную специализацию клеток различных тканей и органов, основанную на особенностях их метаболизма, и, следовательно, различной способности клеток к продукции или утилизации биохимических продуктов.

Нами изучалось предположение о существовании перепада многих биохимических показателей между «входом» и «выходом» кровотока. Было проведено сравнительное исследование некоторых биохимических показателей артериальной и венозной крови в малом круге кровообращения у 14 белых беспородных интактных крыс обоего пола массой 180-250 г. Забор крови осуществляли из правого желудочка («вход» в систему лёгочных артерий, венозная кровь) и из левого желудочка («выход» из системы лёгочных вен, артериальная кровь). В сыворотке крови определяли концентрацию общего холестерина, глюкозы, триглицеридов, в плазме крови – концентрацию общего белка.

Обнаружены отчетливые статистически достоверные различия биохимических показателей венозной («на входе») и артериальной крови («на выходе») в малом круге кровообращения экспериментальных животных.

Обнаруженный у интактных животных градиент биохимических показателей крови между «входом» и «выходом» из малого круга кровообращения, на наш взгляд, является отражением нормального функционирования клеточных и тканевых составляющих, прежде всего, паренхимы и стромы органов дыхания. Сурфактантный комплекс представляет собой эмульсию фосфолипидов, белков и холестерина, поэтому можно предполагать, что уменьшение содержания в крови холестерина и общего белка отчасти можно объяснить возможностью утилизации этих веществ легочной паренхимой при регенерации сурфактантного комплекса в респираторном отделе. Уменьшение содержания холестерина и общего белка в крови при прохождении малого круга кровообращения может быть также объяснено затратами на процессы физиологической клеточной регенерации в органах дыхания. Существенное увеличение уровня глюкозы в крови на «выходе» из малого круга кровообращения может свидетельствовать об интенсивности процессов глюконеогенеза в тканях лёгких.

Таким образом, установленный феномен физиологического градиента некоторых биохимических показателей крови на «входе» и «выходе» из малого круга кровообращения представляет собой значительный интерес в выяснении закономерностей гомеостаза и гуморальной регуляции функционирования системы органов дыхания.

### **ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ГОРМОНОВ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ У НАСЕЛЕНИЯ ГОРОДА СТЕРЛИТАМАК**

**Маркина В.О.<sup>1</sup>, Гильванова Э.Р.<sup>2</sup>, Курамшина З.М.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Башкирский государственный университет, Стерлитамакский филиал, Стерлитамак, Россия;

<sup>2</sup>ГБУЗ РБ Городская поликлиника № 1, г. Стерлитамак, Россия

*vichka\_markina\_93@mail.ru*

Щитовидная железа – один из главных органов эндокринной системы. Она выделяет в кровотоки несколько гормонов. Известно, что более половины территорий Российской Федерации относятся к

йоддефицитным регионам (по содержанию йода в воде и почве). С различной степенью выраженности йодного обеспечения г. Стерлитамак является одним из таких. На сегодняшний день описано несколько десятков заболеваний щитовидной железы. Следует также указать, что проблемы, связанные с нарушением работы щитовидной железы, могут встречаться во всех возрастных группах. Большинство заболеваний щитовидной железы оказывает отрицательное влияние на здоровье человека.

Целью исследования явилось изучение тиреотропного и тиреоидных гормонов у жителей города Стерлитамак при различных заболеваниях щитовидной железы.

Объектом исследования для оценки показателей заболеваемости щитовидной железы у жителей г. Стерлитамак была подобрана группа мужчин и женщин в возрасте от 22 до 85 лет.

Определение концентрации гормонов в сыворотке крови пациентов проводилось иммуноферментным методом. В результате проведенных экспериментов было выявлено, что уровень заболеваемости в г. Стерлитамак гипотиреозом и гипертиреозом среди женщин составляет 35,2 и 9,2%, соответственно; среди мужчин – 34,4 и 7,8%. Было выявлено, что количество пациентов, поставленных на учет в эндокринологии по заболеваниям щитовидной железы за последние пять лет возросло. К группе риска, по обоим видам заболеваний щитовидной железы, относятся люди в возрасте от 52 до 71 года. Женщины в 1,05 раза больше подвержены заболеваниям щитовидной железы – гипотиреозу и тиреотоксикозу, чем мужчины. Выявлено, что при заболеваниях щитовидной железы в первую очередь изменялся уровень тиреотропного и тиреоидных гормонов. При гипотиреозе наблюдалось повышение уровня ТТГ и понижение уровня свободного Т<sub>4</sub> в плазме крови. При гипертиреозе наблюдалось понижение уровня ТТГ и повышение уровня свободного Т<sub>4</sub> по отношению к норме. Уровень тиреотропного гормона при гипотиреозе находился у женщин в интервале от 31,33 до 4,01 мМЕ/л, а при гипертиреозе от 0,38 до 0,005 мМЕ/л.; у мужчин при гипотиреозе от 17,76 до 4,17 мМЕ/л, а при гипертиреозе от 0,11 до 0,05 мМЕ/л. Уровень свободного тироксина при гипотиреозе у женщин находился в интервале от 10,23 до 2,24 пмоль/л, при гипертиреозе от 68,33 до 24,89 пмоль/л; у мужчин – при гипотиреозе находится в интервале от 10,36 до 5,7 пмоль/л, а при гипертиреозе от 37,45 до 24,7 пмоль/л.

## МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА МОРФОЛОГИИ МИКРОГЛИИ

**Мартьянова Е.К.<sup>1,2</sup>, Тишкина А.О.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГАОУ ВПО Московский физико-технический институт (государственный университет), Москва, Россия

*martyanova.katerina@gmail.com*

Нейровоспаление представляет собой важный патогенетический фактор заболеваний центральной нервной системы, включая неврологические и психические расстройства. На клеточном уровне ключевым участником нейровоспаления являются клетки микроглии.

При нейровоспалении микроглиальные клетки активируются, при этом принято выделять несколько стадий. Активация микроглии начинается с небольших изменений в отростках: в их утолщении, втягивании и уменьшении числа. На последних стадиях клетки приобретают амебоподобную форму, и активируется процесс пролиферации. Традиционные методы анализа нейровоспаления, такие как подсчет числа клеток и измерение размера сомы, не позволяют зафиксировать первые стадии активации микроглии. Поэтому целью данной работы является разработка метода количественного анализа морфологии микроглии на различных стадиях активации. В данной работе исследовали нейровоспаление, вызванное черепно-мозговой травмой (ЧМТ). Использовали крыс самцов линии Вистар и жидкостно-перкуSSIONную модель ЧМТ. Через неделю после травмы крыс декапитировали и фиксировали мозг. Затем фронтальные срезы мозга иммуногистохимически окрашивали на маркер микроглиальных клеток (Iba-1), окрашивание выявляли с помощью вторичных антител, конъюгированных с флуоресцентной меткой (AlexaFluo). Для 3D реконструкций микроглиальных клеток проводили Z-стек съемку на флуоресцентном микроскопе (ZEISS AxioImager.2) с применением структурированного освещения (ApoTome.2). После предварительной цифровой обработки изображений, полученных с микроскопа, производили 3D реконструкцию клеток с помощью программного обеспечения Fiji (NIH, USA). Для каждой реконструированной клетки были рассчитаны несколько параметров, описывающих морфологию, в том числе такие, как фрактальная размерность (FracLac, A Karperien, Charles Sturt University, Australia), форм-фактор и параметры, описывающие разветвленность клеток (Sholl\_Analysis, T Ferreira, T Maddock).

По значениям фрактальной размерности и результатам анализа Шолля можно однозначно судить о разветвленности микроглиальных клеток, а значит и о степени их активации. Следовательно, описанный метод может быть применен для оценки нейровоспалительного статуса мозга животных в норме и при патологии.

Поддержано грантами РФФИ № 16-04-00855А и 15-34-21047-мол\_a\_вед.

## СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ, РЕГУЛИРУЮЩИЕ СИНТЕЗ БЕЛКА В *m.SOLEUS* КРЫСЫ НА РАЗНЫХ СРОКАХ РЕАДАПТАЦИИ ПОСЛЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РАЗГРУЗКИ

Мирзоев Т.М., Тыганов С.А., Петрова И.О.

ФГБУН ГНЦ РФ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

*tmirzoev@yandex.ru*

Восстановление массы и функциональных способностей постуральных мышц млекопитающих после атрофии, вызванной длительным бездействием мышц вследствие невесомости или вынужденной иммобилизации, остаётся актуальным вопросом в области гравитационной физиологии и реабилитационной медицины. Цель настоящей работы состояла в оценке динамики синтеза белка и анализе сигнальных механизмов регуляции трансляции в камбаловидной мышце (*m. soleus*) крыс в течение периода восстановления (реадаптации) после функциональной разгрузки (антиортостатического вывешивания). В эксперименте использовались самцы крыс Вистар массой 190-210 г, которые были случайным образом разделены на следующие группы: 1) «Контроль» (n=7), 2) «14HS» (n=7) – 14-суточное антиортостатическое вывешивание, 3) «1R» (n=7) – 1-суточное восстановление после вывешивания, 4) «3R» (n=7) – 3-суточное восстановление после вывешивания, 5) «7R» – 7-суточное восстановление после вывешивания, 6) «14R» – группа 14-суточного восстановления. Все процедуры с животными были одобрены комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ – ИМБП РАН. Содержание ключевых анаболических маркеров определяли методом гель-электрофореза с последующим иммуноблоттингом. Интенсивность синтеза белка в *m. soleus* оценивалась с помощью метода пурамицинового мечения – SUnSET. Повышенная интенсивность синтеза белка в *m. soleus* наблюдалось после одних и трёх суток восстановления относительно контроля ( $p < 0,05$ ). Также увеличение синтеза белка было отмечено после семи суток реадаптации относительно группы вывешивания ( $p < 0,05$ ). Было обнаружено увеличение уровня фосфорилирования рибосомальной киназы p70 (p70s6k) и белка, связывающего фактор инициации 4E (4E-BP1) после 3-суточной реадаптации и снижение после 7 суток восстановления относительно контроля ( $p < 0,05$ ). Кроме того, на 3 сутки реадаптации содержание фосфорилированной киназы гликогенсинтазы (GSK-3 $\beta$ ) было повышено по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ). Содержание фактора инициации трансляции 2B (eIF2B- $\epsilon$ ) оказалось достоверно выше через 3 суток реадаптации относительно контроля ( $p < 0,05$ ), при этом содержание фосфо-eIF2B- $\epsilon$  было достоверно повышено после 24-х часов реадаптации по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ). На основе полученных результатов можно сделать вывод о том, что в активации синтеза белка в *m. soleus* крысы в течение периода реадаптации после атрофии задействованы такие сигнальные пути, как Akt/GSK-3 $\beta$  и mTORC1/p70s6k. Исследование было поддержано грантом РФФИ № 16-34-00530.

## CA<sup>2+</sup> АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК СА3 ПОЛЯ СРЕЗОВ ГИППОКАМПА КРЫС ПОЗДНЕГО (P21-25) НЕОНАТАЛЬНОГО ПЕРИОДА ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ВОЗБУЖДАЮЩИХ НЕЙРОТРАНСМИТТЕРОВ (АТФ, L- ГЛУТАМАТ)

Митаева Я.И.<sup>1</sup>, Можеров А.М.<sup>1</sup>, Мухина И.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Нижегородский государственный университет имени Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия; <sup>2</sup>ГБОУ ВПО Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава РФ, Нижний Новгород, Россия

*yasya13@mail.ru*

В данной работе с использованием конфокальной микроскопии были исследованы спонтанные и вызванные изменения внутриклеточного кальция ( $[Ca^{2+}]_i$ ) в нейронах и астроцитах СА3 поля переживающих срезов гиппокампа крыс позднего (P21-25) неонатального периода постнатального онтогенеза.

Увеличение частоты спонтанных  $[Ca^{2+}]_i$  сигналов в нейронах связано с активацией и ускорением метаболических процессов в клетках и повышением выброса в синаптическую щель нейротрансмиттеров, стимулирующих появление спонтанных изменений  $[Ca^{2+}]_i$  в нейронах. Среди веществ, способных вызвать временное изменение  $[Ca^{2+}]_i$ , наиболее изученными являются глутамат и АТФ. В состоянии покоя животного, в гиппокампе уровень внеклеточного глутамата колеблется от 1 до 2 мкМ, а уровень АТФ составляет 100 нМ. А концентрация данных веществ в 20 мкМ считается полумаксимальной эффективной концентрацией и может наблюдаться при повышенной активности мозга, например, во время исследовательского поведения животного. Чтобы избежать возможности распространения потенциалов вдоль мембраны, в перфузионный раствор добавлялся блокатор Na<sup>+</sup> каналов тетродотоксин (ТТХ) в концентрации 1 мкМ, при этом частота и длительность  $[Ca^{2+}]_i$  сигналов не изменялись. Полученные результаты позволяли нам предположить, что получаемые данные отображали процессы, происходящие в отдельной наблюдаемой клетке.

Было показано, что при добавлении в перфузионный раствор агониста P2.- рецепторов АТФ (20 мкМ), происходит увеличение количества Ca<sup>2+</sup> осцилляций в клетках поля СА3 гиппокампа крыс: в



пирамидных нейронах на 100%, в интернейронах на 85%, в астроцитах в 2 раза. А при добавлении в перфузионный раствор агониста рецепторов глутамата – L-глутамата (20 мкМ) было зарегистрировано увеличение количества  $Ca^{2+}$  осцилляций в клетках поля СА3 гиппокампа крыс: в пирамидных нейронах на 71%, в интернейронах на 42%, в астроцитах на 100%. Проведенное исследование позволило оценить зависимость  $Ca^{2+}$  активности клеток поля СА3 гиппокампа крыс позднего (P21-25) неонатального периода постнатального онтогенеза от метаболического состояния клеток, связанного с повышением выброса в синаптическую щель нейротрансмиттеров. Кроме того, было показано, что в условиях зрелой сети, когда спонтанная  $Ca^{2+}$  активность клеток низка при условии сохранения проведения возбуждения по нейронной сети добавление возбуждающих нейротрансмиттеров вызывало строгую синхронизацию активности клеток. Работа поддержана стипендией Президента РФ (СП-1531.2015.4).

### **ОБМЕН ВЕЩЕСТВ И ТИРЕОИДНЫЙ ПРОФИЛЬ У КОРОВ С ГИПОФУНКЦИЕЙ ЯИЧНИКОВ В ПЕРВЫЙ ТРИМЕСТР ЛАКТАЦИИ**

**Митяшова О.С., Соломахин А.А., Смекалова А.А., Лебедева И.Ю.**

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства имени Л.К. Эрнста,  
Дубровицы, Россия

*mityashova\_o@mail.ru*

Фертильность самок млекопитающих в высокой степени зависит от состояния метаболической системы, в первую очередь, от уровня энергетического баланса. Тиреоидные гормоны способны влиять на женскую репродуктивную функцию путем модуляции интенсивности и направленности обменных процессов. Как известно, в послеродовой период высокопродуктивные молочные коровы находятся в состоянии метаболического стресса, который может усиливаться или ослабляться при воздействии гормонов щитовидной железы. Поэтому нами была исследована взаимосвязь между показателями липидного, белкового и минерального обмена, уровнями тиреоидных гормонов в крови и активностью яичников у коров (*Bos taurus taurus*) на 45-90-й день лактации. Диагностику функционального состояния яичников проводили методом ректального исследования и с помощью УЗИ сканера. Признаками гипофункции яичников (ГФЯ) служили отсутствие половых циклов, уменьшение яичников в размерах и отсутствие фолликулов более 8 мм (умеренная ГФЯ) или 3-4 мм (глубокая ГФЯ), а также желтых тел на обоих яичниках. Биохимические показатели крови определяли на биохимическом анализаторе, содержание гормонов в сыворотке крови анализировали методом ИФА. В первый триместр лактации содержание общего холестерина и фосфолипидов в крови коров с обеими формами ГФЯ было в 1,2-1,3 раза ниже ( $p < 0,05$ ), чем в крови коров с нормальными половыми циклами. Однако только у животных с глубокой ГФЯ была выявлена повышенная концентрация триглицеридов ( $0,37 \pm 0,07$  против  $0,26 \pm 0,02$  ммоль/л,  $p < 0,05$ ) и пониженная концентрация магния ( $0,76 \pm 0,05$  против  $1,06 \pm 0,08$  ммоль/л,  $p < 0,05$ ) в крови по сравнению с циклирующими животными. При этом сывороточные уровни тиреоидных гормонов (общих и свободных) были сходными во всех сравниваемых группах. В целом, у коров концентрация триглицеридов в крови была положительно связана с концентрацией свободного трийодтиронина ( $p < 0,05$ ). В то же время, в группе животных с умеренной ГФЯ содержание триглицеридов в крови негативно коррелировало ( $p < 0,05$ ) с содержанием общего тироксина, а в крови циклирующих животных наблюдалась позитивная взаимосвязь между содержанием фосфолипидов и общего трийодтиронина ( $p < 0,05$ ). Таким образом, в первый триместр лактации метаболическое состояние коров с гипофункцией яичников характеризуется модифицированным липидным и магниевым обменом, что может быть опосредованно связано с состоянием тиреоидной системы животных. Работа выполнена при финансовой поддержке ФАНО (тема 19. № 0600-2014-0014.13) и РФФИ (проект 16-34-00875).

### **ГИСТОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ОБРАЗЦОВ ПЕЧЕНИ КРЫС В НОРМЕ И ПРИ АЛЛОКСАНОВОМ ДИАБЕТЕ**

**Моисеенко А.В., Линов А.В., Матвиенко Н.В., Картавцева Л.С., Селиванова Н.В.,  
Полякова-Семёнова Н.Д., Епринцев А.Т.**

ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

*moisah@mail.ru*

Сахарный диабет – хроническое заболевание, обусловленное абсолютной или относительной инсулиновой недостаточностью, приводящей к нарушению всех видов метаболизма, прежде всего углеводного, поражению сосудов (ангиопатия) и патологическим изменениям в различных органах и тканях. Длительная гипергликемия способствует развитию инсулинорезистентности и оказывает повреждающее действие на клетки (феномен глюкозотоксичности), приводит к снижению белков-транспортёров глюкозы и секреторной активности р-клеток. Все это уменьшает утилизацию углеводов тканями и вызывает нарушение

других видов обмена. В связи с чем целью нашей работы явилось гистологическое исследование образцов печени крыс в норме и после индукции у них аллоксанового диабета.

Анализ данных гистологических исследований образцов печени крыс экспериментальной группы (аллоксановый диабет) свидетельствует о том, что применение аллоксана вызывает индукцию сахарного диабета, что проявлялось в изменении морфологических особенностей тканей исследуемого органа. Данные изменения характеризовались значительными отклонениями от контрольных образцов по составу и физическим характеристикам, а также и размеру. В препаратах ткани печени крыс экспериментальной группы, в отличие от интактных, обнаружено нарушение балочного строения долек, расширение межбалочных пространств (пространств Диссе), границы гепатоцитов выражены слабо. Определялся заметный полиморфизм ядер, нередко обнаруживались клетки с пикнотизированными ядрами или с кариолизисом. У большинства клеток цитоплазма рыхлая с признаками жировой и белковой дистрофии в виде мелких, средних и реже крупных вакуолей, неравномерным распределением базофильного вещества, образующего крупные конгломераты. На месте единичных некротизированных гепатоцитов прослеживаются клеточный детрит. В артериолах и венах междольковых триад нередко наблюдались выраженные стазы.

У животных с аллоксановым диабетом при первичной визуальной оценке обнаруживались значительные изменения: печень увеличивалась в размерах, приобретала менее эластичную консистенцию, неоднородный цвет, закругленность висцеральных краёв.

Таким образом, при аллоксановом диабете в паренхиме печени исследуемых животных прослеживались выраженные признаки токсического гепатита в виде нарушения балочного строения долек, некротизированных гепатоцитов, жировой и белковой дистрофии клеток.

### **НОРМАЛИЗАЦИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ МАТОЧНЫМ МОЛОЧКОМ И УБИХИНОНОМ-10 ПРИ АРИТМИИ**

**Морозов И.Д., Крылова Е.В.**

ФГАОУ ВО Нижегородский государственный университет имени Н.И. Лобачевского, Институт биологии и биомедицины, Нижний Новгород, Россия

*morozovilya2008@rambler.ru*

Среди проблем современной медицины одной из актуальных является профилактика и лечение сердечнососудистых заболеваний. Аритмии сердца являются одной из самых распространённых патологий. Поэтому важна профилактика аритмий. Для данной цели можно использовать маточное молочко пчел (ММ) и убихинон-10 (Q<sub>10</sub>). Целью нашей работы было изучение эффективности применения маточного молочка и убихинона-10 при моделировании адреналиновой аритмии у крыс. Критериями эффективности препаратов были выбраны показатели реакции организма – содержание молекул средних масс (МСМ), уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) – содержание диеновых, триеновых конъюгат и оснований Шиффа в плазме крови.

Исследование проводилось на 30 белых лабораторных крысах. Животные были поделены на 5 групп по 6 особей. Перед моделированием аритмии в 3-х опытных группах проводили, соответственно, скармливание ММ в дозе 100мг/кг, Q<sub>10</sub> в дозе 15мг/кг и их комбинации, в течение 10 дней. Контролем служили крысы, у которых проводилось моделирование аритмии, но не получавших препараты. В ходе эксперимента было показано, что аритмия оказывает отрицательное воздействие на показатели крови подопытных животных и повышает показатель суммарной активности процессов перекисного окисления липидов. В плазме крови крыс контрольной группы содержание диеновых конъюгат увеличилось в 5 раз, триеновых конъюгат – в 4 раза, оснований Шиффа – в 5 раз. Не было выявлено выраженных изменений (показатели контрольной группы близки к интактным) содержания МСМ в плазме. Полагаем, что за время регистрации аритмии и эксперимента в целом (острый опыт) в крови подопытных животных картина эндогенной интоксикации, определяемая по концентрации МСМ, не успевает сформироваться. Отсутствие достоверных различий между данными групп контроля и опыта указывает на то, что убихинон-10 и ММ в данных дозах не проявляют токсического эффекта на систему крови. Предварительное скармливание маточного молочка, убихинона и их комбинации привело к снижению интенсивности свободно-радикальных процессов и приближению их к уровню у интактных животных. Выявлено, что на фоне адреналиновой аритмии показатели содержания продуктов ПОЛ снизились, по сравнению с контролем, в группах с ММ, Q<sub>10</sub> и ММ+Q<sub>10</sub>: концентрация диеновых конъюгат – на 55%, на 50,3% и на 39%, соответственно; триеновых конъюгат – на 64,7%, 50% и на 30,6%, соответственно, и оснований Шиффа – на 60%, на 39% и на 23%, соответственно. Следовательно, маточное молочко пчел и убихинон Q<sub>10</sub> проявляют антиоксидантные свойства в качестве протекторов аритмических повреждений.

## ВЛИЯНИЕ СЕЛЕН-СОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС

Мосенцов А.А.<sup>3</sup>, Овсянникова Т.Н.<sup>3</sup>, Дяченко В.Д.<sup>2</sup>, Хмиль Н.В.<sup>1,3</sup>, Миронова Г.Д.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>Луганский национальный университет им. Т.Г. Шевченко, Луганск, Украина; <sup>3</sup>Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, Харьков, Украина

*makcvel.95@mail.ru*

По современным представлениям до 80% населения России имеет недостаточную обеспеченность селеном. В то же время, проблема болезней, связанных с дефицитом селена, и, как результат, развитие окислительного стресса, остается нерешенной. Научные разработки последних лет направлены на синтез органических форм селена в целях профилактики селенодефицита и ряда других заболеваний. В связи с этим, несомненный интерес представляет исследование взаимосвязи между структурой и биологической активностью этих соединений в связи с их ярко выраженной антиоксидантной и антигипоксической активностью.

Целью исследования являлось изучение и сравнение активности шести различных селен-содержащих соединений под обозначениями DVD 14, DVD 13, DVD 12, DVD 11, DVD 10, DVD 7 на параметры дыхания и фосфорилирования митохондрий печени крыс.

Дыхание митохондрий измеряли полярографически, используя OROBOROS Oxygraph-2k, Austria. В качестве субстратов дыхания использовали сукцинат и глутамат. Определение вторичных продуктов свободно-радикального окисления липидов: малонового диальдегида (МДА), проводилось со всеми препаратами с помощью тиобарбитуровой кислоты.

Исследование параметров дыхания и фосфорилирования митохондрий печени крыс, после добавления вышеуказанных соединений, показало, что из 6 используемых препаратов только вещество DVD 10 оказывает выраженное дозозависимое разобщающее действие. Препарат DVD 7 обладает слабым разобщающим эффектом. Остальные 4 вещества не влияют на эти параметры. Эксперименты по изучению продукта перекисного окисления липидов (МДА) показали выраженное снижение МДА продуктов в митохондриях под влиянием DVD 7, и небольшое их снижение по сравнению с контролем под воздействием DVD 10. Другие препараты не обладают этим эффектом.

Таким образом, вещество DVD 7 может быть использовано в качестве антиоксиданта, снижающего скорость образования активных форм кислорода в электронтранспортной цепи митохондрий, а DVD 10 – в качестве кардиопротектора, обладающего свойствами слабого разобщителя дыхательной цепи.

Работа поддержана грантом Правительства РФ № 14.Z50.31.0028.

## ЗАВИСИМОСТЬ АКТИВНОСТИ СЕПТАЛЬНЫХ НЕЙРОНОВ В УСЛОВИЯХ IN VITRO ОТ СКОРОСТИ ПРОТОКА ИНКУБАЦИОННОЙ СРЕДЫ

Мурай В.М., Мысин И.Е., Мальков А.Е., Попова И.Ю.

ФГБУ Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия

*hippocampus.psn@gmail.com*

Медиальная септальная область мозга (МСО) является пейсмекером гиппокампального тета-ритма и играет важную роль в регуляции активности гиппокампа, гиппокампальных осцилляций и, таким образом, участвует в реализации ряда когнитивных функций. Подавляющее большинство исследований этой структуры были проведены на срезах мозга. Однако, в данных, полученных в экспериментах *in vitro* и *in vivo*, наблюдался ряд существенных несоответствий: значительно различались частота разрядов нейронов и распределение нейронов по типам активности. В последние годы появились работы указывающие на необходимость методических изменений при проведении экспериментов *in vitro*. Было показано, что для адекватного снабжения срезов мозга кислородом необходима высокая скорость протока инкубационной среды

(8-15 мл/мин), в противном случае в срезах развивается гипоксия, резко снижающая эффективность синаптической передачи (Ivanov & Zilberter, 2011). Недостаточная оксигенация и ее последствия, могут в значительной степени объяснять несоответствие параметров нейрональной активности, регистрируемых *in vitro* и *in vivo*. Для проверки этого предположения были проведены сравнительные исследования параметров нейронной активности МСО в срезах мозга крыс Vistar при высокой (8 мл/мин) и низкой (4 мл/мин) скоростях протока. В септальных срезах внеклеточно была зарегистрирована активность 33 нейронов. Было показано, что повышение скорости протока приводит к значительному повышению частоты разрядов нейронов МСО (на 46%), приближая их к показателям *in vivo*. Кроме того, при низкой скорости протока 14% клеток полностью прекращали генерацию разрядов. Этот факт указывает на то, что при проведении экспериментов при низкой скорости протока не было возможности проанализировать активность и реакции данной группы клеток. Ряд данных указывают на зависимость функционирования внутрисептальной тормозной сети от скорости протока инкубационной среды: реакции на электрическую

стимуляцию афферентных волокон, реакции на аппликацию пикротоксина — блокатора ГАМКа рецепторов. На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что повышение скорости потока в экспериментах *in vitro* и, как следствие, повышение уровня оксигенации до необходимого, приводит к изменению активности септальных нейронов, приближая параметры активности к показателям *in vivo*.

### ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ КАЛЬЦИЕВОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ В ОТВЕТАХ НЕЙРОНОВ И АСТРОЦИТОВ НА ФОТОДИНАМИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ РАДАХЛОРИНА

Негинская М.А., Бережная Е.В.

ФГАОУ ВПО Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии,  
Ростов-на-Дону, Россия

*nma@sfedu.ru*

Фотодинамическая терапия (ФДТ) – метод селективного разрушения клеток, который используется в онкологии для лечения различных опухолей, в т.ч. опухолей мозга. При фотодинамическом воздействии (ФД) в предварительно окрашенных фотосенсибилизатором клетках под воздействием лазерного излучения вырабатываются активные формы кислорода, что ведёт к окислительному стрессу и гибели клеток. В процессе ФДТ гибнут не только опухолевые, но и здоровые клетки. Механизм фотодинамического воздействия на здоровые нейроны и астроциты в настоящее время мало изучен. В данной работе было исследовано фотодинамическое воздействие фотосенсибилизатора радахлорина на первичные культуры нейронов и астроцитов коры головного мозга крысы. Для регистрации изменений концентрации внутриклеточного кальция и скорости перекисного окисления липидов были использованы флуоресцентные зонды Fluo-4 и BODIPY C11 (581/591), соответственно. Было показано, что ФДТ в присутствии 200 нМ радахлорина увеличивает амплитуду и частоту кальциевых осцилляций в первичных нейронах. Установлено, что в реакции на ФД воздействие задействован внутриклеточный резерв кальция, т.к. этот эффект наблюдался также и в бескальциевой среде. Кальциевые осцилляции почти полностью блокировались антиоксидантом тролокс и ингибитором фосфолипазы С U73122. Также было показано, что ФД воздействие радахлорина индуцирует перекисное окисление липидов в первичных культурах нейронов и астроцитов. Таким образом, по-видимому, ФД воздействие радахлорина индуцирует перекисное окисление липидов в первичных нейронах, что вызывает активацию фосфолипазы С и запуск каскадов кальциевого сигналинга.

Исследование поддержано грантом РФФИ № 14-04-32270.

### ХАРАКТЕРИСТИКА РЕГЕНЕРАТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫХ КОНСТРУКТОВ НА ОСНОВЕ КЛЕТОЧНЫХ ПЛАСТОВ ИЗ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

Нимирицкий П.П.<sup>1</sup>, Сагарадзе Г.Д.<sup>1</sup>, Дусь Т.А.<sup>1</sup>, Григорьева О.А.<sup>1</sup>, Макаревич П.И.<sup>1,2</sup>,  
Парфёнова Е.В.<sup>1,2</sup>, Ткачук В.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУ  
Российский кардиологический научно-производственный комплекс Минздрава РФ, Москва, Россия

*nimiritsky@gmail.com*

**Введение:** Применение мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани (МСК ЖТ) в регенеративной медицине основано на их способности к дифференцировке и высокой паракринной активности. Перспективно использование вместо суспензии ассоциатов клеток, простейшим видом которых являются клеточные пласты (англ. *cell sheets*) – клетки в несколько слоев образуют тонкий, но достаточно плотный для манипуляций материал. Работа посвящена характеристике регенеративного потенциала клеточных пластов из МСК ЖТ с оценкой их паракринной активности и структуры. **Цель:** Разработка эффективного метода получения и изучение регенеративных свойств МСК ЖТ в составе клеточных пластов. **Материалы и методы.** МСК ЖТ человека были выделены протеолитическим способом. Для получения клеточных пластов использованы 2 подхода: высадка в суспензии высокой плотности или длительное культивирование с медленной наработкой матрикса. Материалом для исследования паракринной активности являлась кондиционированная 2-7 суток бессывороточная среда, в которой методом ИФА определяли концентрацию ростовых факторов. Гистологическая оценка проводилась на замороженных препаратах окраской гематоксилином/эозином и на маркеры пролиферации и апоптоза клеток. **Результаты:** Полученные нами результаты указывают на возможность получения клеточных пластов из МСК ЖТ как в течение 48-72 ч при использовании высокой плотности клеточной суспензии, так и при длительном культивировании клеток. Важным оказалось, что «снятие» клеточных пластов удавалось выполнить с помощью «рутинных» реактивов вместо применения дорогостоящего термочувствительного пластика. Толщина клеточных пластов определена около 50-70 мкм, в их составе имелись клетки с признаками пролиферации. Характеристика паракринной активности показала, что кондиционированные среды,

собранные с конструкций, содержат значимые количества ангиогенных факторов роста: VEGF165, HGF, ангиопоэтина-1, что указывает на сохранение паракринной функции клеток при переводе их в тканеинженерную конструкцию. **Выводы:** 1. Разработанный способ получения клеточных пластов позволяет генерировать и снимать клеточные пласты с культурального пластика без использования термочувствительных полимеров. 2. Клеточные пласты из МСК ЖТ имеют толщину в 50-70 мкм и состоят из жизнеспособных пролиферирующих клеток. 3. Паракринная активность МСК ЖТ в составе клеточных пластов сопоставима с таковой у обычных культур МСК ЖТ, что указывает на их функциональную сохранность. Разработанные подходы могут стать основой для новых терапевтических технологий в кардиологии, эстетической медицине, сосудистой хирургии.

### **РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ СЕТЧАТКИ ГЛАЗА В УСЛОВИЯХ ОРГАНОТИПИЧЕСКОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ IN VITRO И ПРИ ПОВРЕЖДЕНИИ СЕТЧАТКИ IN VIVO У НИЗШИХ И ВЫСШИХ ПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ**

**Новикова Ю.П., Поплинская В.А., Григорян Э.Н.**

ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

*novikovayulia@gmail.com*

Ремоделирование сетчатки (РС) – явление, представляющее собой одно из последствий патологических изменений в сетчатке, вызванных повреждением ее определенных клеточных популяций вследствие травмы или в направленных экспериментах. Мы исследовали РС в различных моделях у низших и высших животных, делая попытки сравнения и понимания основных закономерностей явления. РС хвостатых амфибий – взрослых тритонов *Pl. waltil.* – было изучено в условиях *in vivo* и *in vitro*. В первом случае проводили облучение сетчатки глаза этих животных ярким светом, а также индуцировали отслойку сетчатки микрохирургически, что в обоих случаях провоцировало гибель части фоторецепторных клеток. Были выявлены ответы со стороны как минимум трех клеточных популяций: ретинального пигментного эпителия, биполярно-подобных клеток внутреннего ядерного слоя и глиальных клеток Мюллера. Первые мигрировали в толщу сетчатки до внутренней пограничной мембраны, делились и, радиально мигрируя, встраивались в структуру сетчатки, замещая погибшие клетки. Вторые смещались в наружный ядерный слой и также замещали погибшие фоторецепторы. Третьи – макроглиальные клетки – демонстрировали гипертрофию и пролиферацию. В условиях органотипического 3D культивирования, вызывающего также гибель наружного ядерного слоя, сетчатка тритона обнаруживала способность к реконструированию с участием тех же клеток и клеток ростовой зоны сетчатки тритона – аналога цилиарной области у млекопитающих. Это свидетельствует о высокой пластичности клеток нейральной сетчатки глаза у амфибий и позволяет этим животным сохранять жизнеспособность и зрительную функцию сетчатки.

РС у высших позвоночных *in vivo* изучали на модели индуцированной ярким светом дегенерации сетчатки (LIRD –модель) у взрослых крыс *Wistar*. РС проявлялось в виде вымещения, трансформации в макрофагальный фенотип и затем гибели клеток ретинального пигментного эпителия, топологической транслокации популяций биполяров и амакриновых клеток на место «выбитых» светом фоторецепторов и глиального ответа, т.е. клеточные механизмы для РС у крысы оказались сходными с таковыми у тритона. Однако, из-за невозможности репрограммирования клеток сетчатки крысы в нейральном направлении, эти механизмы не приводили к клеточному замещению и сохраняли, поэтому, только целостность структуры сетчатки, но в отсутствие ее нормального функционирования. Таким образом, нами изучены клеточные механизмы РС у разных животных, свидетельствующие о возможности в условиях патологии и клеточной гибели поддерживать структуру этого наиважнейшего сенсорного органа за счет сходных клеточных популяций.

### **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МАРГАНЦЕВАЯ ЭНЦЕФАЛОПАТИЯ: ПРИЗНАКИ НЕЙРО- И ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ**

**Обламская И.С.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

*i.s.oblamskaya@mail.ru*

На протяжении многих лет в промышленности используются вредные химические вещества, токсическое влияние которых обнаруживается только после длительного контакта с источником интоксикации. Одним из таких элементов является марганец. Длительный нейротоксический эффект марганца не был объяснен до сегодняшнего момента. Предполагается, что марганец и его соединения способны продуцировать широкий спектр нейротоксичных эффектов, что приводит к неконтролируемому воспалительному процессу в ЦНС с лавинообразной самоподдерживающейся активацией микроглиальных клеток и астроцитов. Таким образом, цель данной работы – оценить возможные механизмы и факторы, участвующие в марганец-модулированном глиа-опосредованном нейровоспалении на ранних стадиях

заболевания. Работа была выполнена на взрослых самцах крыс линии Wistar с массой 220-250 г. Экспериментальные животные получали интраназальные инъекции хлорида марганца в дозе 1 мг/день в течение 10 недель. Контрольные животные получали стерильный физ. раствор в соответствии с дозировкой.

Оказалось, что в стриатуме экспериментальных животных уровень мРНК  $\text{IL-1}\beta$ ,  $\text{TNF-}\alpha$  был в 2,5 раза выше относительно контроля, а уровень мРНК  $\mu$ - и  $m$ -кальпаина (основных представителей семейства кальций-зависимых цистеиновых протеаз – кальпаинов) в исследуемой структуре вырос относительно контроля в 5 и в 4 раза соответственно, что говорит о наличии нейровоспаления и нейродегенерации. В клетках гиппокампа подобные изменения не выявлены. В крови животных определяли оксидазную активность церулоплазмينا (ЦП), супероксиддисмутазы (СОД) и концентрацию мочевой кислоты. Активность СОД в сыворотке крови экспериментальных животных значительно уменьшилась по сравнению с контрольной группой животных и концентрация мочевой кислоты так же снизилась по сравнению с контролем. Активность ЦП возросла, что можно истолковать как компенсаторную реакцию в ответ на развивающееся воспаление. Таким образом, у экспериментальных животных обнаружены признаки нейро- и периферического воспаления.

Работа поддержана грантом РФФИ №14-04-00587.

### **ВЛИЯНИЕ ВАЗОАКТИВНЫХ КОМПОНЕТОВ КОСМЕТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ НА МИКРОЦИРКУЛЯЦИЮ В КОЖЕ ЧЕЛОВЕКА**

**Оводова А.И., Савченко С.А., Осипова А.А., Коняева Т.Н.**

ФГБОУ ВПО Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого, Тула, Россия

*conyata@mail.ru*

В нашей работе для объективной диагностики микроциркуляции кожи и оценки эффективности воздействия входящих в состав косметических средств современных пептидных комплексов, нами использован неинвазивный метод лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ). Целью работы было выяснение механизмов воздействия на кровоток в микроциркуляторном русле кожи человека пептидов растительного происхождения с использованием амплитудно-частотного анализа данных ЛДФ. В работе использованы натуральные комплексы – тетрапептиды Матриксил (Matrixyl 3000), Айсерил (Eyeseryl) и пептидный комплекс Айлисс (Eyeliss), состоящие из активных компонентов, предназначенные для решения проблем отеков и тёмных кругов под глазами, выраженных следов усталости, повышающие тонус, упругость и эластичность кожи. Исследования проводились с участием условно здоровых испытуемых, юношей и девушек 18-22-летнего возраста. Анализировали динамику изменения показателя микроциркуляции (ПМ) в ходе реакции и амплитудно-частотные характеристики ЛДФ-грамм.

Установлено, что в группе испытуемых обеих полов величина ПМ достоверно увеличивается по сравнению с контролем при использовании пептидного комплекса Айлисс (на 10,3% по сравнению с ПМ в нативном состоянии) и тетрапептида Матриксил (на 15,8%), что указывает на увеличение средней перфузии в микроциркуляторном русле исследуемой области кожи. Об увеличении подвижности эритроцитов свидетельствует рост показателя колеблемости потока крови – СКО – на 9,7% при использовании пептидного комплекса Айлисс и на 17,8% – при использовании тетрапептида Матриксил.

Амплитудно-частотные характеристики (спектры) ЛДФ-грамм в целом по группе испытуемых обеих полов при воздействии пептидного комплекса Айлисс обнаруживают достоверное снижение амплитуд в диапазонах эндотелиальной, нейрогенной и респираторной активности (на 36%, 53% и 35%, соответственно); при воздействии тетрапептида Айсерил – достоверное снижение амплитуд в диапазоне миогенной активности на 52%; при воздействии тетрапептида Матриксил – не обнаруживают достоверных отличий ни в одном из рассматриваемых диапазонов.

В результате исследования нами обнаружена высокая чувствительность параметров микроциркуляции при однократном применении пептидного комплекса Айлисс у девушек и при однократном применении тетрапептидов Айсерил и Матриксил у юношей, свидетельствующая об эффективном влиянии указанных средств на микроциркуляцию.

### **ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА СТАННИНА В ГИППОКАМПЕ КРЫС ПРИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ТРИМЕТИЛОЛОВОМ**

**Першина Е.В.<sup>1,2</sup>, Архипов В.И.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушино, Россия

*pershina-ev@mail.ru*

Триметиллово (trimethyltin, ТМТ) – водорастворимый нейротоксикант, применение которого в сельском хозяйстве и промышленном производстве привело к загрязнению окружающей среды. ТМТ проникает через ГЭБ и вызывает дегенерацию нейронов и реактивный глиоз в нервной системе млекопитающих, особенно в гиппокампе. Предполагается, что первоначальной мишенью ТМТ является

мембраносвязанный белок митохондрий – станнин (stannin), который можно рассматривать как маркер повреждения мозга при ТМТ-интоксикации. В настоящей работе исследовали экспрессию гена станнина в гиппокампе крыс, чтобы уточнить роль этого белка в механизмах нейродегенеративного процесса, вызванного ТМТ.

Эксперименты проводили на самцах крыс Вистар. Первой группе животных (n=6) вводили ТМТ (7 мг/кг, подкожно); второй группе (n=4) в том же объеме изотонический раствор NaCl. После однократного введения ТМТ у животных в течение нескольких дней проявлялись токсические явления, среди которых снижение веса тела, и нарушение поведенческих реакций по сравнению с контрольной группой. Одним из патологических признаков действия ТМТ является развитие судорожной активности, для предотвращения которой через 24 и 48 часов животным делали инъекции нембутала (20 мг/кг, внутривенно). Через шесть недель после введения ТМТ, выделяли гиппокамп из мозга крыс для исследования экспрессии генов. Для оценки уровня мРНК станнина использовали метод ОТ-ПЦР, для чего были подобраны праймеры к его гену (*Snn*) и двум референсным генам (*b-aktin*, *GAPDH*). Полученные результаты показали, что экспрессия гена станнина в гиппокампе крыс, которым вводили ТМТ, снижается относительно контрольных животных. Выявленное в настоящей работе отсроченное подавление экспрессии станнина в гиппокампе подтверждает важную роль этого белка в механизмах ТМТ-интоксикации. Кроме того, полученные результаты указывают на необходимость вовлечения регуляции на уровне генома для обеспечения адаптивных перестроек, направленных на уменьшение ТМТ-вызванной нейродегенерации.

Работа поддержана грантом РФФИ-мол\_а № 16-34-01167.

## ВЛИЯНИЕ СЕРОТОНИНА НА ТЕРМОРЕГУЛЯЦИЮ КРЫСЯТ ПРИ ОХЛАЖДЕНИИ

Польская А.И.<sup>1,2</sup>, Захарова Н.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушино, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пушино, Россия

*polskaya1992@yandex.ru*

Несмотря на большую практическую значимость, многие вопросы, связанные с глубоким охлаждением организма, остаются до конца неясными, и, вследствие этого, меры помощи и лечения недостаточно разработаны. Предельная температура функционирования сердца при общей гипотермии зависит от вида теплокровного животного и его возраста. Особый интерес вызывают физиологические механизмы повышенной устойчивости к холоду у новорожденных млекопитающих. Причина этой онтогенетической особенности не до конца ясна. Можно предположить, что устойчивость новорожденных млекопитающих к гипотермии связана с особенностью моноаминергической регуляции в мозге, которая, как известно, в раннем постнатальном периоде еще недостаточно сформирована. Незрелой в этот период является также и адренергическая иннервация сердца, в сократимости которого в этот период существенный вклад вносит серотониновая система [Ахметзянов, 2010]. Цель данного исследования заключается в анализе температурной кинетики и хронотропного эффекта в деятельности сердца при охлаждении и выходе из глубокой искусственной гипотермии у крысят раннего постнатального периода. Крысята (8-10 д. р., n=12) охлаждались в закрытом сосуде при температуре +5°C по методу Бахметьева-Анджуса-Джайя [Melnichuk, 2007]. Перед охлаждением опытным крысятам интраназально вводили раствор серотонина. Частота сердечных сокращений (ЧСС) регистрировалась с помощью кардиографа; автоматизированная регистрация температуры ядра тела – датчиком RET-3 (Physitemp, USA, ± 0,1°C). Крысята охлаждались до 5-6°C в течение 75-90 минут как в контроле, так и на фоне серотонина со скоростью 0,4°C/мин, при этом ЧСС у них падала до 3-5 уд/мин. Другая картина наблюдалась при отогреве крысят при комнатной температуре (22-23°C). В течение первых 20 минут контрольные крысята нагревались до 11°C, тогда как на фоне серотонина за то же время – до 15°C. В конечном итоге, температура у контрольных крысят выходила на плато в области 27-28°C и не возвращалась к начальному уровню через 5-6 часов после охлаждения. На фоне серотонина температура, также как и ЧСС, восстанавливалась в течение 3,5 часов, а в контроле ЧСС достигала 65% от исходного уровня через 2 часа периода постгипотермии и далее не восстанавливалась. Следует отметить, что при охлаждении взрослых крыс, которым предварительно вводили серотонин, наблюдалась совсем иная картина. Полученные данные можно объяснить особенностью обмена серотонина в мозге у крысят [Насырова и др., 2009], а также его ролью в их энергетическом гомеостазе [Oh et al., 2015].

## СЕЛЕКТИВНЫЙ БЛОКАТОР NR2B/NMDA РЕЦЕПТОРОВ И АКТИВАЦИЯ НЕЙРОГЕНЕЗА Ro25-6981 МОДИФИЦИРУЕТ ПРОСТРАНСТВЕННУЮ ПАМЯТЬ ЧЕРЕЗ ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ У КРЫС

Ратмиров А.М.<sup>1,2</sup>, Соловьева О.А.<sup>1</sup>, Грудень М.А.<sup>1</sup>, Сторожева З.И.<sup>1</sup>, Шерстнев В.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К. Анохина, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*ratmirov1@gmail.com*

В настоящее время описано, что NMDA рецепторы, содержащие NR2B субъединицу (NR2B/NMDA), вовлечены в регуляцию нейрогенеза зрелого мозга и принимают участие в формировании пространственной памяти. Обнаружено, что селективный антагонист NR2B/NMDA стимулирует нейрогенез, а также модифицирует формирование пространственной памяти у взрослых животных. Актуально изучение межструктурных нейроанатомических профилей экспрессии генов-регуляторов процессов нейроапоптоза и нейрогенеза, вовлеченных в регуляцию генетических механизмов пространственной памяти на стадии воспроизведения при повторном обучении. Целью настоящего исследования явилось изучение различных этапов формирования пространственной памяти в водном лабиринте и экспрессии генов, связанных с нейрогенезом и апоптозом в условиях блокады NR2B/NMDA антагонистом Ro25-6981. Введение Ro25-6981 проводилось половозрелым крысам Wistar в течение 2-х суток после 5-дневного обучения животных в водном лабиринте Морриса и 4-дневного повторного обучения с последующей сменой платформы на последующие сутки и забором структур мозга для генетического анализа. Методом ПЦР изучали экспрессию генов S100a6 (регулятор пролиферации клеток); Ascl1 (регулятор дифференцировки клеток) и Casp-3 (регулятор апоптоза) в гиппокампе, префронтальной коре и мозжечке у экспериментальных животных и контроле согласно протоколу. Обнаружено, что экспрессия генов Ascl1 и Casp3 была увеличена и уменьшена соответственно, в мозжечке экспрессия гена S100a6 увеличена, а экспрессия Casp3 уменьшена, относительно 28-ми дней после введения Ro25-6981. Введение Ro25-6981 увеличило количество BrdU-позитивных нервных клеток крыс в церебральных структурах крыс, которым вводили Ro25-6981 на 14-й и 28-й день после начала экспериментов. Анализ хронологического протокола показывает вовлеченность новых зрелых нейронов в реконфигурацию процессирования памяти, вместе с тем корреляции поведенческих и генных данных предоставляют прямую связь между улучшением воспроизведения пространственной памяти и модифицированной генной активностью, индуцированной через блокацию и up-регуляцию NR2B/NMDA рецепторов.

## ХРОНИЧЕСКОЕ НАРУШЕНИЕ УТИЛИЗАЦИИ ГЛЮКОЗЫ В МОЗГЕ КАК ПРИЧИНА СУДОРОЖНОЙ АКТИВНОСТИ

Самохина Е.И., Мысин И.Е., Попова И.Ю.

ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия

*evgeniia.sam@iteb.ru*

Эпилепсия – это патологическое состояние, которое характеризуется спонтанно повторяющейся не провоцируемой судорожной активностью и является одним из самых распространенных неврологических заболеваний. Недавно было обнаружено, что гипометаболизм глюкозы в мозге является характерной чертой эпилептического фокуса у пациентов, страдающих судорожными припадками, а также у животных с экспериментальными моделями височной эпилепсии. Однако не было установлено, является ли гипометаболизм глюкозы в мозге причиной пароксизмальных состояний или развивается в результате дисбаланса между возбуждающими и тормозными нейромедиаторными системами.

Целью настоящего исследования было выяснить, может ли частичное хроническое нарушение утилизации глюкозы вызывать патологические изменения в функционировании мозга. В качестве объекта исследования использовались крысы линии Вистар (самцы, вес 240-300 г, n=17). Гипометаболизм глюкозы в мозге крыс создавался длительным введением 2-дезоксид-глюкозы (2-ДГ, 2,5 мкL, 20 мМ) в желудочки мозга на протяжении 4 недель. Весь период введения 2-ДГ осуществлялась регистрация суммарной полевой активности (ЭЭГ) гиппокампа. После чего, мозг извлекали для гистологического анализа. Контролем служили животные с введением 0,9% NaCl в желудочки мозга. Анализ ЭЭГ гиппокампа показал, что хронический гипометаболизм глюкозы в мозге приводит к появлению патологической активности: наблюдалось достоверное увеличение мощности суммарной активности, а также частоты высокоамплитудных эпилептических спайков (до 350% по сравнению со 150% в контроле). Гистологический анализ срезов мозга выявил снижение плотности клеток в стриатуме и поле СА1 гиппокампа ( $p \leq 0,05$ ) у экспериментальной группы животных по отношению к контрольной группе.

Эти результаты показывают, что недостаточная утилизация глюкозы в мозге может являться триггерным механизмом при формировании эпилептического очага. Полученные результаты важны как для



понимания общих механизмов формирования патологической активности в мозге, так и для разработки терапевтических подходов, направленных на остановку процесса эпилептогенеза, и, как следствие, судорожной активности.

### **МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЛИМФОЦИТОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ МИТОГЕНОВ**

**Сладкова Е.А.**

ФГАОУ ВПО Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

*evgenija-sladkova00@rambler.ru*

Одним из основных методов определения пролиферативного потенциала иммунокомпетентных клеток является реакция бласттрансформации (РБТЛ), несмотря на распространенность РБТЛ в клинических исследованиях, в научной литературе практически отсутствуют данные о влиянии митогенов на морфофункциональные параметры Т- и В-лимфоцитов. Цель исследования – изучить морфофункциональные изменения лимфоцитов при воздействии митогенов.

Для исследования влияния митогенов на белые клетки крови были проведены две серии эксперимента. В первой серии эксперимента (15 проб) клетки инкубировали в течение 48 ч. при 37°C в питательной среде с добавлением ФГА в концентрации 0,05 мкг/мл, во второй (15 проб) – в среде с Кон А (0,05 мкг/мл). Контролем (15 проб) служили клетки, инкубированные в питательной среде без митогенов. Исследование морфофункциональных свойств лимфоцитов выполняли на атомно-силовом микроскопе ИНТЕГРА Вита фирмы NT-NDT.

В экспериментальных пробах лимфоцитов, стимулированных митогенами, выявлен клеточный полиморфизм. Размеры клеток, активированных как Кон А, так и ФГА резко варьировали, в связи с чем они были разделены на три группы: микроциты, нормоциты и бластные формы. Экспериментальные исследования показали, что воздействие митогенов на белые клетки крови приводит к резкому возрастанию значений их модуля Юнга, что указывает на увеличение жесткости трансформированных лимфоцитов. Наибольшее значение характерно для микроцитов и имеет свое максимальное значение в субпопуляции клеток, активированных Кон А, наименьшее значение имеют бласты, стимулированные ФГА. Морфология поверхности лимфоцитов, трансформированных митогенами, претерпела существенные однонаправленные изменения, при этом различий в микрорельефе между субпопуляциями лимфоцитов в каждой серии эксперимента не обнаружено. Общим для клеток, активированных ФГА и Кон А, является снижение высоты выступов клеточной поверхности на 11% и 16% ( $p < 0,05$ ), снижение их ширины на 60% и 85% ( $p < 0,05$ ) соответственно, по сравнению с лимфоцитами контрольной группы. Глубина инвагинаций плазмалеммы клеток, инкубированных в среде с добавлением ФГА, увеличивалась на 18,7% ( $p < 0,05$ ), в среде с Кон А – на 41,7%, по сравнению с контрольными лимфоцитами.

В результате проведенных исследований установлено, что упруго-эластические свойства лимфоцитов оказались более чувствительны к воздействию Кон А. Преобразование клеточной поверхности лимфоцитов на фоне увеличения жесткости клеток, вероятно, указывает на изменения в ультраструктуре актиновой и тубулиной сетей лимфоцитов, активированных митогенами.

### **КОРРЕЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ МОЗГА В СОСТОЯНИИ ПОКОЯ ПО ФМРТ ДАННЫМИ С БАЛЛАМИ ОПРОСНИКА ARSQ**

**Сушинская-Тетерева А.О.<sup>1</sup>, Балаев В.В.<sup>1</sup>, Мартынова О.В.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГАОУ ВПО Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики», Центр нейроэкономики и когнитивных исследований, Москва, Россия

*alina.tao@mail.ru*

Функциональная магнитно-резонансная томография (фМРТ) обнаруживает активные области в мозге в состоянии спокойного бодрствования – сети состояния покоя (СП) (resting state networks - RSN) (Biswal B., et al. 1995). Сеть покоя по умолчанию, или default mode network (DMN), проявляется в бодрствовании при отсутствии внешних раздражителей и активной мыслительной деятельности (Raichle M.E., et al. 2001). Группой исследователей (Delamillieure P., et al. 2009) был разработан опросник ARSQ, выясняющий содержание мышления человека в процентном соотношении во время спокойного бодрствования.

Испытуемые – 10 человек (28,3 ± 5 лет, 3 муж.), без заболеваний и повреждений г.м., правши. Их просили лежать спокойно с закрытыми глазами и не думать ни о чем целенаправленно. МРТ проводили на томографе MAGNETOM AVANTO 1.5 Тесла («Siemens», Германия). Для получения анатомического

изображения в сагитальной плоскости использовалась последовательность T1 MPRAGE (TR – 1900мс, TE – 3,4 мс, FA=15град, 176 срезов, толщина среза – 1мм, межсрезное расстояние – 0,5 мм, FoV – 256 мм, матрица реконструкции – 256x256, размер вокселя – 1x1x1 мм). Для получения функциональных T2\*-изображений использовалась EPI последовательность со следующими характеристиками: TR – 3000 мс, TE – 50 мс, FA=90град, 35 срезов аксиальной ориентации, толщина среза – 3мм, межсрезное расстояние – 0,8 мм, FoV – 252 мм, матрица – 64x64, размер вокселя – 3x3x3 мм. Собрано 180 измерений (объемов) для каждого испытуемого. Т сканирования СП составляло 9 мин 6 секунд. Сразу же после сканирования заполнялся опросник состояния покоя. Предварительную обработку фМРТ-данных проводили с помощью SPM8 на платформе MATLAB7.0.4. Для нахождения СП был использован метод независимых компонент с помощью GIFT. Было выделено 25 независимых компонент. Сети DMN соответствовали 2 компоненты: затыльно-медиальная и фронтальная. Объемы активации в вокселях каждой использовали для корреляционного анализа с баллами ARSQ для каждого из испытуемых.

Объем активации зрительной сети (медиальной части затылочной доли) отрицательно коррелировал с процессом прерывистого мышления (коэффициент корреляции Пирсона был равен -0,67,  $p=0,025$ ). Объем сети салиентности отрицательно зависел от сонливости (-0,77,  $p=0,009$ ). С чувством комфорта положительно коррелировали объемы сети внимания (0,68,  $p=0,030$ ) и речевой сети (0,72,  $p=0,019$ ). Остальные показатели корреляции требуют дальнейшего исследования. Результаты пилотного исследования подтверждают гипотезу о том, что активность мозга в спокойном бодрствовании может использоваться в качестве дополнительного показателя когнитивных и ментальных процессов, протекающих в состоянии покоя.

### УЧАСТИЕ КАЛЬМОДУЛИНКИНАЗЫ II ТИПА В РЕГУЛЯЦИИ СЕКРЕЦИИ МЕДИАТОРА В НЕРВНО-МЫШЕЧНЫХ СИНАПСАХ МЫШИ

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

ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*cate1990@list.ru*

Кальмодулинкиназа II типа (CaMKII) активируется при повышении уровня  $Ca^{2+}$  в цитоплазме за счёт связывания с  $Ca^{2+}/CaM$ , затем происходит её автофосфорилирование и активность данной киназы становится независимой от дальнейших колебаний концентрации  $Ca^{2+}$ . CaMKII вовлечена в регуляцию множества процессов в нервных клетках, в том числе, в мобилизации везикул, однако её точная роль в пресинаптической регуляции секреции ацетилхолина (АХ) в нервно-мышечных синапсах млекопитающих остаётся не ясна.

Работа проводилась на «рассечённом» нервно-мышечном препарате диафрагмы мыши с использованием микроэлектродной техники отведения потенциалов. Регистрировали миниатюрные потенциалы концевых пластинок (МПКП) мышечных волокон и залп потенциалов концевой пластинки (ПКП) в ответ на короткую ритмическую стимуляцию нерва (1 с, 50 Гц) и далее рассчитывали квантовый состав (КС) ПКП.

Апликация ингибитора CaMKII KN-62 (3 мкМ) не приводила к изменению ни амплитудно-временных параметров МПКП, ни квантового состава ПКП по всему ходу залпа. Однако на фоне действия KN-62 полностью подавлялось облегчение секреции АХ при растормаживании L-типа кальциевых каналов путём ингибирования кальциейрина (CaN) при помощи CsA (1 мкМ).

С другой стороны, на фоне увеличения КС ПКП при предварительном действии CsA (1 мкМ), апликация KN-62 не приводила к возвращению КС ПКП к контрольному уровню. Скорее всего, CaMKII, уже активированная  $Ca^{2+}$ , входящим по L-типу каналов, обретает  $Ca^{2+}$ -независимую активность за счёт автофосфорилирования. В таком случае, KN-62, ингибиторное действие которого заключается в подавлении связывания комплекса  $Ca^{2+}/CaM$  с данной киназой, оказывается не эффективным.

Чтобы удостовериться, что в терминали моторных синапсов мыши именно вход  $Ca^{2+}$  по L-типу приводит к активации CaMKII, мы решили исследовать её участие в регуляции секреции АХ при другом способе растормаживания  $Ca^{2+}$ -каналов L-типа – путем ингибирования  $Ca^{2+}$ -активируемых калиевых каналов ВК-типа паксиллином.

На фоне паксиллина (5 мкМ) КС всех ПКП в залпе увеличивался примерно на 32%, видимо, за счёт подключения входа  $Ca^{2+}$  по каналам L-типа.

Предварительная апликация KN-62 полностью предотвращала потенцирующий эффект паксиллина на вызванный выброс АХ – КС первого ПКП в залпе составил  $35,09 \pm 1,25$  ( $n=23$ ) в контроле и  $34,29 \pm 1,53$  ( $n=32$ ,  $p>0,05$ ) при совместном действии паксиллина и KN-62.

Таким образом, CaMKII задействована в усилении секреции АХ при активации L-типа кальциевых каналов и не принимает участия в регуляции секреции медиатора в норме, когда основным  $Ca^{2+}$  входом в терминаль служат каналы P/Q-типа.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСПРЕССИОННОГО ПРОФИЛЯ ГЕНОВ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА (TLRS, CXCL12, CCR4) В МИГРИРУЮЩИХ КЛЕТКАХ ОПУХОЛЕВОЙ ЛИНИИ U937

**Филина А.Б., Свитич О.А.**

ФГБНУ Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова, Москва, Россия

*Byzonka@yandex.ru*

**Введение:** Последние десятилетия учеными активно разрабатываются инновационные подходы к лечению опухолей. Одной из главных проблем терапии онкологических заболеваний является предотвращение метастазирования, неотъемлемой частью которого является хемотаксис опухолевых клеток. Помимо активного изучения роли хемокинов и их рецепторов в онкологии, также большое внимание уделяется Toll-подобным рецепторам (TLRs), которые участвуют в развитии воспалительных реакций и потенциально в опухолеобразовании.

**Цель:** изучение TLRs лиганд-индуцированного хемотаксиса клеток линии U937, а также экспрессионного профиля (TLRs, хемокинов и их рецепторов) в мигрировавших клетках.

**Материалы и методы:** Исследуемый материал – культура клеток линии U937 (гистиоцитарная лимфома), предоставленная «ГУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи РАМН». Для исследования хемотаксиса *in vitro* использовалась камера Бойдена фирмы BD Falcon TM HTS FluoroBlokTM 96-Multiwall Insert System (фирма BD). Лиганды TLRs: DNA\_lig (ccg-gtc-cac-aag-ggg-ggc-ca) и RNA\_lig (ccg-agg-aug-cga-ggc-uug-uu) (Синтол, РФ); цитокин TNF –  $\alpha$  (eBioscience, Австрия). Выделение РНК из клеток проводилось с помощью набора «РИБО-сорб» (ИЛС, РФ), реакция обратной транскрипции – с помощью «Набора реагентов ОТ-1» (ИЛС, РФ) и ПЦР-ПВ («Набор реагентов с SYBR Green1», Синтол, РФ) на амплификаторе PicoReal (Thermo Scientific, USA) на базе РНИМУ им Н.И. Пирогова, на кафедре иммунологии.

**Результаты:** На первом этапе исследования была выявлена повышенная миграция клеток по направлению к DNA\_lig и TNF –  $\alpha$ . Экспрессия TLR2, TLR7 и TLR9 значительно увеличилась под воздействием TNF –  $\alpha$  в 1,5, 4 и 19 раз, соответственно. Под воздействием DNA\_lig увеличилась экспрессия TLR9 и TLR3 в 105 и 2 раза соответственно. При воздействии RNA\_lig экспрессия TLR3 увеличилась в 3 раза. Экспрессия CXCL12 увеличивается под действием DNA\_lig в 30 раз.

**Выводы:** На основании полученных результатов, можно заключить, что активация TLRs в опухолевых клетках макрофагального ряда, в особенности TLR3 и TLR9, опосредованно ведет к усилению хемотаксиса и активации экспрессии его компонентов в опухолевых клетках. В дальнейшем планируется изучение миграции злокачественных клеток не только кровотокового роста, но также и клеток солидных опухолей с расширением изучаемого спектра структур врожденного иммунитета.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ МЕХАНИЗМОВ РЕШЕНИЯ МАТЕМАТИЧЕСКИХ ПРИМЕРОВ НА СЛОЖЕНИЕ И УМНОЖЕНИЕ ДВУЗНАЧНЫХ ЧИСЕЛ

**Фомина А.С.**

ФГАОУ ВПО Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия

*a\_bogun@mail.ru*

В современных исследованиях нейробиологических основ реализации сложной мыслительной деятельности человека, актуальным является вопрос изучения структуры решения арифметических задач. Целью работы было теоретическое обоснование цикла экспериментальных работ по исследованию нейрофизиологических механизмов решения арифметических задач. Исследование (Айдаркин, Фомина 2011-2013, Aydarkin, Fomina 2013) было связано с поэтапным анализом решения примеров на сложение и умножение двузначных чисел. При выделении этапов использовалась парадигма двойных задач, в которой добавочная деятельность возникала при разделении решения путем отмечания участником промежуточных этапов нажатием на кнопку. Анализировались значения времени решения, число этапов, спектральная мощность и функция когерентности диапазонов ЭЭГ, и амплитудно-временные характеристики компонентов ССП.

На основании полученных результатов показано, что при сложении используется от 1 до 4 этапов с линейной зависимостью времени решения от их числа, что связывается с ригидностью психофизиологического алгоритма. При умножении использовалось от 1 до 5 этапов с куполообразной зависимостью времени решения от их числа. При сложении увеличение загруженности рабочей памяти отражалось в количестве этапов, т.к. добавление каждого приводило к возрастанию времени решения на одинаковую величину. При умножении уровень загруженности рабочей памяти остается высоким и зависит от длительности этапов. Вовлечение произвольного внимания более выражено при умножении: показано его взаимодействие с центральным исполнительным компонентом рабочей памяти, где происходит переключение между этапами.

При анализе электрофизиологических коррелятов решения показано, что уровень общей активации коры был выше при сложении. Основная роль в формировании картины ее распределения предполагается для неспецифических структур. Локализация фокусов максимальной выраженности дельта, тета- и бета-диапазонов и перекрывание активации префронтальной и теменной областей отражало активацию фронто-таламической системы произвольного внимания, подкорковых структур, зон ментальной арифметики в теменных областях, лобно-височных областей, и рабочей памяти. Локальная активация, отражавшаяся в значениях амплитуд компонентов CNV, P300, N400, была более выражена при выполнении умножения. При ее формировании происходило вовлечение избирательного нейронного ингибирования, лобно-теменной сети ментальной арифметики, рабочей памяти и активационного когнитивного контроля.

### **ОЦЕНКА ЧИСЛА КЛЕТОК МИКРОГЛИИ В МОЗГЕ КРЫС СТЕРЕОЛОГИЧЕСКИМ МЕТОДОМ: ПРОВЕРКА ПРИМЕНИМОСТИ МЕТОДА**

**Фролова О.А.**<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГАОУ ВПО Московский физико-технический институт, Москва, Россия

*frolova\_o\_a@mail.ru*

В связи с широкой распространенностью патологий нервной системы крайне важной является задача исследования их этиологии. В патогенезе многих из этих заболеваний ключевую роль играет процесс нейровоспаления. Существует теория, согласно которой повторяющиеся нейровоспалительные эпизоды, вызванные стрессом, могут переходить в хроническую форму, вызывая развитие патологии. Таким образом, в центре внимания оказывается иммунная система ЦНС и ее основной представитель – микроглия, резидентный макрофаг и ключевое звено иммунного и воспалительного ответа в мозге на клеточном уровне.

Активацию микроглии можно отслеживать по пролиферации клеток микроглии. Для этого необходимо как можно более точно оценивать число клеток в структуре мозга. В настоящее время существует несколько методов решения этой задачи, но самым надежным является оптический фракционатор, опирающийся на использование широко известной трехмерной пробы для подсчета клеток (оптического дисектора), дополненного систематической единой схемой выбора (фракционатором). Этот метод и был выбран, а затем адаптирован для подсчета микроглии в гиппокампе крыс. Для определения точности подсчета вычисляли коэффициент ошибки подсчета. В работе проведено также сравнение различных способов оценки коэффициента ошибки (методы Шмитца, Гундерсена-Дженсена и Круз-Орайва).

Исследование проведено на двух моделях стресса: хроническом непредсказуемом стрессе (ХНС) и интероцептивном стрессе (ИС). Использовали самцов крыс линии Вистар. Для подсчета клеток использовали метод оптического фракционатора с макросектором (ОФМ). ХНС вызывал увеличение дисперсии числа клеток микроглии в гиппокампе крыс приблизительно в два раза по сравнению с контролем. ИС моделировали однократной внутривенной инъекцией бактериального липополисахарида (ЛПС). В этом эксперименте в центре нашего внимания находились минералкортикоидные рецепторы (МР), необходимые для осуществления эффектов гормона стресса кортикостерона, и их роль в развитии нейровоспаления. МР ингибировали введением спиронолактона подкожно за час до введения ЛПС. Достоверных отличий по числу микроглиальных клеток в полях гиппокампа СА1 и СА3 обнаружено не было.

Для обоих экспериментов оценки коэффициента ошибки, проведенные различными методами, дали значение 4%, что меньше межиндивидуальной вариабельности внутри одной группы. Следовательно, метод ОФМ дает достаточно точную для сравнительного анализа групп оценку числа клеток в структуре.

Работа поддержана грантом РНФ № 14-25-00136.

### **ВИЗУАЛИЗАЦИЯ УЛЬТРАТОНКИХ ПЕРЕСТРОЕК АЛЬФА-АКТИНИНА В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ХИМИОТЕРАПИИ**

**Фурман О.Е.**<sup>1</sup>, **Клементьева Н.В.**<sup>2</sup>, **Загайнова Е.В.**<sup>2</sup>, **Лукьянов К.А.**<sup>2,3</sup>, **Мишин А.С.**<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Нижегородский национальный исследовательский государственный университет имени Н.И.Лобачевского, Нижний Новгород, Россия; <sup>2</sup>ГБОУ ВПО Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава РФ, Нижний Новгород, Россия; <sup>3</sup>ФГБУН Институт биоорганической химии имени М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

*furmanolya18@gmail.com*

Создание новых препаратов, направленно воздействующих на клеточные структуры и процессы, важно для развития противоопухолевой терапии. Актин и актин-связывающие белки, как одни из основных компонентов клетки, могут быть мишенью химиопрепаратов. В связи с субдифракционными размерами белков актинового цитоскелета для их полноценной визуализации необходимы методы высокоразрешающей

флуоресцентной микроскопии. Цель работы – исследование ультратонких перестроек альфа-актинина в опухолевых клетках при воздействии противоопухолевых препаратов и экспериментальных химических агентов методом флуоресцентной высокоразрешающей микроскопии. Работы проводилась на клетках рака шейки матки человека HeLa Kyoto, в которых актин-связывающий белок альфа-актинин был мечен красным флуоресцентным белком TagRFP. В качестве химиотерапии использовали таксол, внедренный в клиническую практику, и экспериментальный химический агент цитохалазин D. Применялись методы трансфекции клеток эукариот, МТТ-тест, локализационная микроскопия единичных молекул. На клетках HeLa Kyoto были определены полулетальные концентрации препаратов. Они составили 0,078 мкг/мл и 4,6 мкг/мл для таксола и цитохалазина D, соответственно. Далее были получены клетки, временно экспрессирующие TagRFP-меченный альфа-актинин. В условиях высокоразрешающей микроскопии на основе TagRFP был визуализирован альфа-актинин в клетках без добавления химиопрепаратов (контроль) и с добавлением таксола или цитохалазина D. Затем был проведен локализационный анализ данных, в результате чего были реконструированы изображения альфа-актинина со сверхвысоким разрешением в контрольном и опытных образцах. В случае с цитохалазином D перестройки цитоскелета обнаруживались уже после 1-2 часов инкубации, что могло быть связано с быстрой агрегацией актина. Отмечалось образование точечных субдифракционных структур альфа-актинина, распределенных по всему периметру клетки. При инкубации клеток с таксолом перестройки в цитоскелете выявлялись через 18-20 часов. Возможно, отсроченный эффект действия препарата был связан с необходимостью митотического деления. В клетках наблюдалось увеличение размеров фокальных контактов и реорганизация филаментов. Таким образом, с помощью метода флуоресцентной высокоразрешающей микроскопии нами были визуализированы ультратонкие перестройки альфа-актинина в опухолевых клетках HeLa Kyoto под воздействием таксола и цитохалазина D. Показано, что мы можем детектировать ранний ответ опухолевых клеток на действие химиотерапии.

### МОДУЛЯЦИЯ ВХОДА $Ca^{2+}$ ВО ВКУСОВЫХ КЛЕТКАХ ПРИ ВОЗМОЖНОМ УЧАСТИИ ГЕПТАСПИРАЛЬНОГО РЕЦЕПТОРА ВНЕКЛЕТОЧНОГО $Ca^{2+}$

**Черкашин А.П., Фадеев П.Ю.**

ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия

*a.p.cher@yandex.ru*

Вкусовая почка – это плотный ассоциат вкусовых клеток нескольких типов, в котором межклеточное пространство на два порядка меньше внутриклеточного. В силу этого, концентрация внеклеточных ионов, включая ионы  $Ca^{2+}$ , не остается постоянной при изменении электрической активности клеток вкусовой почки. Вкусные клетки типа III образуют классические химические синапсы, в которых выброс нейромедиатора инициируется входом наружного  $Ca^{2+}$  через потенциал-зависимые (ПЗ)  $Ca^{2+}$  каналы. Истощение наружного  $Ca^{2+}$  за счет активности других клеток должно восприниматься данной клеткой как изменение интенсивности вкусового стимула. Это фактически является ложной информацией для мозга, и поэтому в клетках типа III должен существовать механизм, который обеспечивает инвариантность выброса нейромедиатора в определенном диапазоне концентраций наружного  $Ca^{2+}$ . Такой механизм мог бы использовать в качестве сенсора внеклеточного  $Ca^{2+}$  гептаспиральный рецептор CASR (extracellular  $Ca^{2+}$  sensing receptor), который функционирует во вкусовых клетках типа III.

Для проверки данной идеи нами анализировалась зависимость входа  $Ca^{2+}$  от концентрации внеклеточного  $Ca^{2+}$ . Вход  $Ca^{2+}$  регистрировался с помощью метода микрофотометрии и  $Ca^{2+}$  зонда Fluo-4 ( $Ca^{2+}$  imaging). Вкусные клетки типа III загружались Fluo-4 и затем электрически стимулировались с использованием метода patch clamp по протоколу, который моделировал серию потенциалов действия, которые возникают при воздействии на клетку вкусового стимула. Нами анализировалась зависимость величины  $Ca^{2+}$  ответов, инициируемых деполяризацией клетки, от концентрации наружного  $Ca^{2+}$ . Оказалось, что величина кальциевого ответа практически не зависела от концентрации наружного кальция в диапазоне от 0,5 до 5 мМ  $Ca^{2+}$ . Также анализировались ПЗ  $Ca^{2+}$  токи в клетках типа III. Оказалось, что амплитуда  $Ca^{2+}$  токов не зависела от концентрации наружного  $Ca^{2+}$  в несколько меньшем диапазоне концентраций 1-2 мМ  $Ca^{2+}$ . Эти факты невозможно объяснить, используя существующие теоретические представления о механизмах ионного транспорта, если не предположить существование сенсора наружного  $Ca^{2+}$ , который контролирует активность ПЗ  $Ca^{2+}$  каналов. В качестве такого сенсора нами был рассмотрен рецептор CaSR. Нами была предложена модель, в которой вероятность открытого состояния ПЗ  $Ca^{2+}$  канала уменьшалась с ростом внеклеточного  $Ca^{2+}$  за счет активации рецептора CASR, и было получено уравнение для зависимости  $Ca^{2+}$  тока от концентрации наружного  $Ca^{2+}$ . При определенных значениях параметров модель хорошо описывала электрофизиологические данные.

При поддержке РФФИ № 16-34-00210.

## ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ГОМОЦИСТЕИНА В РАЗЛИЧНЫХ СТРУКТУРАХ МОЗГА В НОРМЕ И ПРИ МЕТИОНИНОВОЙ НАГРУЗКЕ

Черноштан К.В.<sup>1,2</sup>, Милютин Ю.П.<sup>1</sup>, Залозная И.В.<sup>1</sup>, Салтыкова Е.Д.<sup>1,2</sup>, Щербицкая А.Д.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О.Отта, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия; <sup>3</sup>ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И.М.Сеченова, Санкт-Петербург, Россия

*zayaz212@mail.ru*

Гомоцистеин (ГЦ) является продуктом превращения метионина. Повышение его уровня в сыворотке крови, называемое гипергомоцистеинемией, в современной литературе рассматривается как фактор риска развития многих патологий. Исследования показывают положительную связь между высокой концентрацией ГЦ и риском развития нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера, шизофрения, депрессия. В современной литературе существует достаточно большое количество работ, в которых описаны механизмы действия ГЦ, вызывающие гибель нейронов. Однако, согласно полученным нами ранее данным, концентрация общего ГЦ в плазме крови не всегда может служить четким критерием при оценке результатов его нейротоксических воздействий. Несмотря на хорошую проницаемость гематоэнцефалического барьера для гомоцистеина, более информативными могут оказаться данные о содержании ГЦ в исследуемых отделах мозга, так как при повышении концентрации ГЦ в крови, большинство своих токсических эффектов он реализует прямо в сосудах, влияя на клетки эндотелия, пролиферацию гладкомышечных клеток сосуда и форменные элементы крови. Целью данной работы явилось исследование содержания ГЦ в различных структурах головного мозга у крыс в норме и после метиониновой нагрузки. Материалы и методы. Эксперимент был выполнен на группах половозрелых крыс-самок линии Вистар. Первая группа животных не получала метионин, у них был измерен базовый уровень ГЦ в гипоталамусе, коре, гиппокампе и мозжечке. Второй группе животных через зонд однократно перорально вводился метионин в концентрации 0,12-0,15 г на животное. Концентрация ГЦ была измерена через 6 часов после введения. Выделенные структуры мозга были гомогенизированы. Мембраны клеток осаждали центрифугированием при 15000g в течение 5 минут. Затем полученный супернатант использовали для анализа концентрации гомоцистеина. Концентрирование исследуемых образцов проводили с использованием концентратора LABCONCO. Содержание ГЦ рассчитывали в нанограммах на миллиграмм белка. Статистическая обработка данных проведена с использованием критерия Манна-Уитни, различия считались достоверными при  $p < 0,05$ . Данные представлены как медиана [25; 75 перцентили]. Результаты. Были получены данные, свидетельствующие о том, что метиониновая нагрузка приводит к увеличению содержания ГЦ не только в сыворотке крови, но и в некоторых структурах мозга крыс. Показано, что в коре в норме наблюдается самое низкое содержание ГЦ (2,8[1,44;6,17] нг/мг белка), отмечена тенденция к повышению его через 6 часов после метиониновой нагрузки. В гипоталамусе его содержание составило 4,9[2,77;5,78] нг/мг белка. Через 6 часов также наблюдается тенденция к его повышению. В гиппокампе уровень ГЦ до введения метионина был равен 20,3[16,18;21,51] нг/мг белка, через 6 часов было отмечено достоверное его повышение. В мозжечке, при самых высоких уровнях ГЦ в норме (27,6[22,74;34,34] нг/мг белка), после введения метионина также отмечена лишь тенденция к его повышению. Известно, что гиппокамп отвечает за формирование памяти и ее консолидации. Полученные данные согласуются с другими исследованиями, в которых показано отрицательное воздействие повышенного уровня ГЦ на когнитивные функции организма.

## ОЦЕНКА РАННЕГО ОТВЕТА ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК НА ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ПО ИЗМЕНЕНИЮ УРОВНЯ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО pH

Чичагова А.А.<sup>1</sup>, Дружкова И.Н.<sup>2</sup>, Дуденкова В.В.<sup>2</sup>, Игнатова Н.И.<sup>2</sup>, Лукина М.М.<sup>2</sup>, Ширманова М.В.<sup>2</sup>,  
Загайнова Е.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Нижегородский государственный университет имени Н. И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия; ГБОУ ВПО Нижегородская медицинская академия Минздрава РФ, Нижний Новгород, Россия

*achichagova@gmail.com*

Известно, что внутриклеточный pH опухолевых клеток является более щелочным по сравнению с нормальными клетками организма, когда внеклеточный pH опухоли – более кислым. Таким образом, на мембране опухолевых клеток формируется обратный градиент pH. Показано, что наличие такого обратного градиента ведет к увеличению пролиферативной активности, уклонению клеток от апоптоза, следовательно, к невосприимчивости опухолевых клеток к лекарственным препаратам. Среди известных работ большая часть посвящена изучению влияния уровня внеклеточного pH в опухоли на доставку препаратов внутрь клеток и их эффективность. Также показано, что клетки, устойчивые к химиотерапевтическим препаратам

(например, цисплатину) имеют более щелочное значение рН внутри клетки. Однако практически отсутствуют данные об изменении внутриклеточного рН на ранних этапах химиотерапевтического воздействия, что может иметь значение для подбора оптимальных условий работы препаратов путем направленной модификации рН внутри клеток.

**Цель:** исследование динамики ранних изменений внутриклеточного водородного показателя при воздействии химиотерапевтических препаратов.

#### **Материалы и методы**

В исследовании использована клеточная линия рака шейки матки человека Hela Kyoto, трансфицированная геном белка-сенсора на рН (SynHer2), химиопрепараты таксол и цисплатин. Работа выполнена с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа LSM-710 (Carl Zeiss, Germany).

#### **Результаты исследования**

На первом этапе работы были установлены полулетальные дозы препаратов с помощью колориметрического метода оценки метаболической активности (МТТ-теста), проведена калибровка сигнала сенсора SynHer2. Затем была проведена оценка динамики изменения внутриклеточного рН при воздействии химиопрепаратов.

Установлено, что при раннем ответе опухолевых клеток на химиотерапию наблюдается защелачивание цитоплазмы, при этом динамика развития данной реакции отличается для двух препаратов. После добавления таксола в течение первых 40 минут наблюдается изменение внутриклеточного рН в щелочную сторону, затем значение внутриклеточного рН постепенно снижается, достигая минимальных значений через 24 и 48 часов после добавления препарата. При добавлении цисплатина в течение первого часа наблюдается первоначальное закисление внутриклеточной среды с последующим защелачиванием. На более поздних сроках (24 и 48 часов) после добавления цисплатина внутриклеточный рН изменяется в кислую сторону и достигает тех же значений, что и при воздействии таксола.

### **СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ, АКТИВИРУЕМЫЕ ПРОЛАКТИНОМ, В ООЦИТ-КУМУЛЮСНЫХ КОМПЛЕКСАХ ПРИ ПОДДЕРЖАНИИ КАЧЕСТВА СТАРЕЮЩИХ ЯЙЦЕКЛЕТОК**

**Шедова Е.Н., Сингина Г.Н., Тарадайник Т.Е., Лебедева И.Ю.**

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства имени Л.К. Эрнста,  
Дубровицы, Россия

*shedvek@yandex.ru*

Постовуляторное старение созревших ооцитов млекопитающих обуславливает снижение их качества, связанное, в первую очередь, с потерей способности к дальнейшему развитию. Для изучения *in vitro* процесса старения яйцеклеток, находящихся на стадии метафазы-II, используют метод пролонгированного культивирования ооцитов, позволяющий индуцировать в них молекулярные и клеточные изменения, сходные с таковыми, происходящими *in vivo*. В представленной работе были исследованы *in vitro* характер и механизмы действия гипофизарного гормона пролактина на устойчивость к апоптозу и компетенцию к эмбриональному развитию стареющих ооцитов домашней коровы (*Bos taurus taurus*). С этой целью созревшие *in vitro* ооциты коров культивировали в составе ооцит-кумулюсных комплексов в течение 12 или 24 ч в присутствии и в отсутствие бычьего пролактина (50 нг/мл) и/или ингибиторов двух протеинкиназ (Akt киназы и протеинкиназы С). После пролонгированного культивирования яйцеклетки подвергали соответственно процедуре оплодотворения или анализу апоптоза методом TUNEL. Внесение пролактина в контрольную среду старения приводило к повышению доли ооцитов, развившихся после оплодотворения до стадии бластоцисты, с  $7,2 \pm 1,3\%$  до  $12,2 \pm 1,3\%$  ( $p < 0,05$ ), но не влияло ни на долю раздробившихся яйцеклеток, ни на качество полученных бластоцист. Этот эффект пролактина не наблюдался при удалении клеток кумулюса. Ингибитор протеинкиназы С калпостин С (0,5 мкМ) и ингибитор Akt киназы трицирибин (25 мкМ) также элиминировали действие гормона, понижая выход бластоцист до контрольного уровня ( $5,5-6,0\%$ ,  $p < 0,05$ ). При этом трицирибин был способен снижать относительное число бластоцист и в контрольной среде (до  $2,7\%$ ,  $p < 0,05$ ). Кроме того, пролактин уменьшал частоту апоптотической дегенерации стареющих ооцитов с  $46,5 \pm 6,9\%$  (контроль) до  $18,0 \pm 4,9\%$  ( $p < 0,01$ ). В присутствии калпостина С (1 мкМ) не было обнаружено супрессирующего влияния гормона на апоптоз ооцитов. Хотя трицирибин (50 мкМ) повышал долю ооцитов с признаками апоптоза в среде с пролактином (до  $42,3 \pm 7,4\%$ ,  $p < 0,05$ ), эта доля была значительно ниже, чем в среде, содержащей только ингибитор Akt киназы ( $61,8 \pm 4,1\%$ ,  $p < 0,05$ ). Полученные данные свидетельствуют о том, что пролактин может поддерживать способность стареющих яйцеклеток к развитию, подавляя в них апоптотические процессы путем повышения активности протеинкиназы С в ооцит-кумулюсных комплексах. Работа выполнена при финансовой поддержке Федерального агентства научных организаций.

## АНАЛИЗ ФАРМАКОКИНЕТИКИ МОЛЕКУЛЯРНОГО РОТОРА BODIPY-C10 И МИКРОВЯЗКОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК *IN VIVO*

Шимолина Л.Е.<sup>1</sup>, Ширманова М.В.<sup>2</sup>, Куимова М.К.<sup>3</sup>, Клапшина Л.Г.<sup>4</sup>, Загайнова Е.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Нижегородский государственный университет имени Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия; <sup>2</sup>ГБОУ ВПО Нижегородская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения Российской Федерации, Нижний Новгород, Россия; <sup>3</sup>Имперский колледж Лондона; <sup>4</sup>ФГБУН Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН, Нижний Новгород, Россия

*shimolina.l@mail.ru*

Одним из важнейших параметров, определяющих физиологическое состояние клетки, является вязкость. На сегодняшний день этот параметр мало изучен в опухолевых клетках и ткани. С появлением флуоресцентных молекулярных роторов появилась возможность измерения локальной микровязкости в живых клетках методом FLIM (Fluorescence Life-time Imaging Microscopy).

Целью работы было исследование накопления флуоресцентного молекулярного ротора BODIPY-C10, солюбилизованного полимерными щётками, в опухоли животного, оценка концентрации ротора в плазме крови, а также анализ микровязкости опухолевых клеток.

В работе были использованы мыши линии Balb/c с привитой опухолью СТ26. Доза внутривенно введенного молекулярного ротора составила 5 мг/кг. Флуоресцентный имиджинг осуществлялся *in vivo* на установке IVIS-Spectrum (Caliper Life Sciences, США) до введения ротора, через 10 мин, 1, 2, 5, 24, 48, 144 часа после инъекции. Количественное определение ротора в плазме крови проводили методом спектрофлуориметрии, производя забор крови из ретроорбитального синуса в тех же временных точках. Для флуоресцентной микроскопии с временным разрешением использован многофотонный томограф MPTflex (JepLab, Германия). Микроскопические изображения опухоли получали *in vivo* в течение первых 5 ч и через 24 ч после инъекции.

Результаты исследования показали, что период полувыведения молекулярного ротора BODIPY-C10 из крови составляет 3 ч, время полного выведения составляет более 48 часов. Обнаружено, что максимум накопления ротора в опухолевой ткани составляет 6 ч. Через 48 ч флуоресценция опухоли снижалась, что указывает на выведение из нее исследуемого соединения. Была получена серия FLIM-изображений с поверхности опухоли, которые показали, что в течение первых часов BODIPY-C10 имеет диффузный характер распределения в клетках опухоли. Характерное время жизни BODIPY-C10 в опухолевых клетках составляло 2,1-2,3 нс, что соответствует вязкости 240-290 сП.

Работа поддержана РФФИ (проект № 15-02-05189).

## ОЦЕНКА УРОВНЯ ТРАНСКРИПЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСПРЕССИОННЫХ МИШЕНЕЙ БЕЛКА НЕСФАТИН-1 ПРИ ВНУТРИБРЮШИННОМ ВВЕДЕНИИ ЕГО СИНТЕТИЧЕСКИХ АНАЛОГОВ БЕЛЫМ КРЫСАМ

Шипилова А.А., Рудько И.О.

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

*alen.shipilova2011@yandex.ru*

Контроль пищевого поведения, в частности смена голода и насыщения, осуществляется пищевыми регуляторами. Одним из таких регуляторов пептидной природы является несфатин-1. Он состоит из 82 аминокислот и представляет собой продукт белка-предшественника нуклеобиндина-2, экспрессирующегося в некоторых областях мозга, в первую очередь, в гипоталамусе, а также в периферических тканях. Ответственным за функциональное действие пептида считается его центральный сегмент, состоящий из 30 аминокислот. Несфатин-1 способен оказывать влияние на потребление пищи, показан его анорексигенный эффект, а также выявлено, что уровень несфатина-1 у людей, страдающих ожирением, оказывается пониженным в сравнении с людьми с нормальным весом. Связь несфатина-1 с холецистокинергической и серотонинергической системами мозга позволяет предположить влияние пептида именно на психическую составляющую нарушений пищевого поведения. Цель нашей работы состояла в выявлении экспрессионных мишеней белка несфатин-1 и оценки изменения в уровне их транскрипционной активности при парентеральном введении его синтетических фрагментов. Используя биоинформационный анализ, нами были выявлены экспрессионные мишени несфатина-1. Среди них наиболее интересными являются кодирующие половые гормоны гены *Gnrh1* и *Lhb*, изменения в экспрессии которых могут объяснять гендерные различия при нарушениях пищевого поведения. Ген *Kiss1*, продукт которого активирует экспрессию половых гормонов, в свою очередь, регулируется несфатином-1. Работа выполнена на крысах линии Wistar. Синтетические пептиды (Nesf-8, Nesf-18, Nesf-27c) вводились внутривенно в дозе 100 мкг на крысу в течение 14 дней. Для которых нами получены данные об их способности при курсовом парентеральном введении оказывать продепрессивное и анорексигенное



действие в поведенческих тестах, сходное с описанными в литературе эффектами самого несфатина-1. По окончании курсового введения пептидов была выделена тотальная РНК из гипоталамуса и наработана кДНК. Оценку транскрипционной активности генов *Kiss1*, *Gnrh1* и *Lhb*, а также референсного гена *Gapdh* проводили методом ПЦР в режиме реального времени. Нами показано, что длительное увеличение уровня несфатина в организме животных при курсовом внутрибрюшинном введении его синтетических аналогов вызывает изменения в уровне транскрипционной активности генов *Kiss1*, *Gnrh1* и *Lhb*. Данные изменения имеют гендерные различия, согласуются с изменениями в поведении животных в поведенческих тестах и свидетельствуют об участии исследованных генов в реализации эффектов пептида. Работа поддержана грантом РФФИ № 13-04-02188.

### ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ GDNF НА СОХРАНЕНИЕ СТРУКТУРНОГО И ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ НЕЙРОННЫХ СЕТЕЙ В УСЛОВИЯХ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ

Шишкина Т.В.<sup>1,2</sup>, Мищенко Т.А.<sup>1,2</sup>, Митрошина Е.В.<sup>1,2</sup>, Астраханова Т.А.<sup>1</sup>,  
Мухина И.В.<sup>1,2</sup>, Ведунова М.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Нижегородский государственный университет имени Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия; <sup>2</sup>ГБОУ ВПО Нижегородская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения Российской Федерации, Нижний Новгород, Россия

*schischkina.tatiana2012@yandex.ru*

Ишемия головного мозга является одним из социально-значимых заболеваний, с высокой степенью инвалидизации и смертности. Нарушение кровотока запускает целый каскад патологических изменений в тканях мозга, итогом которых является гибель клеток по механизмам некроза и апоптоза. Основными повреждающими факторами при ишемии являются гипоксия, глюкозная депривация и глутаматная эксайтотоксичность. В настоящее время остро стоит вопрос поиска веществ, способных поддерживать жизнеспособность и функциональную активность клеток в стрессогенных условиях. Особый интерес вызывает изучение нейротрофических факторов, в том числе глиального нейротрофического фактора (GDNF), регулирующего многие клеточные процессы в течение развития и в зрелом мозге.

Материалом для исследований служили первичные культуры клеток гиппокампа, полученные от 18-дневных мышинных эмбрионов. Для изучения защитного действия GDNF на 14 день развития культуры производилось моделирование острой нормобарической гипоксии.

Проведенные исследования показали, что моделирование острой гипоксии приводит к резкому увеличению числа мертвых клеток в культуре (в 4,5 раза), и, как следствие, к полному угнетению спонтанной биоэлектрической активности нейронных сетей к 7 дню постгипоксического периода. Превентивное добавление GDNF 1нг/мл нивелирует отрицательные последствия гипоксии, повышая устойчивость клеток и сохраняя основные показатели спонтанной биоэлектрической активности. Оценка изменения структуры сети с помощью метода корреляционного анализа выявила, что гипоксия вызывает упрощение внутренней структуры нейронной сети первичной культуры клеток гиппокампа. Кроме того, достоверно возрастает время передачи сигнала от электрода к электроду (в 4,6 раз,  $p < 0,05$  ANOVA). Изменение функциональной структуры сетевой пачки в сторону упрощения может быть объяснено гибелью части функционально значимых нейронов. Применение GDNF способствует сохранению сложной архитектуры сети, ее основных хаббов, однако время передачи импульсов так же достоверно выше ( $p < 0,05$  ANOVA), чем в интактной группе.

Для оценки возможных молекулярных механизмов реализации нейропротекторного действия GDNF, было исследовано его влияние на экспрессию мРНК GluR2 субъединицы AMPA-рецепторов. Было обнаружено, что гипоксия снижает экспрессию мРНК GluR2. Превентивное введение GDNF нивелирует данный эффект, способствуя увеличению количества клеток в культуре экспрессирующих мРНК GluR2, тем самым, может участвовать в синаптической пластичности в условиях стресса.

### ВОССТАНОВЛЕНИЕ МОТОРНОГО ПОВЕДЕНИЯ ЗОЛОТЫХ РЫБОК В УСЛОВИЯХ ОБРАТИМОЙ МОНОКУЛЯРНОЙ ДЕПРИВАЦИИ

Штанчаев Р.Ш., Пенькова Н.А., Алилова Г.А., Михайлова Г.З.

ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушино, Россия

*rshtanch@mail.ru*

Известно, что зрительная стимуляция в сочетании с физическими упражнениями (бегом) помогает мышам излечиться от слепоты, вызванной временной монокулярной депривацией (ВМД) на ранних этапах жизни, причем ни бег, ни зрительная стимуляция по отдельности не изменяли активность

нейронов зрительной коры мышей, подвергнутых ВМД. Предположено, что данный эффект обусловлен усилением функционирования монокулярной области глаза, который не подвергался ВМД, с восстановлением нейронов, активных во время бега.

Определенный интерес в этом отношении представляют рыбы, у которых значительная часть поля зрения представлена монокулярной областью, что, безусловно, влияет на характер зрительно-двигательных рефлексов и локомоции. Кроме того, командные ретикулоспинальные маунтеровские нейроны (МН) рыб можно использовать как тест-объект для изучения оптомоторной интеграции на фоне ВМД. МН, во-первых, активизируются во время зрительной стимуляции и функционируют как связующее звено между активностью совершения поворотов и следованием за движущимися визуальными раздражителями, а во-вторых, отвечают за латерализацию моторного поведения, которую можно применить для количественной оценки зрительных реакций.

Ранее было показано, что обратимая заклепка глаза у золотых рыбок приводит к стойкому изменению моторной асимметрии животных и усилению функциональной активности МН, временно переставшего принимать зрительные импульсы. Было предположено, что усиленная афферентная нагрузка в тренировочном режиме на МН, в сочетании с глицином, известным нейротрофическим и нейропротекторным фактором, представленным, к тому же, в качестве одного из главных тормозных нейромедиаторов на маунтеровских клетках, способна привести к возвращению измененного двигательного поведения рыбок в дооперационное состояние.

Для зрительной нагрузки использовали адаптацию к оптокинетической стимуляции в 15-дневном тренировочном режиме. Было показано, что адаптация к оптокинетической стимуляции, контралатеральной к предпочитаемой стороне поворотов и стороне депривации, в сочетании с глицином приводит к возвращению среднего коэффициента моторной асимметрии (отношение числа поворотов в предпочитаемую сторону к сумме всех поворотов при многодневном тестировании рыбок) к дооперационному уровню, что может свидетельствовать в пользу восстановления функции МН и указывает на применимость данного подхода в терапии нарушений зрительно-двигательного аппарата у золотых рыбок. Результаты представляются перспективными в плане разработки биомедицинской модели нарушений сенсомоторной интеграции и аномалий зрительного восприятия.

Работа поддержана грантом РФФИ №16-04-01759-а.

#### **ПРИМЕНЕНИЕ ФОТОСТИМУЛЯЦИИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ЛИМБИЧЕСКИХ СТРУКТУР МОЗГА В НОРМЕ И ПРИ ГИПЕРВОЗБУЖДЕНИИ**

**Шубина Л.В.<sup>1</sup>, Кичигина В.Ф.<sup>1</sup>, Бондарь А.Т.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

*shubina.lu@gmail.com*

Настоящая работа посвящена изучению важной проблемы нейрофизиологии и медицины – выяснению механизмов функционирования мозга в состоянии чрезмерного возбуждения и гиперсинхронизации, характерных для эпилептической судорожной активности. Эпилепсия является тяжелым нервным расстройством; при височной форме до 40% пациентов резистентны к медикаментозному лечению, что свидетельствует о недостаточном понимании механизмов данной патологии. Работа проведена на модели височной эпилепсии на морских свинках, острая судорожная активность (эпилептический статус) вызывалась введением каиново́й кислоты. В ходе работы детально изучены амплитудно-частотные характеристики фотоиндуцированных локально-полевых потенциалов в норме и во время эпилептического статуса в четырёх структурах мозга (гиппокампе, медиальной септальной области, энторинальной коре и амигдале). Выявлены значимые частотно-специфические увеличения амплитуды и их резонансный характер в ответ на фотостимуляцию во всех изучаемых структурах. При патологии (острая судорожная активность) реакции были выражены значительно резче, чем в норме, что позволяет использовать их в качестве количественной оценки. Данное исследование вносит вклад не только в понимание механизмов функционирования структур мозга в крайней степени возбуждения, но и позволит изучить механизмы формирования такой распространенной формы эпилепсии, как фотосенситивная. Кроме того, количественная оценка параметров фотоиндуцированных электрических реакций в мозге позволит объективно оценивать эффективность противосудорожной терапии. Работа поддержана грантами РФФИ №№14-44-03607, 15-04-05463, 16-34-00457.

## ВЛИЯНИЕ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ НА СОДЕРЖАНИЕ КАТЕХОЛАМИНОВ В НАДПОЧЕЧНИКАХ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС

Щербицкая А.Д.<sup>1,2</sup>, Черноштан К.В.<sup>3</sup>, Милюткина Ю.П.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБНУ Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия; <sup>3</sup>ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

*nastusiq@gmail.com*

Внутриутробный период развития организма – это время, когда формируются системы, определяющие становление механизмов приспособления к условиям внеутробной жизни. Огромное влияние на процесс адаптации к постнатальной жизни оказывает симпато-адреналовая система, состояние которой отражают её медиаторы и гормоны. К основным патологическим факторам, способным нарушать механизмы саморегуляции и вызывать стойкие отдаленные последствия, относится пренатальная гипергомоцистеинемия (ГГЦ). В связи с этим, значительный интерес представляет изучить влияние внутриутробной ГГЦ на содержание катехоламинов у крыс в раннем онтогенезе, что стало целью данного исследования.

Состояние ГГЦ плода было смоделировано путем ежедневного принудительного перорального введения беременным самкам крыс линии Вистар раствора метионина. У родившихся крысят забирали кровь на 5-й, 10-й, 20-й и 30-й день жизни для определения концентрации катехоламинов с помощью иммуноферментного анализа, а также были выделены надпочечники, в которых проводили анализ содержания норадреналина (НА) и адреналина (АД) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Было показано, что в надпочечниках крысят, перенесших пренатальную ГГЦ, содержание НА остается в норме до 20-го дня жизни, но на 30-й происходит его снижение. Отмеченное снижение сопровождается повышением данного катехоламина в крови. Однако на 20-й день жизни уровень НА в крови снижен, тогда как в надпочечниках его концентрация в норме. Поскольку только 7% циркулирующего НА выделяется из мозгового вещества, возможно, что изменение содержания НА в крови опытных животных связано с нарушением активации нервной системы.

Также у крысят, матери которых в течение всей беременности потребляли метионин, наблюдается повышение уровня АД в надпочечниках и крови, начиная с 10-го дня жизни. Известно, что в надпочечниках синтезируется более 90% циркулирующего АД, поэтому можно предположить, что отмеченное увеличение его уровня в сыворотке является результатом усиления его секреции хромаффинными клетками.

Таким образом, пренатальная ГГЦ оказывает существенное негативное влияние на развивающийся организм в период эмбриогенеза, вызывая изменения содержания и нарушения метаболизма катехоламинов в надпочечниках и сыворотке крови крысят различного возраста.

## ПСИХОЛОГИЧЕСКИЙ СТРЕСС КАК ФАКТОР РАЗВИТИЯ ИНФЕКЦИОННОЙ ПАТОЛОГИИ В РОТОВОЙ ПОЛОСТИ

Яблочкина Е.С.<sup>1</sup>, Горлов В.И.<sup>2</sup>, Жолдыбаева Б.С.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>КГУ Средняя образовательная школа № 81, Караганда, Казахстан; <sup>2</sup>Карагандинский государственный медицинский университет, Караганда, Казахстан; <sup>3</sup>ФГБОУ ВПО Новгородский государственный университет имени Ярослава Мудрого, Великий Новгород, Россия

*lena98\_98@list.ru*

Современный образ жизни изменил мишени воздействия стрессоров с преимущественным воздействием на центральную нервную систему. Если рассматривать психологический стресс как разновидность общего адаптационного синдрома, то можно ожидать во время экзаменов нарушение не только психологического, но и соматического состояния организма. Для изучения влияния психологического стресса на развитие инфекционной патологии полости рта мы провели сравнительный анализ изменения ситуативной тревожности, показателей оксиметрии на пальцах рук, а также количественных показателей кишечной микрофлоры и "ключевых клеток" в материале из зубо-десневых карманов у 22 учениц 11 выпускного класса. Родители всех учащихся подписали информированное согласие на участие в исследовании и соглашение о неразглашении личной информации. Исследование проводили в начале учебного года и в конце II четверти перед промежуточным тестированием о готовности к выпускным экзаменам. Для оценки ситуативной тревожности проводили тест Спилбергера-Ханина, показатели оксиметрии позволяли оценить содержание кислорода в периферических тканях, определение количественных показателей кишечной микрофлоры производили при посеве материала на среду эндо-смут, количество "ключевых клеток" определяли методом стереометрической морфометрии.

Установлено, что высокий уровень ситуативной тревожности в начале учебного года выявлялся достоверно реже, чем в конце II четверти (4 (18,2 ± 8,1%) и 17 (77,3 ± 8,9%) соответственно;  $p < 0,05$ ). У 18 (81,8 ± 8,2%) учениц снизились показатели оксиметрии, что достоверно превысило частоту стабильных показателей ( $p < 0,05$ ). При этом в конце II четверти у 16 (72,7 ± 9,4%) учениц достоверно возросло количество кишечной микрофлоры в материале из зубо-десневых карманов ( $p < 0,05$ ). Более того, у 19 (86,4 ± 7,3%) отмечался достоверный рост количества "ключевых клеток" ( $p < 0,05$ ). То есть, при увеличении интенсивности ситуативной тревожности и выбросе катехоламинов развивался спазм периферических сосудов (снижение показателей оксиметрии). Недостаток кровообращения приводил к гипоксии и снижению защитных свойств слизистой оболочки полости рта (увеличение кишечной микрофлоры и количества "ключевых клеток"). То есть, психологический стресс у учениц 11 выпускных классов создавал условия для развития инфекционных заболеваний полости рта.

### СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АМИЛОИДНЫХ СВОЙСТВ ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ ИЗОФОРМ ТАЙТИНА *IN VITRO*

Якупова Э.И.<sup>1,2</sup>, Бобылёв А.Г.<sup>1,2</sup>, Вихлянцев И.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушино, Россия

*yakupova.mira@mail.ru*

Тайтин – гигантский эластичный белок поперечно-полосатых и гладких мышц позвоночных животных, открытый в начале 80-х годов прошлого века (тайтин гладких мышц открыт в 2002 г.). В саркомерах сердечной и скелетных мышц позвоночных тайтин является третьим по количеству (после актина и миозина) белком. Более ~90% всей молекулы тайтина состоит из повторяющихся иммуноглобулин-подобных (IgC2) и фибронектин-подобных (FnIII) доменов с  $\beta$ -складчатой структурой. Известно, что около ~10% Ig и fnIII доменов тайтина имеют более 40% идентичности аминокислотной последовательности. Как предполагается, мультидоменные белки, такие как тайтин, более склонны к агрегации.

Нами были проведены сравнительные *in vitro* исследования амилоидных свойств двух гладкомышечных изоформ тайтина с м.м. 1500 и 500 кДа. С помощью электронной микроскопии показано, что оба белка способны формировать *in vitro* аморфные агрегаты и пучки линейных фибрилл. Обнаружена способность обеих изоформ гладкомышечного тайтина связываться с красителями Конго красным и тиофлавином Т, что подтверждает наличие у них амилоидных свойств. Методом кругового дихроизма не выявлено присутствия альфа-спиральных участков во вторичной структуре белков, находящихся как в агрегированном, так и молекулярном состоянии, что позволяет предполагать высокое содержание бета-складчатой структуры. Обнаружено выраженное цитотоксическое действие агрегатов обеих изоформ тайтина на гладкомышечные клетки аорты быка. В частности, 50% гибель клеток (IC50) наблюдалась после 72 часов инкубации с белком при его концентрации 70 мкг/мл. С помощью конфокальной микроскопии показано, что цитотоксическому эффекту агрегатов тайтина предшествовала дезорганизация актинового цитоскелета гладкомышечных клеток аорты быка.

Сделано предположение о возможном участии гладкомышечного тайтина в амилоидогенезе, в частности, в амилоидозе аорты.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 14-04-00283.

## **СЕКЦИЯ «БИОМЕДИЦИНА И БИОФАРМАЦЕВТИКА»**

### **THE STUDY OF GENES POTENTIAL INVOLVED IN CARDIOVASCULAR DISEASES**

**Abdusa D.<sup>1</sup>, Paliu I.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>University of Academy of Sciences of Moldova, Republic of Moldova; <sup>2</sup>Institute for Mother and Child Health Care, Chisinau, Republic of Moldova

*abdusadaniela@yahoo.com*

Cardiovascular disease is the leading global cause of death, accounting for 17.3 million deaths per year, a number that is expected to grow to more than 23.6 million by 2030. Over the past century, a key goal of biomedical research has been to identify the specific genes responsible for trait variation in humans. This is particularly important as some diseases like cardiovascular pathologies.

In order to identify genes potential involved in CVDs we conducted exploratory analysis of microarray data sets according to the strategy of extraction and expression data analysis developed by our research group within Center of Functional Genetics, University of Academy of Science of Moldova. Through analysis of expression profiles of genes potentially involved in CVDs, from the microarray technology, stored in NCBI-GEO database we obtained 52 genes differentially expressed in CVDs. Knowledge about genes with different expression pattern in relation to cardiovascular diseases could potentially lead to new therapeutic targets and give researchers a better understanding of the pathogenesis of CVD.

Using GeneCards and DAVID Bioinformatics Resources we selected 18 genes for quantitative gene expression studies by Real-Time PCR. This genes are related with important pathway associated with CVDs. According to KEGG PATHWAY Database, the most significant metabolic pathways involving this genes are: Cytokine-cytokine receptor interaction, Chemokine signaling pathway, PI3K-Akt signaling pathway, AMPK signaling pathway, TGF-beta signaling pathway, Focal adhesion, ECM-receptor interaction, etc.

Therefore, we enrolled 55 patients with cardiovascular pathology in the study. The cardiovascular patient group include 14 patients with coronary artery disease, 13 patients with coronary artery disease associated with atrial fibrillation, 13 patients with cardiomyopathy and 15 patients with congenital aortic stenosis. The control group include 14 healthy individuals. The subjects enrolled were the in-patients or out-patients in Institute of Cardiology, Chisinau and Institute for Mother and Child Health Care, Chisinau, Republic of Moldova. Currently, it is working on expression data analysis of genes potential involved in CVD obtained by Real-Time PCR. Knowledge about genes with different expression pattern in relation to cardiovascular diseases could potentially lead to new therapeutic targets and give researchers a better understanding of the pathogenesis of CVD.

### **BACILLARY PROTEASES AS POTENTIAL AGENTS FOR ATHEROSCLEROSIS PREVENTION**

**Danilova Iu.V.<sup>1</sup>, Khaitlina S. Yu.<sup>2</sup>, Sharipova M.R.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Kazan (Volga-region) Federal University, Kazan, Russia; <sup>2</sup>Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia

*danilova146@mail.ru*

The specific role in the cardiovascular disease development belongs to the activity of matrix metalloproteinases (MMP), especially to gelatinase-B (MMP-9). It is very dangerous the rupture of atherosclerotic plaques which can cause thrombosis of the vascular bed. The MMP-9 acts on the collagen fibers of atherosclerotic plaque leading to its softening and rupture. *Bacillus pumilus* proteases are in the focus of practical medicine. In this study we investigated bacillary proteases activities towards MMP-9 of murine fibroblast (3T3Balb SV40), mesenchymal (MSC) and Hela-M cells. Proteolytic enzymes of *B. pumilus* 7P, belonging to different classes of proteases were objects of study: two serine proteases (subtilisin-like proteinase and the glutamyl endopeptidase) and metalloendopeptidase. All proteases were isolated from the culture broth of the recombinant *B. subtilis* strain and they were obtained in homogenous form.

The treatment of cell lines conditioned medium by subtilisin-like protease and metalloendopeptidase did not result in gelatin hydrolysis. Evidently, in such conditions MMP-9 maintain its activity. In contrast, there was no zones gelatin hydrolysis by MMP-9 after glutamyl endopeptidase treatment for all cell lines conditioned medium. Presumably, the glutamyl endopeptidase is able to hydrolyze the peptide bond at a glutamic acid residue in the active site of gelatinase-B. Thus, glutamyl endopeptidase of *B. pumilus* can be considered as a factor reducing matrix metalloproteinases-9 and as a promising drug against the cardiovascular diseases.

This work was funded by the subsidy of the Russian Government to support the Program of Competitive Growth of Kazan Federal University.

## АНАЛИЗ БИОРАСПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕННО-ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА АНТИОНКОРАН-М

Алексеев И.В.<sup>1,2</sup>, Сасс А.В.<sup>2</sup>, Безбородова О.А.<sup>3</sup>, Немцова Е.Р.<sup>3</sup>, Якубовская Р.И.<sup>3</sup>, Свердлов Е.Д.<sup>1,2</sup>  
<sup>1</sup>ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт биоорганической химии им. ак. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия; <sup>3</sup>ФГБУ МНИОИ им. П.А. Герцена, Москва, Россия

*irina.alekseenko@mail.ru*

Генно-терапевтический противоопухолевый препарат АнтионкоРАН-М представляет собой комплекс плазмидной ДНК, содержащей ген тимидинкиназы вируса простого герпеса (HSVtk) и ген цитокина гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF), и блок-сополимера ПЭГ (полиэтиленгликоль)-ПЭИ (полиэтиленимин)-ТАТ (ТАТ-пептид). Препарат находится на завершающей стадии доклинических испытаний. Ранее было показано, что препарат эффективен и не обладает биологически значимой острой и хронической токсичностью.

Целью данного этапа работы было исследование биораспределения препарата АнтионкоРАН-М после внутриопухолевого введения. Для этого мышам с привитой саркомой S37 однократно внутриопухолево вводили препарат в дозе 0,04 мкг ДНК/мм<sup>3</sup> опухоли, далее спустя 1, 2, 5, 7, 10, 14 и 21 суток после введения препарата мышам забивали и извлекали опухоль, регионарные и отдаленные лимфатические узлы, легкие, печень, селезенку, почки, фрагменты кишечника, кожи и мышц, также для анализа забирали кровь. Присутствие препарата в образцах анализировали методами ПЦР и иммуноблотинга. Наличие ДНК препарата АнтионкоРАН-М было детектировано методом ПЦР в образцах опухоли каждой из временных точек, а также в регионарных лимфоузлах через 1, 2, 5, 7 и 21 сутки и в отдаленных лимфоузлах через 1 и 2 суток после введения. ДНК не была идентифицирована в остальных образцах органов и тканей. При этом во всех образцах белок HSVtk не был идентифицирован методом вестерн-блот анализа, хотя белок гена домашнего хозяйства β-актин детектировался в достаточном количестве во всех образцах. В результате наличие препарата АнтионкоРАН-М в опухоли и регионарных лимфоузлах после внутриопухолевого однократного введения было показано методом ПЦР, но не было идентифицировано методом вестерн-блот анализа, что может быть обусловлено низкой концентрацией белка HSVtk в лизатах, полученных из замороженных тканей ввиду значительного разведения при приготовлении экстрактов и недостаточной чувствительностью коммерческих антител.

Таким образом в предварительных экспериментах было показано, что после внутриопухолевого введения генно-терапевтический препарат АнтионкоРАН-М в течение длительного времени локализуется преимущественно в опухоли и регионарных лимфоузлах и не накапливается в почках и печени.

Исследование поддержано грантом Президента России МК-6185.2015.4 и РФФИ № 16-34-60185 мол\_а\_дк.

## ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ОЖОГОВЫХ РАН С ПРИМЕНЕНИЕМ ГИДРОХЛОРИДА АСКОРБАТА ХИТОЗАНА НА МОДЕЛИ КРЫС

Альзубаиди А.Ф.А., Малинкина О.Н., Ковалева Я.О., Зудина И.В., Шиповская А.Б.  
ФГБОУ ВПО Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия

*yana-kovaleva94@mail.ru*

Лечение термических поражений в практике хирургии до настоящего времени остается одной из наиболее сложных проблем. Заживление обширных и глубоких ожогов нередко сопровождается развитием келоидных и гипертрофических рубцов, ведущих к развитию деформаций и контрактур, и, как следствие, инвалидизации и ухудшению качества жизни пострадавших. Поэтому разработка высокоэффективных противоожоговых средств до настоящего времени остается актуальной задачей.

Цель данного исследования – оценка эффективности применения гелеобразной формы комплексной соли, приготовленной на основе аскорбиновой кислоты и гидрохлорида хитозана со степенью деацетилирования 79 моль.% (ЗАО «Биопрогресс», РФ), для лечения ожогов в эксперименте на животной модели.

Термические ожоги IIIБ степени моделировали в межлопаточной области половозрелых беспородных крыс-самок со средней массой тела 300 г. Сформировавшиеся на 3-й день струпы удаляли методом острой некрэктомии. Все манипуляции с животными проводили под эфирным наркозом. Животным из экспериментальной группы на обнаженную раневую поверхность однократно накладывали небольшое количество геля на основе гидрохлорида аскорбата хитозана. В контрольной группе на рану ежедневно в течение 10 дней наносили мазь Левомеколь. Оценивали общее состояние животных, скорость купирования воспаления и продолжительность отдельных фаз раневого процесса. Учет темпов контракции раны осуществляли с помощью градуированных прозрачных пленочных измерителей каждые 7 суток вплоть

до ее полного заживления. Период эпителизации рассчитывали как среднее значение срока отторжения раневой корочки при полной эпителизации поверхности раны. Об эффективности применения препарата судили путем сравнения динамики заживления ран в экспериментальной и контрольной группах.

Проведенные исследования показали, что животные хорошо переносят местное применение гелеобразной формы гидрохлорида аскорбата хитозана. Присутствие препарата на ране не оказывало раздражающего и токсического действия, не вызывало аллергических или каких-либо иных отрицательных реакций. За весь период наблюдения не было отмечено ни одного случая нагноения раны или осложненного течения раневого процесса. По сравнению с контролем в экспериментальной группе отмечались более высокие темпы контракции раны, а период эпителизации раны был короче в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, доклинические исследования продемонстрировали высокую эффективность применения гидрохлорида аскорбата хитозана при лечении термических поражений кожи. Видится целесообразным дальнейшее изучение возможности применения данного препарата для лечения ран донорских участков, длительно незаживающих ран, трофических язв, пролежней и других дефектов кожного покрова.

### **HER2-СПЕЦИФИЧНЫЙ ЛИПОСОМАЛЬНЫЙ ПРЕПАРАТ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЭКЗОТОКСИНА А ДЛЯ НАПРАВЛЕННОЙ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ**

**Антонова Н.О.<sup>1</sup>, Гурьев Е.Л.<sup>1</sup>, Третьяков А.А.<sup>1</sup>, Юдинцев А.В.<sup>1</sup>, Воденев В.А.<sup>1</sup>, Балалаева И.В.<sup>1</sup>, Деев С.М.<sup>1,2</sup>, Звягин А.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Москва, Россия

*Antonova-bio@yandex.ru*

Главным минусом большинства противоопухолевых препаратов является отсутствие специфичности и высокий уровень системной токсичности. В связи с этим актуальной задачей является разработка способов направленной доставки токсических агентов в опухоль. Одним из оригинальных подходов является заключение терапевтических агентов в специфически направленные наноразмерные «контейнеры».

Целью данной работы было получение HER2-специфичного липосомального препарата рекомбинантного бактериального экзотоксина А (ETA). Для создания препарата использовали однослойные липосомы диаметром 100 нм, состоящие из смеси фосфолипидов. Для возможности визуализации липосом в их состав был включен конъюгат фосфатидилэтаноламина (ФЭ) с родамином. Липосомы получали методом экструзии. В состав липосом был включен конъюгат ФЭ с полиэтиленгликолем-2000 (ПЭГ-2000). Включение в состав липосом рекомбинантного ETA, лишённого природного направляющего домена, производилось в момент экструзии. Очистка от невключившегося белка производилась методом гель-фильтрации.

В качестве направляющей молекулы был использован высокоаффинный пептид неиммуноглобулиновой природы DARPIn9-29, специфичный к рецептору HER2, экспрессия которого характерна для многих видов опухолей. Конъюгацию липосом с DARPIn9-29 производили путем реакции с линкером нулевой длины – карбодиимидом. Конъюгаты отделяли от несвязавшегося белка методом гель-фильтрации.

Оценку эффективности связывания иммунолипосом с клетками SKBR3 (аденокарцинома молочной железы человека), гиперэкспрессирующими рецептор HER2, и HER2-негативными клетками CHO (клетки яичника китайского хомячка) проводили методом конфокальной микроскопии. Продemonстрировано селективное связывание липосом, конъюгированных с DARPIn9-29, с клетками, экспрессирующими рецептор HER2. С помощью MTT-теста показано, что ETA в липосомальной форме значительно снижает жизнеспособность клеток SKBR3, практически не влияя в тех же концентрациях на жизнеспособность клеток CHO.

Предполагается, что полученный липосомальный препарат сможет обеспечить высокую селективность доставки экзотоксина А в опухоль за счет размера липосом и направляющей молекулы, будет обладать возможностью долгое время циркулировать в крови за счет модификации липосом ПЭГ-2000, а также позволит визуализировать опухолевую ткань в диагностических целях методами флуоресцентного имиджинга за счет содержания в липосомах родамина.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (договор № 14.Z50.31.0022, соглашение RFMEFI57814X0030).

## ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНЫХ МЕХАНИЗМОВ НЕЙРОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ НЕЙРОТРОФИЧЕСКОГО ФАКТОРА BDNF В НОРМЕ И ПРИ ГИПОКСИИ

Астраханова Т.А.<sup>1</sup>, Ведунова М.В.<sup>1,2</sup>, Митрошина Е.В.<sup>1,2</sup>, Мухина И.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия; <sup>2</sup>ГБОУ ВПО Нижегородская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения Российской Федерации, Нижний Новгород, Россия

*astrahanova.tatyana@yandex.ru*

Гипоксия является ключевым звеном патогенеза разнообразных заболеваний и патологических состояний. Она играет важную роль в развитии повреждений при многих болезнях и сопровождается острой гибелью организма независимо от причин ее вызывающих. Особо чувствительны к недостатку кислорода клетки головного мозга, а в частности гиппокамп, являющийся частью лимбической системы. В связи с этим актуален вопрос о поиске веществ, способных защитить клетки головного мозга от повреждающего действия гипоксии. Среди веществ, способных контролировать метаболизм клеток мозга при кислородной недостаточности, выделяют нейротрофический фактор головного мозга BDNF (Brain derived Neurotrophic Factor), который, реализуя своё действие через TrkB рецепторы, способствует выживанию клеток. Одним из сигнальных путей, которые связаны с выживаемостью в условиях гипоксии, является активация белкового комплекса NFκB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), который контролирует экспрессию генов иммунного ответа, апоптоза и клеточного цикла.

В исследовании *in vitro* использованы культуры диссоциированных клеток гиппокампа, полученные от 18-дневных эмбрионов мышей линии CBA. На 14-й день развития культуры клеток подвергались гипоксическому воздействию. В исследуемые культуры превентивно добавляли 1нг/мл BDNF. Для оценки функциональной активности культур гиппокампа использовался РНК-детекторный зонд SmartFlare.

Для оценки изменений в функциональной активности на 1-й день после моделирования гипоксии осуществляли детекцию мРНК BDNF. Для детекции использовался РНК-детекторный зонд SmartFlare, флуоресценция которого регистрировалась гелий-неоновым лазером, с  $\lambda = 633$  нм и светофильтром с полосой пропускания 650-710 нм.

В результате экспериментов установлено, что BDNF вызывает увеличение количества клеток, в которых активируется синтез мРНК NFκB1 при нормальных условиях (различия группы «BDNF» достоверны относительно контроля). Явление активации синтеза мРНК NFκB1 в условиях кислородного голодания (гипоксии) не зафиксировано. Не выявлено достоверных различий между контрольной группой и группой подвергшейся гипоксии. Данный результат согласуется с данными других исследований. Апликация BDNF перед моделированием гипоксии достоверно не влияла на процент NFκB1-положительных клеток. В связи с этим, основываясь на результатах проделанных экспериментов, можно заключить, что в условиях гипоксии нейропротекторные свойства BDNF не связаны с активацией экспрессии белка NF-κB1.

## ИММОБИЛИЗОВАННЫЙ ФИЦИН – ДЕСТРУКТОР МИКРОБНЫХ БИОПЛЕНОК

Байдамшина Д.Р.<sup>1</sup>, Тризна Е.Ю.<sup>1</sup>, Холявка М.Г.<sup>2</sup>, Каюмов А.Р.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

*prosto-di@mail.ru*

Многие бактерии способны образовывать прочные биопленки (biofilms) – сообщество микроорганизмов, где клетки погружены в выделяемый ими полисахаридный матрикс. В составе биопленки бактерии становятся неуязвимы для защитной системы организма и устойчивы к действию антибиотиков, вследствие чего являются причиной хронических заболеваний. Поэтому одним из направлений в фармакологии является разработка препаратов, которые бы эффективно разрушали бактериальные биопленки.

Для формирования моно- и полимикробных биопленок в лабораторных условиях был проведен скрининг питательных сред, которые обеспечивали образование биопленок модельными штаммами - *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*. В результате, наиболее оптимальной была среда ВМ, успешно использованная в ранних работах. Остальные среды были менее эффективными для образования биопленок.

Для определения эффективности разрушения биопленок клетки *S. aureus*, *S. epidermidis*, *M. luteus*, *B. subtilis*, *E. coli* и *P. aeruginosa* выращивали в планшетах при 37°C на среде ВМ для образования прочной биопленки. После 72 часов культивирования, удаляли культуральную жидкость, вносили чистую среду и ферменты в конечных концентрациях 10 и 100 мкг/мл и инкубировали 24 часа. Окрашивание биопленки кристаллическим фиолетовым. Растворимый фицин разрушал биопленки всех тестируемых штаммов уже в концентрации 10 мкг/мл, за исключением *P. aeruginosa*. Имобилизованные формы были менее активны, однако биопленки *S. aureus* и *P. aeruginosa* разрушались на 30% при концентрациях иммобилизованного



фицина 10 мкг/мл (в пересчете на белок). Полученные нами данные позволили предложить растворимый и иммобилизованный фицин для разрушения биопленок *S. aureus* и *P. aeruginosa* повышением эффективности антибиотиков против этих бактерий. В отсутствие ферментов количество мертвых клеток было незначительным. При внесении растворимого и иммобилизованного фермента количество жизнеспособных клеток значительно снижалось, вероятно, благодаря разрушению биопленки и повышению доступности клеток бактерий для антибиотика.

По результатам теста Эймса и ДНК-повреждающего теста не было выявлено мутагенного действия веществ. Данные МТС-теста на клетках линии MCF7 и стволовых клетках показали отсутствие цитотоксичности соединений. Таким образом, фицин и его иммобилизованные на хитозане формы могут использоваться для борьбы с бактериальными биопленками в медицине и ветеринарии.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 15-14-00046.

### **ХИТОЗАНОВЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ - ПЕРСПЕКТИВНЫЕ АГЕНТЫ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ**

**Беланова А.А., Золотухин П.В.**

ФГАОУ ВО Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия.

*anna.belanova@icloud.com*

Хитозановые наночастицы - современная система доставки лекарственных средств на основе природного биополимера, обладающего всеми основными свойствами, предъявляемыми к системам доставки на основе наночастиц. Хитозан является биодоступным, нецитотоксичным, биоразлагаемым, обладает мукоадгезивными свойствами и может проявлять антибактериальную активность. При пероральном введении наночастицы хитозана могут осуществлять доставку лекарственного средства в ткань-мишень, защищая препараты от воздействия ферментов и различных влияний внутренней среды организма, и обеспечивать пролонгированное высвобождение препарата в ткани.

Так как системы доставки на основе наночастиц являются сегодня самой перспективной системой доставки лекарственных средств, а хитозан обладает огромным потенциалом для фармацевтических применений, актуальным становится вопрос о том, являются ли хитозановые наночастицы универсальным «доставщиком». Ответ на этот вопрос может помочь в создании фармакологических препаратов нового поколения и в совершенствовании уже существующих средств.

Целью настоящей обзорной работы стал анализ свойств хитозана, фармакокинетики и особенностей применения хитозановых наночастиц.

Анализ литературы проводился с помощью базы данных NCBI PubMed по запросу «chitosan nanoparticles». Было проанализировано 76 статей, в число которых вошли работы ведущих специалистов по изучению хитина и хитозана, в т.ч. Н. Sashiwa, R. и С. Muzzarelli, M.N.V. Ravi Kumar и A.J. Domb.

Из литературных данных было установлено, что наличие реакционноспособных функциональных групп в структуре хитозана обеспечивает большие возможности для его химических модификаций, которые предлагают широкий спектр производных хитозана с новыми свойствами. Вследствие этого, наночастицы хитозана способны доставлять различные классы соединений: пептиды и белки, малые интерферентные РНК, плазмидные ДНК, а также как гидрофобные, так и гидрофильные соединения. Благодаря мукоадгезивным свойствам препараты на основе хитозана могут применяться не только перорально, но с большим успехом применяются интраназально, ректально, вагинально, в виде мазей и глазных капель. Помимо прочего, хитозан не только увеличивает биодоступность доставляемых веществ, но и сохраняет их стабильность в течение продолжительного времени. Полученные в ходе исследования данные призваны помочь развитию фармацевтической промышленности и медицине и привлечь внимание исследователей из этих областей к перспективам применения хитозана в медицине.

### **МОДЕЛИРОВАНИЕ СТРЕССОВОГО НЕДЕРЖАНИЯ МОЧИ У САМОК КРЫС SD МЕТОДОМ ДВУСТОРОННЕЙ ЭЛЕКТРОХИРУРГИЧЕСКОЙ КООГУЛЯЦИИ СРАМНОГО НЕРВА**

**Белоус Г.И.<sup>1,2</sup>, Туховская Е.А.<sup>1</sup>, Мурашев А.Н.<sup>1</sup>, Фатхудинов Т.Х.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Филиал ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия; <sup>3</sup>ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И.Кулакова, МЗРФ, Москва, Россия

*egor-belous91@yandex.ru*

Целью нашего исследования было освоить и оптимизировать методику моделирования стрессового недержания мочи у самок крыс SD. В перспективе планируется изучение препаратов, предназначенных для лечения стрессового недержания мочи у женщин.

Нами была выбрана модель двусторонней электрокоагуляции срамного нерва. Повреждение срамного нерва (n.pudendus), иннервирующей мышцы уретры, приводит к нарушению их работы и постепенной атрофии, что и может послужить причиной возникновения недержания.

Количественным параметром, использовавшимся нами для оценки развития недержания, являлось давление при истечении первой капли мочи, возникающее при надавливании на мочевого пузырь, наполненный водой (leak point pressure - LPP). Данный параметр, единицами измерения которого являются миллиметры ртутного столба, измерялся на приборе «PowerLab 4/35».

Дизайн эксперимента по моделированию недержания был следующий: наркотизированное животное подвергали хирургическому двустороннему иссечению срамного нерва через разрезы с дорсальной стороны в областях вертлужной впадины, при помощи электрохирургического коагулятора. Измерение показателей LPP выполняли до выполнения хирургических манипуляций (исходное значение) и еженедельно после проведения хирургии в течение 28 дней.

Статистическая оценка результатов измерений была выполнена методом Mann-Withney, статистическая достоверность различий определялась при  $p \leq 0,05$ .

Исходные значения LPP составляли  $71,2 \pm 12,1$  мм. рт. ст. (здесь и далее данные представлены в виде среднего значения  $\pm$  стандартное отклонение). Спустя неделю после хирургии значения LPP составляли  $42,0 \pm 7,3$  мм. рт. ст. То есть происходило достоверно значимое снижение значения LPP, что говорит о том, что необходимо меньшее давление в мочевом пузыре для истечения первой капли мочи. Таким образом, моделирование недержания мочи у самок крыс SD было выполнено успешно. При дальнейшей еженедельной оценке LPP, значения его не менялись вплоть до 28-го дня. На 28-й день значения LPP составляли  $45,3 \pm 2,7$  мм. рт. ст., что достоверно ниже исходных значений.

## НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ С ЛИПИДНЫМИ МЕМБРАНАМИ

Будянская Л.В.<sup>1</sup>, Садченко А.О.<sup>1</sup>, Пуговкин А.Ю.<sup>2</sup>, Касян Н.А.<sup>1</sup>, Ващенко О.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт сцинтилляционных материалов НАН Украины, Харьков, Украина; <sup>2</sup>Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков, Украина

*l.budjanskaja92@gmail.com*

Фармакокинетические свойства многих лекарственных средств (ЛС) напрямую зависят от их взаимодействия с клеточными мембранами. Считается, что проникновение большинства ЛС в клетку осуществляется путём пассивной диффузии через липидный бислой. В связи с этим целью данной работы являлось выявление различных аспектов взаимодействия ЛС с липидными мембранами.

Были исследованы модельные мультибислойные мембраны на основе гидратированного дипальмитоилфосфатидилхолина (ДПФХ), содержащие ЛС в виде индивидуальных веществ. Методом дифференциальной сканирующей калориметрии («Mettler DSC 1») были получены параметры фазовых переходов мембран ДПФХ; методом Фурье-ИК-спектроскопии («Spectrum One») изучали гидратацию мембран. Проведены исследования проницаемости нативных клеток для воды в присутствии некоторых ЛС.

На основании исследования около 30 ЛС различной химической природы было установлено, что высокогидрофильные вещества, адсорбирующиеся на поверхности мембраны, в основном индуцируют повышение температуры её плавления ( $T_m$ ), тогда как гидрофобные вещества, абсорбируемые мембраной, индуцируют снижение  $T_m$ . Существенные изменения в присутствии ЛС претерпевают полуширина, асимметрия и гистерезис пика плавления, а также полосы поглощения воды и карбонильных групп ДПФХ. Для некоторых ЛС (нообут, нитрат серебра) зарегистрировано латеральное фазовое разделение липидов.

Энергию активации процесса переноса воды через липидный бислой клеточной мембраны ( $E_a$ ) определяли *in vitro* на сперматозоидах карпа. Установлено, что ЛС, приводящие к снижению  $T_m$ , а также к фазовому разделению липидов в мембране, индуцировали достоверное снижение  $E_a$  (на 25 % для нообута; на 40 % для амиксина). В целом изменения проницаемости мембран нативных клеток *in vitro* коррелируют с изменениями термодинамических параметров мембран ДПФХ.

Методами компьютерного моделирования (MORAC 2012, метод AM1) рассчитаны молекулярные параметры ЛС. Для группы веществ различных химических классов установлена высокая линейная корреляция ( $> 0,8$ ) между  $T_m$  и липофильностью, а также долей полярной поверхности молекулы, что может свидетельствовать об одинаковом механизме их встраивания в мембрану (по типу абсорбции). В рамках одного химического класса установлена высокая линейная корреляция ( $> 0,9$ ) между  $T_m$  и площадью поверхности, объёмом, а также дипольным моментом молекулы ЛС.

## **ИДЕНТИФИКАЦИЯ НОВЫХ ГЕНОВ, ВОВЛЕЧЕННЫХ В РЕПАРАЦИЮ ДНК И РЕГУЛИРУЮЩИХ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ КЛЕТОК К ЦИСПЛАТИНУ**

**Гапонова А.В., Киямова Р.Г., Серебрянский И.Г.**

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

*annagaponova28@gmail.com*

Устойчивость опухолевых клеток к терапии цисплатином является одной из главных проблем в терапии рака. Молекулярные механизмы устойчивости вовлекают сигнальные пути, активирующиеся в ответ на повреждение ДНК (DDR- DNA Damage Response), эволюционно древний, жизненно важный для клетки процесс. Многие белки, вовлеченные в DDR, консервативны и разделяют гомологичную структуру и функции у различных царств эукариот.

**Цель исследования.** Обнаружение новых генов, вовлеченных в DDR и регулирующих чувствительность к цисплатину в клетках рака яичников и опухолей головы и шеи.

**Материалы и методы.** При определении генов кандидатов мы учитывали тот факт, что многие белки, вовлеченные в DDR, консервативны и разделяют гомологичную структуру и функции у различных царств эукариот. Мы предположили, что идентификация генов дрожжей, уже охарактеризованных в качестве регуляторов чувствительности к цисплатину, поможет нам выявить гены-кандидаты, имеющие человеческие гомологи, для которых роль в DDR и/или регуляции чувствительности к цисплатину ранее не была показана, но потенциально возможна. Глубокий биоинформатический анализ, объединивший данные функциональных скрининговых исследований, изменения экспрессии генов в ответ на повреждение ДНК, анализ белковых взаимодействий и другие данные выявил 122 гена кандидата, регулирующих ответ на повреждение ДНК в *Saccharomyces cerevisiae* и имеющих ортологи в геноме человека. Мы осуществили siRNA нокдаун генов кандидатов в панели клеточных линий плоскоклеточной карциномы головы и шеи (SCC61, SCC25) и клеточной линии рака яичников резистентной к цисплатину (OVCAR-8), чтобы определить какие из них регулируют чувствительность клеток к цисплатину.

**Результаты.** Мы обнаружили 10 генов, влияющих на чувствительность клеток к цисплатину и другим препаратам, применяемым в терапии рака яичников и рака головы и шеи, и исследовали их биологическую функцию, путем анализа индукции маркера DDR  $\gamma$ H2AX методом иммунофлуоресценции в отсутствие и присутствие цисплатина. 5 из 10 генов-кандидатов достоверно снижали уровень  $\gamma$ H2AX в присутствии цисплатина по сравнению с контролем. Кроме того был проведен анализ индукции маркера апоптоза Annexin V методом проточной цитофлуориметрии, и оценена экспрессия и уровень фосфорилирования белков ATM, ATR, ATRIP, p53, p21 методом Вестерн-блоттинга.

**Заключение.** Результаты данной работы демонстрируют возможности эволюционного моделирования в поиске новых маркеров резистентности к цисплатину и терапевтических мишеней, которые возможно позволят увеличить чувствительность опухолей к терапии цисплатином.

## **МОНОНУКЛЕАРНЫЕ КЛЕТКИ ПУПОВИННОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА, ТРАНСДУЦИРОВАННЫЕ РЕКОМБИНАНТНЫМ АДЕНОВИРУСОМ, КО-ЭКСПРЕССИРУЮЩИМ ГЕНЫ VEGF165 И FGF2, ЭКСПРЕССИРУЮТ АСТРО-ГЛИАЛЬНЫЙ ФЕНОТИП ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ТРАНСГЕННЫМ МЫШАМ С ФЕНОТИПОМ БОКОВОГО АМИОТРОФИЧЕСКОГО СКЛЕРОЗА**

**Гаранина Е.Е.<sup>1</sup>, Мухамедшина Я.О.<sup>1</sup>, Ризванов А.А.<sup>1</sup>, Исламов Р.Р.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия; <sup>2</sup>ГБОУ ВПО Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия

*kathryn.cherenkova@gmail.com*

Боковой амиотрофический склероз (БАС)—нейродегенеративное заболевание, характеризующихся прогрессирующей гибелью мотонейронов. Наиболее перспективным направлением лечения БАС стала генно-клеточная терапия с использованием стволовых клеток пуповинной крови. Пуповинная кровь является богатым источником гемопоэтических стволовых клеток, которые, в свою очередь, обладают значительным пролиферативным потенциалом и жизнеспособностью.

С использованием технологии клонирования Gateway нами был получен рекомбинантный аденовирус, ко-экспрессирующий гены сосудистого эндотелиального фактора роста (vegfl65) и основного фактора роста фибробластов (fgf2), которые соединены между собой 2А-пептидной последовательностью вируса ящура с сайтом гидролиза фуриновой протеазой. Применение 2А-пептидной последовательности обеспечивает эквимоллярную экспрессию обеих белков, а фуриновая протеаза необходима для удаления остатков 2А-пептида для дальнейшего корректного фолдинга белков.

Все манипуляции с животными проводились в соответствии с правилами, рекомендованными Физиологической секцией Российского национального комитета по биологической этике. Для трансплантации трансгенным мышам, модулирующим фенотип БАС, были получены МКПК человека,

которые модифицировали полученным аденовирусом Ad5-VEGF165-FuP2A-FGF2 с MOI10. Животным ретроорбитально вводили суспензию клеток в количестве  $2 \times 10^6$ .

С целью идентификации и фенотипирования трансплантированных клеток был применён метод иммунофлуоресцентного окрашивания с АТ против ядерного АГ человека (HNA), маркера астроцитов (Aqp4) и транскрипционного фактора Oct6.

Предварительные результаты по трансплантации клеток пуповинной крови, трансдуцированных аденовирусом, экспрессирующим VEGF165 и FGF2, показали, что модифицированные клетки мигрируют в нервную ткань спинного мозга трансгенных животных, проявляющих фенотип БАС, и сохраняют способность к биосинтезу рекомбинантных белков. Дальнейший анализ показал, что генетически модифицированные клетки мигрируют в места нейродегенерации и проявляют астроглиальный фенотип (HNA<sup>+</sup>VEGF<sup>+</sup>Aqp4<sup>+</sup>Oct6<sup>+</sup>).

Полученные нами экспериментальные данные показывают, что генетически модифицированные мононуклеарные клетки пуповинной крови человека мигрируют в очаги нейродегенерации и дифференцируются в астроциты.

### **РОЛЬ ПЕРОКСИРЕДОКСИНА VI В КОРРЕКЦИИ МИКРОЦИРКУЛЯЦИОННЫХ НАРУШЕНИЙ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА ПРИ ИШЕМИЧЕСКИ/РЕПЕРФУЗИОННОМ ПОРАЖЕНИИ**

**Гордеева А.Е.<sup>1,2</sup>, Тихонова И.В.<sup>2</sup>, Шарапов М.Г.<sup>2</sup>, Темнов А.А.<sup>2</sup>, Новоселов В.И.<sup>2</sup>**  
<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН  
Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

*gordeeva1310@yandex.ru*

В патогенезе ишемически/реперфузионного поражения (И/РП) тонкого кишечника один из ключевых моментов – повреждение микрососудов и системы микроциркуляции. Одна из причин поражения микрососудов при И/РП - окислительный стресс, поэтому для уменьшения реперфузионного повреждения целесообразно использовать ферменты-антиоксиданты. В настоящей работе для протекции микрососудов от И/РП используется мощный фермент-антиоксидант пероксиредоксин IV (Prx IV).

Для исследования роли Prx IV в коррекции микроциркуляционных нарушений тонкого кишечника при И/РП была изучена динамика микроциркуляции тонкого кишечника методом лазерной доплеровской флоуметрии и проведен гистологический мониторинг состояния кишечной ткани.

Было показано, что И/РП приводит к изменению гемодинамики и падению уровня кровотока в пораженной ткани, который к концу реперфузионного периода составлял только 50% от контроля. Как показали результаты флуоресцентной микроскопии при введении меченого альбумина, это связано с поражением микрососудов в апикальной части ворсинок. Внутривенное введение Prx IV перед И/РП значительно улучшает ситуацию с восстановлением уровня кровотока в органе, к концу реперфузионного периода уровень кровотока составляет 80% от контроля.

Гистологический мониторинг показал, что Prx IV ослабляет степень реперфузионного поражения, сохраняя общую физиологичную архитектуру кишечной стенки. Таким образом, действие Prx IV на параметры микроциркуляции, вероятно, связано с протекцией стенки микрососудов от поражения и в итоге с сохранением архитектуры слизистой тонкого кишечника.

Роль Prx VI в коррекции микроциркуляционных нарушений тонкого кишечника при И/РП характеризуется уменьшением реперфузионного поражения сосудов микроциркуляционного русла кишечника, что опосредует восстановление нормального уровня перфузии кишечной ткани кровью.

Работа поддержана грантами РФФИ 13-04-00537, РФФИ 13-04-00763 и Грантом Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».

### **ВОССТАНОВЛЕНИЕ ПРОЦЕССОВ КРОВЕТВОРЕНИЯ У КРЫС ПРИ СИМПТОМАХ ОСТРОЙ ЛУЧЕВОЙ БОЛЕЗНИ ПОД ДЕЙСТВИЕМ АНТИРЕТИКУЛЯРНОЙ ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ СЫВОРОТКИ (АРЦС)**

**Гуч Д.Е.<sup>1</sup>, Иванов В.Л.<sup>2</sup>**  
<sup>1</sup>ФГБНУ ВНИИ физиологии, биохимии и питания животных, Боровск, Россия; <sup>2</sup>ФГБУ МРНЦ МЗСР,  
Обнинск, Россия

*chegifty@gmail.com*

Большинство средств для профилактики и лечения лучевой болезни при острых симптомах ее проявления оказываются неэффективными. В целях повышения эффективности лечения острой лучевой болезни (ОЛБ) повышают дозировки препаратов, что нередко приводит к токсическому отравлению организма. В связи с этим, современные исследования направлены на поиск препаратов поиск средств ускорения процессов пострadiационного восстановления путем внутриклеточной репарации, прежде

всего, в кроветворном стволовом пуле. Основной задачей исследования явилась экспериментальная оценка возможности использования биологически активного препарата (антиретикулярной цитотоксической сыворотки (АРЦС), на антигены тканей костного мозга, селезенки, лимфатических узлов, тимуса, печени и щитовидной железы) в качестве лечебного средства при ОЛБ крыс.

Опыт проведен на крысах линии Вистар массой 250-300 г в количестве 161 особи. Облучение животных проводили на гамма-кобальтовой установке «Луч» в дозе 8,0 Гр (основной опыт) при мощности дозы 81,48 сГр/мин. Были изучены следующие показатели: динамика массы тела крыс за 30-и суточный период с интервалом в 5 суток, количественные показатели лейкоцитов (исходные, на 2, 4, 7, 10, 15, 20, 25 и 30 сутки); определяли процент выживания крыс к 30-м суткам и показатель средней продолжительности жизни (СПЖ) погибших животных (в днях).

В результате исследования было выявлено, что препарат АРЦС, введенный крысам сразу после гамма-облучения в стимулирующих дозах, статистически значимо увеличивает 30-суточную выживаемость до 66,7 % (при 18,8-13,3 % в контрольных группах), и активирует обменные процессы (сократился срок до начала восстановления массы тела облученных крыс с 20-25 до 5-10 суток). АРЦС ускоряет восстановление кроветворения по критериям клеточности костного мозга, а также содержания лейкоцитов и ретикулоцитов в периферической крови. Экспериментальная апробация АРЦС показала, что она обладает свойствами высокоактивного биостимулятора, способного положительно влиять на исход ОЛБ у крыс.

### ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ И ДИНАМИКИ ЭКСПРЕССИИ CD126 ПРИ ПРОГРЕССИРОВАНИИ ХОБЛ

Виткина Т.И.<sup>1</sup>, Лобанова Е.Г.<sup>1</sup>, Денисенко Ю.К.<sup>1</sup>, Давыдова К.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Владивостокский филиал ФГБУ ДНЦ ФПД - НИИ МКВЛ, Владивосток, Россия; <sup>2</sup>ФГАОУ ВПО Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия

*d-karolina-a@mail.ru*

Цель работы – определение динамики параметров, обуславливающих характер Т-хелперного ответа при прогрессировании хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ).

В исследование были включены 112 пациентов с ХОБЛ 1-го, 2-го и 3-го спирометрического класса (ск.) в стадии ремиссии. В контрольную группу вошли 32 практически здоровых лица. Уровень секреции цитокинов TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IFN- $\gamma$  определяли в сыворотке крови методом проточной цитометрии (Cytometric Bead Array фирмы BD, USA). Уровень секреции TGF- $\beta$ 1 и IL-21 определяли в сыворотке крови иммуноферментным методом (Genzyme diagnostics, USA). Уровень экспрессии клеточного рецептора к IL-6 (CD126<sup>+</sup>) определяли методом проточной цитометрии (реагенты фирмы BD, USA).

В ходе данного исследования у больных ХОБЛ были выявлены различные типы иммунного ответа – Th1 и Th17, с соответствующим спектром цитокинов. У пациентов с ХОБЛ 1 ск. наблюдается развитие патологии преимущественно по Th1-типу иммунного ответа, в ряде случаев формируется Th17-тип. При дальнейшем прогрессировании заболевания начинает преобладать Th17-тип иммунного ответа.

На всех стадиях заболевания у пациентов с Th1-типом иммунного ответа отмечается повышенное содержание IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$ , при этом уровень IL-4 остается ниже контрольного значения. При ХОБЛ 1 ск. увеличивается содержание IFN- $\gamma$  (в 3 раза) и TNF- $\alpha$  (в 2 раза) относительно контроля. У пациентов с ХОБЛ 2 ск. заметно падает уровень IFN- $\gamma$  (на 50 %) и TNF- $\alpha$  (на 29 %), в то же время повышается уровень IL-10 (на 84 %) относительно контрольной группы. При ХОБЛ 3 ск. на первое место по концентрации выходит TNF- $\alpha$  (увеличен в 3 раза).

У больных с Th17-типом иммунного ответа на всех стадиях наблюдается гиперпродукция IL-21, IL-6, IL-17A, TGF- $\beta$ 1 и IL-10. При прогрессировании ХОБЛ происходит увеличение содержания TNF- $\alpha$ , на фоне снижения концентрации IFN- $\gamma$ .

Было обнаружено, что прогрессирование ХОБЛ сопровождается увеличением количества иммунокомпетентных клеток, экспрессирующих CD126<sup>+</sup>, и перераспределением динамики экспрессии среди различных субпопуляций. При этом наибольший процент CD126<sup>+</sup>-клеток на всех стадиях ХОБЛ наблюдается в популяции лейкоцитов, в наибольшей степени - среди Т-хелперов. При ХОБЛ 2 и 3 ск. начинает возрастать процент CD126<sup>+</sup> гранулоцитов (на 55,1 % и на 298,4 % соответственно относительно контроля), процент CD126<sup>+</sup> моноцитов увеличивается менее значительно (на 28,6 % и 150,9 % соответственно относительно контроля). Экспрессия CD126<sup>+</sup> иммунокомпетентными клетками, возможно, представляет собой дополнительный механизм регуляции воспалительной реакции при ХОБЛ.

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ НАЦИОНАЛЬНОЙ КОМАНДЫ БЕЛАРУСИ ПО ПОЖАРНО-СПАСАТЕЛЬНОМУ СПОРТУ

Жур К.В.<sup>1</sup>, Кундас Л.А.<sup>1</sup>, Головкова И.В.<sup>2</sup>, Питомец С.П.<sup>2</sup>, Мосса И.Б.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГНУ Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь; <sup>2</sup>ГУ Республиканский научно-практический центр спорта, Минск, Беларусь

zhur\_kv@mail.ru

Цель работы – провести молекулярно-генетическое тестирование высококвалифицированных спортсменов пожарно-спасательного спорта для выявления аллельных вариантов, ассоциированных с высокими спортивными достижениями.

Протестированы 29 спортсменов сборной команды Республики Беларусь по пожарно-спасательному спорту и 160 человек контрольной группы. Генотипирование по 14-ти полиморфизмам 12-ти генов проводили методом ПЦР. Относительный уровень экспрессии генов *HIF1A*, *MTHFR* и *UCP2* определяли методом ПЦР с обратной транскрипцией. Метаболические показатели физической работоспособности оценивали с помощью системы многофакторной экспресс-диагностики (Д-Тест).

Генотипирование показало, что в группе спортсменов частоты аллельного варианта Val55Val гена *UCP2*, способствующего проявлению выносливости, а также варианта A1298A гена *MTHFR*, благоприятного для сердечно-сосудистой системы атлета, в 1,5 раза выше, чем в контрольной группе. Выявлена достоверная ассоциация исследованных полиморфизмов генов A79G MB, Val55Ala UCP, G/T EPO и C1298A *MTHFR* с показателями аэробной физической работоспособности атлетов, а полиморфизма гена R577X *ACTN3* - с анаэробной.

В то же время в группе спортсменов значительно чаще, чем в контрольной выборке, встречались опасные мутации Лейдена и гена протромбина, неблагоприятные аллельные варианты 4a/4a и T894T гена *eNOS*, а также T677T гена *MTHFR*. Результаты генотипирования были переданы врачам команды для корректировки эффектов неблагоприятных вариантов генов.

Анализ экспрессии выявил значительную индивидуальную вариабельность в активности исследованных генов на различных этапах подготовки спортсменов. При этом экспрессия генов *UCP2* и *MTHFR* в условиях более высокой физической нагрузки была достоверно выше, чем на этапе общефизической подготовки. Установлена также достоверная корреляция экспрессии генов *MTHFR* и *UCP2* с емкостью анаэробного лактатного энергообеспечения ( $r=0,79$  и  $r=0,83$  соответственно) и экспрессии гена *UCP2* - с максимальным потреблением кислорода ( $r=0,71$ ), общей метаболической мощностью ( $r=0,76$ ) и концентрацией лактата в крови ( $r=0,92$ ).

Таким образом, комплексный подход, включающий в себя как генотипирование атлетов, так и анализ экспрессии генов, ответственных за адаптацию к интенсивным физическим нагрузкам, обеспечивает более эффективный отбор перспективных спортсменов, а также позволяет корректировать программу тренировок для каждого спортсмена индивидуально с целью сохранения его здоровья и повышения результативности.

## КОНЦЕПЦИЯ ПРИМЕНЕНИЯ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ИЗ ЖИРОВОЙ ТКАНИ ПРИ ТРАВМЕ СПИННОГО МОЗГА

Журавлева М.Н., Мухамедшина Я.О., Закирова Е.Ю., Масгутова Г.А.

ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт Фундаментальной Медицины и Биологии, Казань, Россия

yana.k-z-n@mail.ru

Ввиду серьезной медико-социальной проблемы травматических повреждений спинного мозга большое количество научных работ посвящено исследованию данной патологии, а также поиску методов снижения возникающей впоследствии дегенерации в центральной нервной системе. С момента первого описания мезенхимных стволовых клеток (МСК), как отдельного клеточного типа, проведено большое количество работ по их применению в различных областях медицины. Результаты исследований свидетельствуют о перспективах клинического применения МСК и выглядят достаточно оптимистично.

Культуру МСК из жировой ткани получали от крыс линии Wistar по стандартной методике. Далее проводили трансдукцию полученных МСК с помощью лентивируса с геном EGFP (LV-EGFP). Ввиду того, что МСК относятся к трудно трансдуцируемым культурам, для повышения уровня экспрессии трансгена осуществляли сортировку клеток методом проточной цитофлуориметрии. В получаемые таким образом культурах экспрессия трансгена EGFP МСК составляла не менее 90%. На модели дозированной контузионной травмы спинного мозга крысы на уровне Th8 изучены эффекты немедленной однократной аппликации на область повреждения трансдуцированных LV-EGFP МСК с Tissukol (Baxter) (1 млн. клеток в

18 мкл Tissukol). В ходе исследования проведена оценка эффективности экспрессии гена *egfp* in vivo, изучены продолжительность выживания трансплантированных клеток и их миграционный потенциал.

Были получены следующие результаты по экспрессии маркеров МСК: CD105 – 0%, CD90 – 83% (ИСС – положительные), STRO-1 – 74%, CD44 – 70% (ИСС – положительные), CD29 – 0%, CD73 – 94%. При трансдукции МСК LV-EGFP в ходе проточной цитофлуориметрии было обнаружено уменьшение уровня экспрессии STRO-1 и CD73 на 59% и 70%, соответственно. При этом уровень CD29 увеличился на 99%, таким образом, трансдуцированные МСК стали CD29-иммунопозитивными. Можно предположить, что изменение антигенных свойств трансдуцированных МСК связано с процессом встраивания гена в случайные места в геноме клеток, что вызывает изменение их физиологических свойств и экспрессии белков, что следует учитывать при интерпретации результатов иммуногистохимического анализа тканей с трансплантированными мечеными клетками. Оценка поведения МСК-LV-EGFP в области повреждения спинного мозга показала, что трансплантированные клетки выживают и экспрессируют EGFP не менее 14 суток после травмы. МСК-LV-EGFP равномерно распределены на участке спинного мозга в области повреждения длиной не менее 3 мм.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ №16-34-60101\_мол\_а\_дж и РФФИ № 15-04-07527.

### **ВЛИЯНИЕ ФТОРХИНОЛОНОВ НА КАТАЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ДНК-ГИРАЗЫ И ТОПОИЗОМЕРАЗЫ IV STAPHYLOCOCCUS AUREUS**

**Замальдинова А.Э., Гарипов М.Р., Штырлин Н.В., Каюмов А.Р.**

ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт Фундаментальной Медицины и Биологии, Казань, Россия

*Alinka.zam@mail.ru*

Множественная лекарственная устойчивость патогенных и условно-патогенных микроорганизмов представляет в настоящее время значительную проблему в лечении инфекционных заболеваний. Поэтому поиск новых эффективных антибактериальных соединений является актуальной задачей современной фармацевтики. Одними из широко используемых в настоящее время антибиотиков являются соединения фторхинолонового ряда, например, моксифлоксацин, ципрофлоксацин. В НОЦ Фармацевтики КФУ на основе моксифлоксацина были произведены более пятидесяти соединений, три из которых под условными номерами FP16, FP31, FP48 продемонстрировали высокую эффективность против клеток *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus epidermidis*. Целью исследования было установить молекулярные мишени данных соединений в клетках стафилококков. Механизм действия фторхинолонов заключается в ингибировании каталитической активности ферментов ДНК-Гиразы и топоизомеразы IV бактериальной клетки, что приводит к нарушению репликации и транскрипции ДНК и последующей гибели клетки. Исследовали активность ДНК-Гиразы и топоизомеразы IV *S. aureus* в присутствии FP16, FP31, FP48 и моксифлоксацина в качестве антибиотика сравнения. Активность ДНК-Гиразы полностью подавлялась в присутствии 400 мкМ моксифлоксацина, для полного ингибирования топоизомеразы IV требовалось 40 мкМ моксифлоксацина. FP16 и FP48 ингибировали ДНК-Гиразу и топоизомеразу IV в концентрациях 400 мкМ. Следовательно, их мишенями могут являться данные ферменты, однако эффективность соединений ниже по сравнению с моксифлоксацином. FP31 подавляло активность топоизомеразы IV при 40 мкМ, ДНК – Гиразы при 4 мкМ, следовательно, мишенями данного соединения в клетках *S. aureus* являются ДНК-Гираза и Топоизомераза IV, при этом эффективность ингибирования значительно выше по сравнению с моксифлоксацином. Таким образом, FP 31 и его аналоги являются перспективными антибактериальными препаратами.

### **ИЗУЧЕНИЕ НЕЙРОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА ЦЕРЕБРОЛИЗИН НА МОДЕЛИ ПЕРМАНЕНТНОЙ ОККЛЮЗИИ СРЕДНЕЙ МОЗГОВОЙ АРТЕРИИ У КРЫС WISTAR**

**Исмаилова А.М.<sup>1,2</sup>, Туховская Е.А.<sup>1</sup>, Мурашев А.Н.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Филиал ФГБУН Института биоорганической химии имени академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия

*ptichka77791@mail.ru*

Ишемический инсульт является одной из основных причин смертности среди населения. Целью нашего исследования было выявить обладает ли препарат Церебролизин нейропротекторной активностью на моделях перманентной окклюзии средней мозговой артерии (ОСМА) у самцов крыс Wistar при однократном введении через час после окклюзии. Церебролизин представляет собой комплекс низкомолекулярных пептидов, получаемый с помощью ферментного расщепления очищенных белков

мозгового вещества свиньи. Церебролизин относят к ноотропным средствам, препаратам с нейротрофической активностью.

Исследование проводилось на самцах крыс Wistar, распределенных в две экспериментальные группы по 10 животных в каждой. Опытной группе вводили Церебролизин в дозе 430 мг/кг, контрольной группе вводили физиологический раствор. Животным проводили хирургическую процедуру по моделированию перманентной ОСМА, посредством введения в среднюю мозговую артерию окклюдера, изготовленного из пластикового монофиламент, через внутреннюю сонную артерию. Момент окклюзии определяли по падению локального мозгового кровотока, который регистрировался лазерным доплеровским флоуметром. Через 60 минут после наступления ОСМА животным внутрибрюшинно вводили физраствор или Церебролизин. Через 6 часов после окклюзии у животных забирали головной мозг, готовили серийные срезы толщиной 2 мм и окрашивали 1% раствором трифенилтетразолий хлорида (ТТХ). Окрашенные срезы сканировали с обеих сторон и считали объем инфаркта головного мозга при помощи программы Reconstruct.

В результате были получены следующие данные: у крыс контрольной группы через 6 часов после окклюзии инсульт развился у 90% животных, в опытной группе у 60% животных. Существенные различия были обнаружены также в размере пораженной области тканей мозга (инфаркта головного мозга). У животных опытной группы с развившимся инфарктом головного мозга размер поврежденного участка оказался в 3,5 раза меньше чем у животных контрольной группы. При окрашивании ТТХ некротизированная ткань не окрашивается, что и наблюдалось у животных контрольной группы. Однако у животных, получавших Церебролизин, поврежденная часть головного мозга имела тенденцию к окрашиванию, что может указывать на обратимость процесса повреждения.

Результаты эксперимента дают основание говорить о том, что введение Церебролизина через 60 минут после наступления ОСМА, приводит к снижению объема поражения мозговой ткани после при перманентной окклюзии ОСМА, либо к полному блокированию развития инфаркта.

### **СОЗДАНИЕ БИОКАТАЛИЗАТОРОВ ПРОТИВ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ ТОКСИНОВ НА ОСНОВЕ СКОНСТРУИРОВАННОЙ БИБЛИОТЕКИ АКТИВНОГО ЦЕНТРА БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ**

**Карцева О.В.**

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

*olechkakar@mail.ru*

Бутирилхолинэстераза человека (БуХЭ) способна гидролизовать разнообразные сложные эфиры, а также стехиометрически связывать токсины ингибирующие ацетилхолинэстеразу. БуХЭ является перспективным биологическим антидотом при терапии отравлений фосфорорганическими токсинами и некоторыми наркотическими веществами, например, кокаином. Данная работа была направлена на создание комбинаторной библиотеки гена BUCHE кодирующего БуХЭ, с целью получения фермента, обладающего способностью гидролизовать фосфорорганические соединения.

На основе анализа кристаллических структур БуХЭ (PDB№ 1P0I), а также ее ковалентных аддуктов с экотиофатом (PDB№ 1XLV, 1XLW) и зоманом (PDB№ 1P0Q), был проведен дизайн библиотеки активного центра БуХЭ. Вблизи ацил-связывающего кармана активного центра фермента для замены были выбраны аминокислотные остатки A199, W231, E325, A328, F329, N397, F398. Были проведены замена на положительно заряженные аминокислотные остатки: аргинин и лизин, а также гистидин. Было сконструировано 11 праймеров с вырожденными кодонами на месте подлежащих замене аминокислотных остатков и два фланкирующих праймера для лигирования в плазмидный вектор. Библиотека была создана методом ПЦР с перекрывающимися праймерами. Библиотеку клонировали в плазмидный вектор pRc9k flag anchor, который позволяет экспрессировать фермент на поверхности клетки, и трансформировали методом электропорации в электрокомпетентные клетки *E. Coli* для амплификации библиотеки. Выделенную и очищенную плазмидную ДНК, содержащую целевую библиотеку, обрабатывали эндонуклеазой рестрикции *PmeI*, с целью обеспечения встраивания в locus гена АОХ-1, и последующей трансформации в клетки линии GS115 дрожжей *P. Pastoris*.

В результате проведенной работы была получена библиотека представительностью  $1,8 \times 10^8$  вариантов мутантов. Комбинаторная библиотека избыточна по своей представительности, так как выбор кодона кодирующего только три аминокислоты подлежащей замене невозможен. Данная библиотека предназначена для проведения скрининга мутантов в каплях двойной эмульсии вода/масло/вода на соответствующую каталитическую активность.



## ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СТЕКОЛКРИСТАЛЛИЧЕСКОГО ОСТЕОЗАМЕЩАЮЩЕГО МАТЕРИАЛА БИОСИТ СР-«ЭЛКОР» НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ И ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК ОСТЕОГЕННОЙ ПРИРОДЫ

Касьянова Е.С.<sup>1</sup>, Александрова С.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

*k\_elisa@bk.ru*

В хирургической практике необходимость замещения костных дефектов возникает при лечении целого ряда заболеваний, связанных с патологией костной ткани. В связи с травматичностью и риском инфицирования пациента при использовании материалов естественного происхождения, большую значимость приобретает применение искусственных биосовместимых материалов.

Целью настоящей работы являлась оценка *in vitro* жизнеспособности и пролиферативной активности остеогенных клеток различного происхождения, инкубируемых в присутствии материала Биосит СР-”Элкор” (ООО ПК “Элкор”). Данный материал относится к биоситаллам силикоалюмофосфатной группы и представлен гранулами размером 2.0-3.0 мм. Для приготовления экстракта материал замачивали в питательной среде в течение 7 сут при  $t=8^{\circ}\text{C}$ . Исследования проводили на клетках постоянной клеточной линии остеосаркомы человека HOS (TE 85, CLONE F5), мультипотентных мезенхимных стромальных клетках (ММСК) костного мозга кролика и остеоцитах, полученных из ММСК методом индукции. Для визуальной оценки морфологических изменений при инкубации клеток с экстрактами материалов использовали инвертированный микроскоп Nikon Eclipse TS100. Адгезию и пролиферацию индуцированных остеоцитов на поверхности материала изучали с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) в течение 1 или 7 сут. Исследование проводили с использованием электронного микроскопа Jeol JSM-35C (Япония). Относительное количество жизнеспособных клеток после инкубации с экстрактами материалов определяли с помощью МТТ-теста в разные сроки. Для исследования жизнеспособности высевали HOS (2.5 и 5 т/см<sup>2</sup>), ММСК и остеоциты (10 и 15 т/см<sup>2</sup>) на 1 сут. Для исследования пролиферативной активности высевали HOS (1 и 1.5 т/см<sup>2</sup>), ММСК и остеоциты (2.5 и 5 т/см<sup>2</sup>) на 7 сут.

Прижизненный анализ морфологических изменений при инкубации клеток трех типов в течение 7 сут в присутствии экстракта Биосит СР -”Элкор” не выявил нарушений морфологии клеток. При исследовании с помощью СЭМ можно было видеть, что на поверхности материала остеогенные клетки довольно быстро в течение 1 сут приобретали морфологию остеоцитов и сохраняли ее при дальнейшем культивировании в течение 7 сут, при этом наблюдалась их активная пролиферация. Исследования с помощью МТТ-теста показали, что как жизнеспособность клеток трех типов, так и пролиферативная активность в присутствии экстракта материала не отличались от контрольных значений.

В данном исследовании было показано, что материал Биосит СР-«Элкор» нетоксичен для клеток остеогенной природы, при этом является для них адгезивным и способствует пролиферации.

## РАЗРАБОТКА НОВОГО ТИПА МУЛЬТИФУНКЦИОНАЛЬНЫХ МНОГОКОМПОНЕНТНЫХ БИОСЕНСОРНЫХ СИСТЕМ ШИРОКОГО НАЗНАЧЕНИЯ

Ким А.Л.<sup>1,2</sup>, Мусин Е.В.<sup>1,2</sup>, Тихоненко С.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова», Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

*kimerzent@gmail.com*

Целью работы является создание нового типа сенсорных систем, многократного использования, удобных для применения в медицинской диагностике и мониторинге биотехнологического производства. Такие сенсорные системы выполнены на основе полиэлектролитных нано- и микрокапсул (ПМК), содержащих внутри своего пула каталитически активные ферменты-сенсоры.

Для получения ПМК, используется метод поочередного наслаивания противоположно заряженных полиэлектролитов на дисперсные частицы нано- и микро размеров, которые удаляются на финальной стадии приготовления. Технология изготовления капсул позволяет варьировать их диаметр от 2 до 10 мкм и толщину оболочки от 10 до 100 нм, при этом, в одной капсуле содержится лишь десятки пикограммов фермента.

Для проведения исследования в качестве отрицательно заряженных полиэлектролитов использовались полистиролсульфоната (ПСС) и декстрансульфата (ДС) и положительно заряженные полидиаллилдиметиламмоний (ПДАДМА) и полиаллиламин (ПАА). В качестве связующего к твердому носителю применялся полимер полиэтиленимин (ПЭИ).

Исследования проводились на ферментах лактатдегидрогеназа (ЛДГ), алкогольдегидрогеназа АДГ и Уреазе, широко используемых в клинико-биохимическом анализе. Нами была показана возможность капсулирования данных ферментов в полиэлектролитные микрокапсулы.

Из полученных данных следует, что по сравнению с существующими в медицине ферментативными клинико-биохимическими методами анализа биожидкостей предлагаемый нами микродиагностиком имеет явные преимущества: фермент, включенный в ПМК сохраняет свою активность в не очищенном анализируемом растворе не менее 5 месяцев, с возможностью многократного применения.

Закрепление микрокапсул на твердом носителе значительно увеличивает скорость их извлечения из анализируемой жидкости, уменьшает количество манипуляций с пробой, сокращает потерю ПМК и обеспечивает дополнительную защиту инкапсулированного фермента.

Полученные данные свидетельствуют о возможности автоматизации процесса анализа биологических жидкостей, что ведет к созданию автономных анализирующих приборов.

### **ВЛИЯНИЕ КОМПОНЕНТОВ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА НА СИНТЕЗ ПОРОФОРМИРУЮЩЕГО ТОКСИНА HlyII В КЛЕТКАХ *V. CEREUS***

**Ковалевская Ж.И., Саямов В.И., Сиунов А.В., Шадрин А.М., Нагель А.С., Холод Н.С., Бударина Ж.И., Глазунова О.А., Солонин А.С.**

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

*hemolysin@rambler.ru*

*V. cereus* - широко распространенный патоген, который вызывает пищевые отравления с диарейным и эметическим синдромами, а также заболевания глаз, нервной системы, маститы, сепсис, пневмонию, эндокардит, менингит, энцефалит и другие болезни у человека. *V. cereus* синтезирует ряд токсинов, которые способствуют развитию инфекции. Гемолизин II (HlyII) является одним из основных факторов патогенности *V. cereus*. HlyII был открыт и изучается в нашей лаборатории. Он является порообразующим цитолитическим токсином. HlyII разрушает человеческие и животные клетки путем формирования ионопроводящих нанопор в их мембранах, что приводит к лизису клеток, некрозу или апоптозу. Продукция бактериальных токсинов регулируется на транскрипционном уровне. Недавно нами было показано, что экспрессия *hlyII* контролируется несколькими транскрипционными факторами, которые репрессируют экспрессию гена токсина. Однако не много известно о том, как активируется экспрессия *hlyII*.

Выращивание *V. cereus* в среде, в которую добавлена кровь человека, приводит к увеличению общей гемолитической активности примерно в 10 раз. С использованием бацилл с репортерным геном бета-галактозидазы под контролем *hlyII* промотора и ПЦР в режиме реального времени было показано, что экспрессия гена *hlyII* увеличивается в 100 раз в присутствии в культуральной среде плазмы крови человека. При выращивании рекомбинантного штамма *V. cereus*, нокаутированного по гену регулятора *hlyIII*, экспрессия гемолизина II была сравнима с экспрессией в диком штамме *V. cereus*, выращенном на среде с плазмой. Из полученных результатов следует, что плазма содержит индуктор, который взаимодействует с HlyIII и изменяет его способность связываться с оператором, и репрессор уже не может блокировать транскрипцию *hlyII*. Таким образом, попадая в макроорганизм, бактерии значительно увеличивают экспрессию гена *hlyII*, продукт которого вызывает лизис клеток, что обеспечивает бактериальные клетки питательными веществами. Попытки фракционирования плазмы крови с целью обнаружения индуктора привели к получению фракций, проявляющих эффект индукции *hlyII*, которые по результатам масс-спектрометрии содержат сывороточный альбумин человека. Показано, что гомогенный альбумин не является активатором *hlyII*, а по-видимому участвует в переносе индуктора, так как известно, что альбумин является переносчиком различных веществ в кровяном русле.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №15-34-20940 мол\_а\_вед.

### **ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ВОДОРАСТВОРИМОГО МЕТАНОФУЛЛЕРЕНА C60[C9H10O4((OH)4)]6 НА МИТОХОНДРИАЛЬНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ЛИМФОЦИТОВ И ТРОМБОЦИТОВ В ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА**

**Колганова Е.А.<sup>1</sup>, Тарасова Г.Р.<sup>1</sup>, Калачева Н.В.<sup>1</sup>, Черепнев Г.В.<sup>1</sup>, Губская В.П.<sup>2</sup>, Фазлеева Г.М.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Казань, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт органической и физической химии им. А.Е.Арбузова КазНЦ РАН, Казань, Россия

*alenaka09@mail.ru*

Ранее нами на модели клеток дрожжей *Yarrowia lipolytica* было показано, что водорастворимые метанофуллерены C60[C9H10O4((OH)4)]6 и C60[C13H18O4((OH)4)]6 способны разобщать дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях, не изменяя основные морфологические показатели

клетки (размер, гранулярность), что позволяет отнести их к перспективным митохондриально-адресованным антиоксидантам. В связи с этим представляется актуальным изучение влияния этих производных фуллерена на функции митохондрий животных клеток, и в первую очередь, клеток крови человека.

В настоящей работе исследовано действие фуллерена C<sub>60</sub>[C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>((OH)<sub>4</sub>]<sub>6</sub> на мембранный потенциал митохондрий Т- и В- лимфоцитов и тромбоцитов в цельной крови здоровых доноров-добровольцев.

Трансмембранный митохондриальный потенциал измеряли с помощью витального рациометрического катионного флуорохрома JC-1 (Catalog No. 70011, Biotium, Inc. USA) на двухлазерном проточном цитометре FACSCalibur (BD, USA) и выражали в условных единицах как соотношение красного и зеленого сигналов флуоресценции FL2/FL1, генерируемых димерами и мономерами JC-1, соответственно. В качестве позитивного контроля применяли протонофорный разобщитель окислительного фосфорилирования карбонилцианид-3-хлорфенилгидразон СССР (Catalog No. ab141229, Abcam, UK). Для идентификации типа клеток в гепаринизированную венозную кровь вносили маркерные антигены (CD3-APC, CD9-APC и CD31-Alexa-Fluor-647).

Установлено, что исследуемый водорастворимый метанофуллерен C<sub>60</sub>[C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>((OH)<sub>4</sub>]<sub>6</sub> в концентрациях 4 и 40 мкмоль через 120 минут инкубации не изменяет митохондриальный потенциал Т- и В- лимфоцитов и в 1,5 раза снижает долю клеток с низким митохондриальным потенциалом  $\Psi_{m\text{low}}$  в популяции тромбоцитов при сравнении с интактным контролем.

Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии цитотоксического эффекта у этого производного фуллерена по отношению к исследованным популяциям клеток крови здоровых доноров. Обнаруженная способность соединения препятствовать спонтанному снижению митохондриального потенциала тромбоцитов, регистрируемому в интактных клетках при инкубации *in vitro*, обосновывает его дальнейшее изучение в контексте митохондриального цитопротектора тромбоцитов при патологиях и экстракорпоральном хранении тромбоцитарных концентратов.

## ПРИМЕНЕНИЕ PHEWAS КАТАЛОГА В ИЗУЧЕНИИ ПРОЛАПСА ТАЗОВЫХ ОРГАНОВ

Колобков Д.С.<sup>1</sup>, Хаджиева М.Б.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева, Москва, Россия

*m.had@vigg.ru*

Пролапс тазовых органов (ПТО) – распространенное гинекологическое заболевание, характеризующееся опущением и выпадением тазовых органов в результате ослабления связочно-мышечного аппарата. За последние два десятилетия выполнен ряд работ по изучению молекулярно-генетической природы данной патологии. В качестве генов-кандидатов определены гены, участвующие в сборке, синтезе и деградации коллагеновых и эластических волокон, гены рецепторов эстрогенов и прогестерона и др. Цель нашего исследования заключалась в дополнительном поиске полиморфных вариантов генов, ранее не изученных в ассоциации с ПТО. Для этого мы воспользовались каталогом PheWAS (Phenome-Wide Association Study), который содержит результаты широкогеномных исследований (с уровнем значимости  $p < 0.05$ ) 13835 европеоидов с доступными электронными историями болезней. Поиск ассоциаций «заболевание-ген» по каталогу PheWAS, производившийся в группе женщин с пролапсом ( $n=718$ ), привел к отбору 159 SNPs. Для вторичного анализа данных программой GSA-SNP на основе неравновесного сцепления (LD) выявленных вариантов был сформирован список из 175 генов, который затем с помощью ресурса KOBAS 2.0 сравнивался с данными из NHGRI GWAS каталога. Критериями отбора выступили размер группы (минимум 5 генов) и значение скорректированного поправкой Бенжамина-Хокберга FDR  $P < 0.10$ . Удовлетворяющей заданным условиям оказалась группа из шести генов (*WLS*, *SP7*, *MEPE*, *C6ORF10*, *CCDC170*, *SPTBN1*), связанная по NHGRI GWAS каталогу с минеральной плотностью костной ткани (позвоночник) (МПКТ), четыре из них (*WLS*, *MEPE*, *SP7*, *SPTBN1*) играют важную роль в дифференцировке костной ткани. Наиболее выраженный эффект был показан для гена *SP7* (Sp7 transcription factor), ответственного за дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток и остификацию костной ткани; аллель rs10876432-А данного гена ассоциирован с пониженной МПКТ в каталоге GWAS ( $P=1 \times 10^{-7}$ ) и с генитальным пролапсом по каталогу PheWAS ( $P=0.006243$ ,  $OR=1.195$ ). Взаимосвязь низкой МПКТ и ПТО среди женщин постменопаузального возраста ранее была отмечена в работах зарубежных коллег, объясняющих сопряженность данных патологий нарушением метаболизма коллагена. Таким образом, биоинформатический анализ генов, полиморфные варианты которых ассоциированы с ПТО по каталогу PheWAS, выявил связь риска развития пролапса с группой генов, отвечающих за минеральную плотность костной ткани.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект №15-04-02378).

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СПОСОБНОСТИ К ОБРАЗОВАНИЮ КОЛОНИЙ У РАЗНЫХ ТИПОВ КЛЕТОК КОНЕЧНОСТИ КРОЛИКА С ХОНДРОГЕННЫМ ПОТЕНЦИАЛОМ

Копелев П.В.<sup>1</sup>, Александрова С.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

*paха94@bk.ru*

В настоящее время еще не созданы оптимальные клеточные технологии для восстановления хрящевой ткани. Применяющийся в клинике метод трансплантации аутологичных хондроцитов имеет ряд недостатков, одним из которых является сложность получения достаточного количества хондроцитов, т.к. потенциал к размножению у клеток взрослых пациентов невелик. Поэтому идет поиск источников клеток, обладающих высоким пролиферативным и хондрогенным потенциалом. Высокая способность к колониобразованию является характерной чертой стволовых и прогениторных клеток. Этот признак выбрали критерием сравнения разных типов клеток. Цель работы - сравнительный анализ колониобразования у мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) костного мозга и клеток суставного хряща кролика.

В работе использовали первичные культуры клеток нижних конечностей новорожденных кроликов: 1) ММСК костного мозга; 2) клетки гиалинового хряща; 3) культура, содержащая клетки гиалинового хряща, синовиальной оболочки и сухожилий. Все типы клеток культивировали с плотностью 10 клеток/см<sup>2</sup> в течение 14 сут. Подсчет колоний и количества клеток в них проводили с помощью инвертированного светового микроскопа после окраски генциан фиолетовым.

Проведено сравнение колониобразования клеток, полученных из кусочков гиалинового хряща на разных пассажах. Клетки 8 пассажа через 14 сут формировали небольшое количество колоний, состоящих из 3-6 клеток. Эта же культура клеток 5 пассажа формировала единичные колонии порядка 50 клеток, 20% колоний насчитывали от 5-50 клеток. ММСК (пассаж 3) проявляли высокую способность к колониобразованию: 40% клеток формировали компактные колонии больше 50 клеток, остальные 60% - колонии из меньшего количества клеток. Колонии ММСК были компактнее колоний хондроцитов, и содержали больше клеток. Диплоидные хондроциты формировали более рыхлые колонии, с малым количеством клеток. Можно сделать вывод, что культура клеток хряща обладает ограниченным количеством клоногенных клеток, число которых снижается в процессе пассирования.

Клетки хряща и окружающих тканей сохраняли высокий пролиферативный потенциал и способность к колониобразованию при культивировании в течение 10 пассажей. На 9-ом пассаже 25% клеток формировали колонии, состоящие более чем из 50 клеток, остальные клетки - меньшие. Высокий хондрогенный потенциал синовиальной оболочки сустава связывают с наличием в ней ММСК.

Можно считать перспективной для использования в хондропластике суставов диплоидную культуру клеток хряща, обогащенную клетками окружающих тканей, т.к. она обладает высокой способностью к колониобразованию.

## КИНЕТИЧЕСКИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ФИЦИНА – НАТИВНОГО И ИММОБИЛИЗОВАННОГО НА СРЕДНЕМОЛЕКУЛЯРНОМ ХИТОЗАНЕ

Королева В.А., Холявка М.Г., Ольшанникова С.С., Сазыкина С.М.  
ФГБОУ ВО "Воронежский государственный университет", Воронеж, Россия

*koroleva\_victoria@bk.ru*

Цистеиновые протеазы являются группой ферментов, идентифицируемых в различных живых организмах (бактериях, дрожжах, растениях и животных), играют важную роль во внутриклеточном протеиновом гидролизе. В медицине и пищевой промышленности перспективными являются иммобилизованные энзимы. Хитозан нашел широкое применение в области биомедицины и ветеринарии, благодаря своей биосовместимости, низкой токсичности и деградации в организме.

Целью работы являлось исследование физико-химических и кинетических свойств фицина, растворимого и иммобилизованного на матрице кислоторастворимого среднемолекулярного хитозана.

Объектом исследования был выбран фицин (Sigma), субстратом для гидролиза являлся азоказеин (Sigma), носителем для адсорбционной иммобилизации – кислоторастворимый среднемолекулярный хитозан (Mг=200 кДа, степень деацетилирования – 82 %) (ЗАО «Биопрогресс»).

Установлено, что нативный и сорбированный на матрице хитозана фицин активен в широком температурном диапазоне: от 37 до 60 °С. Максимум каталитической активности как свободного, так и иммобилизованного фермента наблюдался при 37 °С, однако, при 70 °С растворимый фицин был полностью инактивирован, а сорбированный фермент сохранил до 70 % от исходной активности.

Изучение зависимости активности фицина от значения pH среды и концентрации субстрата показали, что удельная активность свободного и иммобилизованного биокатализатора была наиболее высокой при pH=7.5 и концентрации азоказеина, равной  $4 \cdot 10^{-5}$  М. Также были определены  $V_{\max}=104.17 \pm 0.99$  мкМ/(мг\*мин) и  $K_m=0.025 \pm 0.003$  мМ для растворимого фермента;  $V_{\max}=83.33 \pm 1.02$  мкМ/(мг\*мин) и  $K_m=0.031 \pm 0.009$  мМ для фицина, сорбированного на кислоторастворимом среднемолекулярном хитозане. Таким образом иммобилизация фицина на матрице хитозане привела к снижению  $V_{\max}$  и возрастанию значения  $K_m$  реакции ферментативного катализа субстрата.

Коллектив авторов выражает свою благодарность профессору, доктору биологических наук Артюхову Валерию Григорьевичу.

## ХАРАКТЕРИСТИКА АНГИОГЕННЫХ КОМПОНЕНТОВ ИЗ ЯДА ЩИТОМОРДНИКА

Мазур Е.Ю., Садыков Э.С., Султаналиева Н.М., Юнусова Э.С.

Института биоорганической химии им. акад. А.С.Садыкова АН РУз, Республика Узбекистан

*jenyok.1986@mail.ru*

Разработан хроматографический метод (TSK-GEL HW-50) получения суммы полипептидных регуляторов ангиогенеза (фракции 6-8) яда щитомордника. По нашим данным низкомолекулярная часть яда содержит мощные ингибиторы агонист-индуцированной агрегации тромбоцитов человека. Эти же компоненты (1-40 мкг/эмбрион) являются ингибиторами ангиогенеза (SAM-модель) *in vivo*. Фракции 6-8 элюировались в разных объемах, но при электрофорезе проявлялись гомологичными белками с мол. массой 14-18 кДа, что указывает на образование ими комплекса с другими компонентами яда. Изоэлектрическое фокусирование выявляет их гетерогенность с pI 3,55 и 3,65 соответственно. Структурную идентификацию фракции проводили ОФ ВЭЖХ (колонка XDB C18, Agilent Nechnologies, градиент ацетонитрила 5-65%). При этом время удержания основных компонентов фракций 7 и 8 было одинаковым, их количественное содержание составило соответственно 83,7 и 52,7%. Масс-спектрометрически определена мол. масса основного компонента обеих фракций, равная 13800 Да. Последующую очистку фракций осуществляли гидрофобной хроматографией (колонка с HA Ultogel) ступенчатым градиентом (0,005–0,5 М Na-фосфатного буфера (pH 6,6). При этом основной компонент удалось очистить от сопутствующих минорных компонентов. Анализ материалов в денатурирующих условиях выявил одинаковую подвижность в ПААГе обеих фракций 7 и 8, полученных после гидрофобной хроматографии. Учитывая то, что полученные при хроматографии яда щитомордника на TSK- HW-50 фракции содержат кислые пептидные компоненты с pI 3.55-3.65 была предпринята попытка разделения яда на том же носителе, но в слабокислых условиях. Замена аммоний-бикарбонатного (pH 7.6) буфера на 50 мМ уксусную кислоту (pH 3.0) позволила за одну стадию получить из яда четко отделяемую фракцию низкомолекулярных компонентов, электрофоретический анализ которых в нативных и денатурирующих условиях выявил свойства, схожие с пептидными фракциями, полученными ранее. Вопрос об их идентичности будет решаться путем проведения протеомного и функционального анализов.

## АНТИПРОЛИФЕРАТИВНЫЙ И АПОПТОЗ-ИНДУЦИРУЮЩИЙ ПОТЕНЦИАЛ БИНАЗЫ В ОТНОШЕНИИ КЛЕТОК HELA

Макеева А.В., Зеленихин П.В.

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

*annam.ksu@gmail.com*

Одной из наиболее важных проблем современной медицины является поиск щадящих средств противоопухолевой терапии. Среди РНКаз различного происхождения обнаружен ряд ферментов с противоопухолевой активностью. Для РНКазы *Bacillus pumilus* (ранее – *B. intermedius*) - биназы ранее была установлена избирательная цитотоксичность к клеткам, экспрессирующим онкогены *ras*, *kit*, *AML-ETO*. Также известно, что биназа способна индуцировать апоптоз опухолевых клеток, снижая потенциал мембраны митохондрий и открывая Ca(2+)-зависимые митохондриальные проницаемые поры. Одной из фундаментальных особенностей опухолевых клеток, наряду с их способностью избегать программируемой клеточной гибели, является неконтролируемая пролиферация. В связи с этим целью настоящей работы стала характеристика пролиферативной активности клеток опухоли шейки матки HeLa под действием биназы.

Клетки HeLa культивировали в среде Игла-МЕМ с добавлением 10% сыворотки и 100 ед/мл пенициллина и стрептомицина во влажной атмосфере 5%-м содержанием CO<sub>2</sub>. Внесение биназы в концентрации 300 мкг/мл осуществляли после формирования монослоем 60% конфлюэнтности. Клетки культивировали в присутствии фермента в течение 24 и 48 часов, после чего проводили оценку пролиферативной активности с помощью WST-1 теста (Roche), основанного на колориметрической детекции формазана, который образуется при восстановлении клеточными ферментативными системами

тетразолиевого красителя. Поглощение измеряли на мультиплашечном ридере при 450 нм с референтной длиной волны 630 нм. Апоптотические изменения клеток фиксировали с помощью проточного цитофлуориметра FACSCanto II (BD, США) с использованием красителя мероцианина-540. В качестве позитивного контроля использовали вариант с добавлением 50мМ камптотецина. Статистическая обработка результатов, полученных из трехкратных повторностей каждого эксперимента, проводилась стандартными методами в программе Statistica 7.0. Уровень пролиферации и долю апоптотических клеток выражали в (%) по отношению к клеткам, культивируемым в течение такого же времени без обработки биназой.

Культивирование клеток в присутствии биназы не привело к увеличению в популяции доли апоптотических клеток HeLa. Однако, несмотря на отсутствие апоптоз-индуцирующих свойств, биназа обладала антипролиферативным действием в отношении клеток HeLa: биназа не вызвала статистически достоверного понижения уровня пролиферации клеток HeLa после 24 культивирования, но через 48 ч культивирования в присутствии биназы число активно пролиферирующих клеток снизилось на 27% по сравнению с контрольным вариантом.

### **СОЗДАНИЕ ИММУНОГЕНА ПРОТИВ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА НА ОСНОВЕ ХИМЕРНОГО РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА L2E7**

**Малахов И.С., Аль-Шехадат Р.И., Духовлинов И.В.**

ФГУП Государственный Научно-исследовательский институт особо чистых препаратов ФМБА, Санкт-Петербург, Россия

*ipaty.malakhov@yahoo.com*

Рак шейки матки является одним из наиболее распространенных видов новообразований, занимая 7 место в мире среди всех злокачественных опухолей. Необходимым условием развития рака шейки матки является наличие в клетке ДНК вируса папилломы человека. В настоящее время в мире доступны две вакцины (Церварикс и Гардасил) против вируса, производимые в Бельгии и Нидерландах соответственно. Эти вакцины весьма эффективны в предотвращении инфицирования вирусом, однако они обладают рядом минусов: вакцины предотвращают заражение некоторыми онкогенными штаммами вируса и не способны оказать влияние на уже зараженные клетки. Кроме того, из-за необходимости производства Гардасила и Церварикса в эукариотических векторах они очень дороги. Разрабатываемый в данной работе иммуноген на основе химерного рекомбинантного белка L2E7 может проявлять защиту против всех онкогенных штаммов вируса и обладать активностью в отношении уже проникшей в организм инфекции (вызванной штаммами ВПЧ-16 и ВПЧ-18, 70% циркулирующих в популяции онкогенных штаммов вируса папилломы).

В ходе работы мы разработали дизайн аминокислотной последовательности кандидатного иммуногена и провели *in silico* моделирование его 3D структуры с использованием алгоритма I-Tasser. Все домены белка обладают природной 3D структурой благодаря рациональному выбору границ доменов и использованию гибких неиммуногенных мостиков.

Далее мы синтезировали оптимизированный по составу кодонов *E.coli* ген *l2e7* и получили штамм-продуцент рекомбинантного белка. Выход белка составил 18%. Был оптимизирован метод очистки химерного рекомбинантного белка L2E7 с использованием металлоафинной хроматографии на Ni-NTA сефарозе в восстанавливающих денатурирующих условиях. Разработан метод рефолдинга полученного очищенного белка многоступенчатым диализом с уменьшением концентрации мочевины на первом шаге и последующем удалением восстанавливающего агента (2-меркаптоэтанола). Выход продукта составляет 25 мг белка из 1 л культуры с чистотой 92%.

Предполагается, что белок L2E7 способен вызывать иммунный ответ, предотвращающий заражение всеми существующими онкогенными типами вируса папилломы человека, а также элиминировать уже установившуюся инфекцию, вызываемую 70% циркулирующих в популяции онкогенных типов вируса папилломы.

### **АКТИВНОСТЬ КАТАЛАЗЫ И ИНТЕНСИВНОСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ГЛЮКОКОРТИКОИДНОЙ ОСТЕОРЕЗОРБЦИИ У КРЫС НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ АЛЛОГЕННОГО ГИДРОКСИАПАТИТА**

**Маркелова Д.Ю., Даниэль М.А., Жандарова К.А.**

ФГАОУ ВО Самарский государственный аэрокосмический университет им. С.П. Королева, Самара, Россия

*milena.daniel@yandex.ru*

Целью исследования было изучение воздействия нанобиоматериала на основе минерального компонента костной ткани (аллогенный гидроксиапатит) в эксперименте на крысах. Исследуемый гидроксиапатит был получен по методике разработанной в ИЭМБ СамГМУ и модифицированной для животных.

Эксперимент проводился на 60 крысах (самцах) массой 250-300 г. Животные были разделены на две группы. Длительность эксперимента в первой группе составляла 14 суток, во второй - 28 суток. В каждой группе выделяли интактных животных, животных с моделированием глюкокортикоидной остеорезорбции, которым в течение 14 суток внутрибрюшинно вводился гидрокортизон (10 мг/кг массы животного) в одно и тоже время, животных, которым на фоне введения глюкокортикоидов однократно вводили суспензию стерильного ГАП в изотоническом растворе хлорида натрия в бедренные мышцы крыс в концентрации 100 мг/кг массы тела, а также плацебо. Для проведения биохимических исследований у животных собирали кровь, печень, почки, сердце, мышечную ткань.

Была проведена оценка интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в тканях экспериментальных животных. Уровень малонового диальдегида статистически значимо не отличался в экспериментальных и контрольных группах животных как в печени, так и в мышечной ткани. При исследовании различных видов ПОЛ в мышцах отмечалась тенденция к снижению интенсивности процессов перекисного окисления при введении гидроксиапатита в обеих дозах. При исследовании различных видов ПОЛ в печени не было выявлено статистически значимых отличий между интактными и экспериментальными группами. Активность каталазы в мышечной ткани крыс при инъекциях глюкокортикоидов и эктопическом введении аллогенного гидроксиапатита через 14 суток снизилась, через 28 суток отмечено повышение относительно животных с глюкокортикоидной остеорезорбцией. По результатам проведенных исследований не было выявлено отклонений, все показатели метаболизма костной ткани находились в пределах нормы.

Полученные данные не выявили токсических и иммуногенных свойств у полученного нанобиоматериала.

#### **ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ РЕКОМБИНАНТНОГО ФРАГМЕНТА АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИНА (357-590 А.К.) С ДОПОЛНИТЕЛЬНОЙ (POLYGLU21) ВСТАВКОЙ**

**Моллаев М.Д.<sup>1</sup>, Фаустова М.Р.<sup>1</sup>, Никольская Е.Д.<sup>2</sup>, Яббаров Н.Г.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Московский государственный университет тонких химических технологий имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия; <sup>2</sup>Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба - филиал ФГБУ НМИРЦ Минздрава России, Калужская область, Обнинск, Россия

*md-mollaev@yandex.ru*

Создание направленных систем доставки лекарственных средств (ЛС), на сегодняшний день, является перспективной задачей исследователей. Известно, что некоторые линии опухолевых клеток человека активно экспрессируют рецепторы альфа-фетопротеина. Использование abortивного альфа-фетопротеина человека (АФП) в качестве векторной молекулы затруднено по экономическим и эстетическим причинам, в связи с чем, появляется необходимость создания рекомбинантных аналогов.

Рекомбинантный фрагмент АФП с 357 по 590 аминокислоту, содержащий дополнительную вставку (polyGlu21) и his-tag на С-конце был получен в штамме *E.coli* Shuffle express. Полученный белок был выделен хроматографическими методами и охарактеризован. Эксперименты по подтверждению специфической активности показали, что полученный фрагмент характеризуется высокой афинностью к 4 различным видам моноклональных антител к нативному АФП. Методом проточной цитофлуориметрии показано, что полученный белок активно связывается с поверхностью клеток аденокарциномы яичника линии SCOV3, имеющими на своей поверхности рецепторы к АФП, при 4°C и интернализуется при 37°C, что указывает на механизм поглощения клетками путем рецептор-опосредованного эндоцитоза. При этом показано, что белок не интернализуется лимфоцитами периферической крови человека независимо от температуры.

Предполагается, что полученный рекомбинантный фрагмент АФП сможет найти применение в качестве векторной молекулы для направленного транспорта высокотоксичных лекарственных средств в некоторые опухолевые клетки. Дополнительная С-концевая последовательность, содержащая в сумме 21 остаток глутаминовой кислоты, позволяет проводить конъюгацию полученного белка по многочисленным карбоксильным группам с некоторыми цитотоксическими лекарственными средствами в высоком мольном соотношении (ЛС:белок). Также, обилие высокополярных функциональных групп может повысить растворимость конъюгатов данного белка, в сравнении с белком предшественником.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 15\_15\_10013).

## **ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССОВ РАЗРУШЕНИЯ ОБОЛОЧКИ И ВЫХОДА БЕЛКА ИЗ МИКРОКАПСУЛ, СОСТОЯЩИХ ИЗ НЕБИОДЕГРАДИРУЕМЫХ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТОВ, В СВЯЗИ С ПРОБЛЕМОЙ СОЗДАНИЯ ГАЗОТРАНСПОРТНОЙ СИСТЕМЫ ЧЕЛОВЕКА**

**Мусин Е.В.<sup>1,2</sup>, Ким А.Л.<sup>1,2</sup>, Кочеткова О.Ю.<sup>2</sup>, Тихоненко С.А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушино, Россия

*eglorok@gmail.com*

Одним из основных направлений наших исследований является разработка методики капсулирования гемоглобина в полиэлектролитные микрокапсулы (ПМК), с сохранением его химических свойств, для применения в качестве газотранспортной системы человека. Такой метод в перспективе позволит отказаться от донорской крови и сделает процедуру гемотрансфузии гораздо более доступной.

Целью данной работы является изучение динамики выхода белка из полиэлектролитных микрокапсул и диссоциации оболочки, состоящей из полиаллиамина (ПАА) и полистиролсульфоната (ПСС).

Для получения полиэлектролитных микрокапсул, использовался метод поочередного наслаивания противоположно заряженных полиэлектролитов (ПАА, ПСС) на дисперсные частицы нано- и микроразмеров, которые удаляются на финальной стадии приготовления. Методом флуоресцентной спектроскопии исследованы деградация оболочки полиэлектролитных микрокапсул и выхода белка из них в присутствии солей сульфата аммония и хлорида натрия разных концентраций, а также при двух значениях pH.

Установлено, что высокая концентрация хлорида натрия (2 М) приводит к значительной диссоциации ПАА с верхнего слоя оболочки, что, по-видимому, связано с ее разрыхлением под экранирующим воздействием ионов на сульфо- и аминогруппы полиэлектролитов. В то же время 0.2 М хлорид натрия и сульфат аммония такой же ионной силы (0,1 М) практически не вызывают увеличения количества диссоциировавшего полимера, а значит и разрушения оболочки микрокапсул.

Повышение значения pH раствора до 7,5 также вызывает отслаивание ПАА, подобное поведение оболочки может быть объяснено тем, что данное значение pH находится близко к точке перезарядки аминогруппы, что приводит к ослаблению связей между NH<sub>3</sub><sup>+</sup> и SO<sub>3</sub><sup>-</sup> группами полиэлектролитов.

Однако этот эффект уменьшается примерно в 2 раза при повышении температуры до 37° С, что может быть связано с нагревом оболочки микрокапсул, которая утолщается из-за уменьшения количества несвязанных между собой “хвостов” и “петель” полиэлектролитов и приводит к увеличению ее устойчивости.

Показано, что инкапсулированный белок практически не выходит из микрокапсул вне зависимости от присутствия в среде солей и их концентрации. Данный факт может быть объяснен их ультраструктурной организацией.

Изучение деградации оболочки полиэлектролитных микрокапсул имеет исключительное значение при создании газотранспортной системы на основе ПМК. Полученные данные позволяют улучшить и разнообразить существующие конструкции микрокапсул, что приведет к решению как научных, так и прикладных задач.

## **СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ S100, PMP2, PMP22 В СПИННОМОЗГОВЫХ ГАНГЛИЯХ ПОСЛЕ АУТОНЕРВНОЙ ПЛАСТИКИ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА ПРИ СТИМУЛЯЦИИ РЕГЕНЕРАЦИИ МЕЗЕНХИМНЫМИ СТВОЛОВЫМИ КЛЕТКАМИ ЖИРОВОЙ ТКАНИ**

**Мухаметова Л.Р.<sup>1</sup>, Масгутова Г.А.<sup>1</sup>, Масгутов Р.Ф.<sup>2</sup>, Гаранина Е.Е.<sup>1</sup>, Ризванов А.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Казань, Россия; <sup>2</sup>ГАУЗ Республиканская клиническая больница МЗ РТ, Казань, Россия

*vixen\_133@mail.ru*

Наиболее оптимальным подходом для преодоления дефекта поврежденного нерва является аутонервная пластика. В работе проведена сравнительная оценка экспрессии генов *S100*, *Pmp2*, *Pmp22* спинномозговых ганглиев L4-L6 после пластики седалищного нерва при стимуляции регенерации мезенхимными стволовыми клетками жировой ткани на сроках 30 и 60 суток после травмы.

В работе в левом и правом седалищном нерве формировали диастаз длиной 1 см. Замещение дефекта нерва производили отрезком нерва контралатеральной стороны с последующим сшиванием конец-в-конец. В левом седалищном нерве, по длине вставки, производили аппликацию с тиссуколом с растворенным в нем МСК. Пластика правого седалищного нерва осуществлялась без МСК. Оценку экспрессии генов осуществляли методом Real Time PCR. Контролем служили интактные животные. Статистически достоверный результат принимали при  $p < 0,05$ .

Анализ экспрессии гена *S100* отобранных образцов показал на 30 сутки как снижение так и увеличение экспрессии: левосторонние спинномозговые ганглии L4 – снижение на 47,2%, L5 - увеличение на 41,6%, L6 - снижение на 22,3%; правосторонние спинномозговые ганглии L4 - увеличение на 4,8%,



L5 - снижение на 66,2%, L6 - увеличение на 10,6%. На сроке 60 суток данные показывают снижение экспрессии гена во всех образцах в среднем на 95%, за исключением левостороннего ганглия L5 в котором наблюдалось увеличение на экспрессии 12,5%. Для гена *Pmp22* на 30 сутки отличий в экспрессии в левом ганглии L4 не выявлено, в остальных образцах анализ показал снижение в разном процентном соотношении: левые L5 - на 72,2%, L6 - на 44,5%; правые L4 - на 90%, L5 - на 32,5%, L6 - на 90,4%. Данные экспрессии на 60 сутки показали увеличение левых спинномозговых ганглиев L4 - на 55,1%, L5 - на 8,6%, правого L5 - на 50%, снижение экспрессии левого L6 на 76%, и правосторонних ганглиев L4 на 48,8% и L6 на 62,8%. Оценка экспрессии гена *Pmp2* на сроках в 30 и 60 суток показала значительное снижение уровня экспрессии во всех образцах по сравнению с интактной группой животных.

Таким образом, оценка экспрессии генов методом Real Time PCR дает представление об эффективности регенерации седалищного нерва после его травмы.

### **ПОЛУЧЕНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В СОСТАВЕ ДНК-ВАКЦИНЫ ХИМЕРНОГО ГЕНА НАVG-1-8, КОДИРУЮЩЕГО ПОЛИПЕПТИД, СОДЕРЖАЩИЙ ОСНОВНЫЕ АНТИГЕННЫЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ АЛЬФА, БЕТА И ГАММА-ГЕРПЕСВИРУСОВ ЧЕЛОВЕКА**

**Назаров А.С., Богомолова Е.Г., Добровольская О.А.**

ФГУП Государственный Научно-исследовательский институт особо чистых препаратов ФМБА, Санкт-Петербург, Россия

*nazarov.ngu@gmail.com*

Герпес-вирусные инфекции широко распространены по всему миру и имеют постоянную тенденцию к неуклонному росту. Характерными особенностями вирусов герпеса человека являются способность персистировать в клетках хозяина длительное время, а также вовлекать в инфекционный процесс многие органы и системы организма человека. Это обуславливает многообразие вызываемых герпес-вирусами заболеваний, варьирующих от простых кожно-слизистых до угрожающих жизни генерализованных инфекций. Современные исследования в области создания антигерпетических препаратов направлены на разработку рекомбинантных вакцин на основе определенных антигенов вирусов герпеса человека. Наиболее перспективной антигерпетической вакциной может служить ДНК-вакцина, представляющая собой генно-инженерную конструкцию, обеспечивающую синтез вирусных белков *in vivo*. Важнейшими преимуществами ДНК-вакцин являются способность активировать как гуморальный, так и клеточный иммунитет, а так же долговременная экспрессия антигенов. Эта способность ДНК-вакцины обеспечит повышенную эффективность для лечения инфекций, вызванных различными типами вирусов герпеса человека, так как они способны находиться латентно в клетках хозяина. В ходе исследования разработан дизайн генно-инженерной конструкции на основе плазмиды pcDNA3.1, кодирующей протеин, который содержит основные антигенные детерминанты альфа, бета и гамма-герпесвирусов человека, а также будет выполнен синтез данной генной вакцины. В качестве мишеней для ДНК-вакцины были выбраны гликопротеины вирусов, которые обеспечивают проникновение вирусных частиц в клетки. Выбор данных белков основывался на том факте, что они являются постоянными компонентами оболочек вирусов герпеса, а также на том, что эти белки являются высокоиммуногенными и специфичными для каждого типа вирусов герпеса человека. Аминокислотная последовательность кодируемого белка оптимизирована с целью повышения эффективности антиген презентации иммунокомпетентными клетками. Помимо основной ДНК-плазмиды была разработана другая генно-инженерная конструкция, кодирующая человеческий ИФН- $\gamma$ , который будет выступать в качестве адьюванта будущей ДНК-вакцины. Данная плазмидная ДНК будет синтезирована и также включена в состав субстанции будущей вакцины. Таким образом, в ходе исследования будет выполнен не только дизайн и оптимизация последовательности плазмидной ДНК и ее последующий синтез, но и исследование экспрессии полученного гена химерного белка, содержащего антигенные детерминанты вирусов герпеса человека, и в случае положительных результатов, переход к доклиническим и клиническим испытаниям.

### **ОЦЕНКА ГЕПАТОПРОТЕКТИВНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИМИДИНА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЧЕТЫРЕХХЛОРИСТОГО УГЛЕРОДА**

**Назаров Н.Г.<sup>1,2</sup>, Зобов В.В.<sup>1,2</sup>, Выштакалюк А.Б.<sup>1</sup>, Резник В.С.<sup>1</sup>, Семенов В.Э.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова КНЦ РАН, Казань, Россия;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Казань, Россия

*nail-naz@yandex.ru*

В настоящее время заболевания, связанные с поражениями гепатобилиарной системы, занимают ведущее место среди патологий, вызывающих необратимые нарушения в функционировании всех систем живого организма. Это связано с тем, что печень является не только органом, в котором протекают центральные звенья обмена белков, липидов и углеводов, но и барьером, выполняющим функции детоксикации всех чужеродных веществ, попадающих в организм человека.

Целью работы является оценка эффективности новых производных пиримидина – конъюгатов лекарственного препарата Ксимедон и биогенных кислот при токсическом воздействии четыреххлористого углерода.

Токсический стресс моделировали путем 3-х кратного подкожного введения белым беспородным крысам обоего пола 50% масляного раствора четыреххлористого углерода в дозе 2 мл/кг. Введение соединений осуществляли по двум схемам – профилактической (введение препаратов за 1 час до введения  $CCl_4$ ) и терапевтической (введение препаратов начиная со 2-х суток после последнего введения  $CCl_4$ ).

Оценивали выживаемость, температуру тела и определяли 20 биохимических показателей – маркеров токсического поражения четыреххлористым углеродом.

В результате экспериментов показано, что под действием  $CCl_4$  выживаемость животных составила 84%. При этом потеря массы в среднем составила ~35 г, температура тела снизилась с  $38,59 \pm 0,14$  °C до  $33,19 \pm 0,17$  °C ( $p < 0,001$ ). Под действием четыреххлористого углерода статистически достоверное изменились 13 из 20 исследованных биохимических показателей: повысились показатели цитолиза АЛТ, АСТ, ЛДГ, показатели пигментного обмена билирубин общий, билирубин прямой, показатели азотистого обмена (креатинин, мочевины), снизились показатели синтетической функции печени белок, триглицериды, ферменты липаза, амилаза. Через 5 суток после воздействия четыреххлористым углеродом уровень АЛТ оставался выше, содержание белка ниже по сравнению с интактной группой ( $p < 0,05$ ), повышение АСТ было статистически не достоверным, структурно-морфологические признаки поражения печени сохранялись.

В условиях введения конъюгата Ксимедона с аскорбиновой кислотой при профилактической и терапевтической схемах воздействия выявлена нормализация биохимических показателей крови, проявляющаяся в снижении активности АЛТ и АСТ, увеличении концентрации белка и в уменьшении признаков структурно-морфологических поражений печени, выявляемых на гистологических срезах, по сравнению с контрольной группой.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ грант № 14-50-00014.

#### **ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСНОГО СОЕДИНЕНИЯ ВКЛЮЧЕНИЯ ДИГИДРОКВЕРЦЕТИН- $\beta$ -ЦИКЛОДЕКСТРИНА НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА IN VITRO**

**Наумов А.А.<sup>1,2</sup>, Поцелуева М.М.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия

*andrey.130gmail.com*

В настоящее время наблюдается увеличение применение дигидрокверцетина (ДГК) как биологически активного вещества, обладающего антиоксидантными, противовоспалительными и регенерирующими свойствами. При этом применение ДГК ограничено его незначительной растворимостью в воде. Включение ДГК в комплекс с  $\beta$ -циклодекстрином позволяет значительно повысить его растворимость и расширить сферы его применения. Однако при этом возможно изменение активности ДГК, включенного в комплекс. В связи с этим целью данной работы являлось проведение сравнительного исследования действия различных концентраций водорастворимого комплексного соединения (дигидрокверцетин- $\beta$ -циклодекстрина) и чистого дигидрокверцетина (ДГК) на выживаемость клеток асцитной карциномы Эрлиха.

В работе исследовалась выживаемость клеток асцитной карциномы Эрлиха в течении 24ч. при культивировании в среде DMEM с 10% сыворотки в присутствии исследуемых препаратов. Диапазон используемых концентраций ( $3 \cdot 10^{-5}$  –  $3 \cdot 10^{-3}$  г/л) для ДГК и ( $1,2 \cdot 10^{-4}$  –  $1,2 \cdot 10^{-2}$  г/л) для ДГК- $\beta$ -циклодекстрина был выбран с учетом того, что исследуемый комплекс содержит 25% ДГК по массе. Было установлено, что все препараты вызывают дозу зависимое снижение концентрации опухолевых клеток через 24 ч инкубирования. Однако только комплекс ДГК- $\beta$ -циклодекстрина в дозе  $1,2 \cdot 10^{-2}$  г/л способен полностью подавить рост культуры и вызвать стабильную клеточную гибель на указанном интервале эксперимента. При этом цитотоксическая активность  $1,2 \cdot 10^{-2}$  г/л комплекса с эффективной концентрацией ДГК  $3 \cdot 10^{-3}$  г/л была на 10% выше, чем у нативного ДГК такой же концентрации.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта № 2014/281 Министерства Образования и Науки.

#### **ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ТРИТЕРПЕНОВЫХ А КОНДЕНСИРОВАННЫХ АЗОЛОВ**

**Небогатиков В.О., Толмачева И.А., Галайко Н.В., Назаров А.В., Гришко В.В.**

ФГБУН Институт технической химии РАН, Пермь, Россия

*vnebogatikov@gmail.com*

Поиск новых цитотоксических агентов, изучение свойств и анализ механизмов действия цитотоксически активных соединений – важный этап в разработке противоопухолевых лекарственных

средств, используемых в химиотерапии. Гетероциклическая природа современных противоопухолевых препаратов обуславливает постоянный интерес к полусинтетическим тритерпеновым производным с гетероциклическим фрагментом, многие из которых проявляют цитотоксичность и перспективны в качестве фармакологических активных агентов.

Цель настоящего исследования – оценка цитотоксичности тритерпеновых производных с фрагментом изоксазола, оксазола или триазола, конденсированных с циклом А тритерпеноида по связи С(1)–С(2) или С(2)–С(3). Цитотоксическую активность тритерпеновых азолов определяли с помощью МТТ-теста в микропланшетном варианте с использованием клеточных культур рабдомиосаркомы RD TE 32, немелкоклеточного рака легкого A549, меланомы MS, цервикальной Нер2с и колоректальной НСТ116 карцином. Соединения вносили в виде раствора в ДМСО. В качестве препарата сравнения использовали камптотетин, в качестве контроля – клетки с добавлением ДМСО. Измерение интенсивности окрашивания регистрировали на спектрофотометре FluoStar Optima (BMG Labtech, Германия) при длине волны 544 нм. Значение концентрации ( $IC_{50}$ ), вызывающей гибель 50% клеток в культуре, определяли с помощью программного обеспечения MS Excel и BMG Labtech.

В результате скрининговых исследований среди 12 соединений с уровнем цитотоксической активности в диапазоне 5,6–200,0 мкМ отобраны лупановые производные – триазол с С-28 сложноэфирной группой и *N*-ацетилзамещенный триазол с С-28 гидроксильной группой, проявляющие активность на уровне камптотетина в отношении культур опухолевых клеток. Показатель  $IC_{50}$  для незамещенного триазола составил 7,5; 7,9 и 10,1 мкМ для клеток RD TE 32, MS и НСТ116 соответственно. *N*-ацетилзамещенный триазол проявил более высокую активность в отношении клеток меланомы ( $IC_{50}$  5,6 мкМ) и был менее токсичен в отношении клеток рабдомиосаркомы ( $IC_{50}$  8,4 мкМ) и колоректальной карциномы ( $IC_{50}$  81,0 мкМ).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о высоком цитотоксическом потенциале лупановых А-конденсированных триазолов и перспективности дальнейшего исследования проапоптотического механизма их действия в отношении опухолевых клеток.

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта фундаментальных исследований УрО РАН № 15-21-3-2, грантов МК-5386.2016.3 и РФФИ № 16-33-00207.

#### **ИЗБИРАТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ НООТРОПНОГО ПРЕПАРАТА «СЕМАКС» В СТРЕССОРНЫХ И НЕ СТРЕССОРНЫХ УСЛОВИЯХ**

**Немец В.В.<sup>1</sup>, Виноградова Е.П.<sup>2</sup>, Лукина А.М.<sup>1</sup>, Соболев В.Е.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГУП "НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека" ФМБА, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*seva\_nemets@list.ru*

Для поддержания умственной работоспособности у работников профессий, сопряженных со стрессом и высокой концентрацией внимания, могут использоваться ноотропные препараты. При изучении этих препаратов необходим комплексный подход с использованием различных поведенческих методик.

Исследовали ноотропный препарат «Семакс», в стрессорных и не стрессорных условиях, действующий на лабораторных крыс с различным типом стрессорной реакции (активным и не активным).

Эксперимент проводили на белых беспородных крысах-самцах (n=40). Животных обучали в условиях ежедневного электрошокового стресса (до 1мА) в установке УРАИ (условный рефлекс активного избегания). Воздействие электрическим током производили 15-20 минут в день в течение 4-х дней. За 40 минут до начала тестирования животным опытных групп вводили «Семакс» в дозе 300 мкг/кг. Животным контрольной группы - 1% раствор крахмала. По окончании обучения в установке УРАИ проводили рандомизацию животных по типу стрессорной реакции (активной и не активной). Животных с высоким уровнем обучения (до 25 реакций «избегания»), классифицировали как активный тип стрессорной реакции. Остальных животных относили к «не активному» типу. Для тестирования ноотропной активности препарата в не стрессорных условиях использовали тест «распознавание нового объекта».

Под воздействием препарата «Семакс» у животных активного типа на 4-й день стрессорного воздействия достоверно увеличилось количество реакций «избегания» по сравнению с контролем в отличие от животных не активного типа стрессорной реакции. В не стрессорном тесте на распознавание нового объекта у «не активных» животных наблюдалось улучшение долговременной зрительной памяти (интервал - 24 часа) в отличие от животных активной группы.

Таким образом, эффективность ноотропного препарата «Семакс» различна в зависимости от типа стрессорной реакции животного (активный, не активный) и условий среды (стрессорные, не стрессорные).

## ПОИСК НОВЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ДЛЯ СНИЖЕНИЯ СТЕПЕНИ ПОСТЛУЧЕВЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ

**Никитина М.Ю.**

Филиал ФГАОУ ВПО ИАТЭ НИЯУ МИФИ, Обнинск, Россия

*Sunny.Marylin@mail.ru*

На сегодняшний день онкология занимает одну из лидирующих позиций среди всех заболеваний современного общества.

Основной способ борьбы с онкологией - лучевая терапия, но, несмотря на то, что этот метод является действенным, облучение вызывает негативные последствия для здоровья пациента. В связи с этим необходимо разрабатывать новые и совершенствовать уже существующие методы защиты тканей организма от гамма-облучения при максимальном действии излучения на саму опухоль.

Радиопротекторы - синтетические химические вещества или продукты природного происхождения, применение которых до или в ранние сроки после облучения обеспечивает защиту организма от действия ионизирующего излучения. К настоящему времени выявлен достаточно широкий круг веществ, обладающих противолучевой активностью. Наиболее известные существующие радиопротекторы эффективны только в высоких дозах, когда ярко выражены их побочные токсические эффекты. Поэтому поиск новых эффективных радиозащитных веществ и разработка новых методов и механизмов защиты являются приоритетными, перспективными и актуальными направлениями в радиобиологии, фармакологии и ряде других наук.

Исследования проводились на белых беспородных мышках-самцах. Все животные содержались в стандартных условиях вивария: естественное освещение, брикетированный корм, свободный доступ к воде.

В лаборатории радиационной фармакологии ФГБУ «Медицинский радиологический научный центр» Минздрава России были синтезированы новые химические вещества - производные изотиомочевины (ИТМ) – потенциальные радиопротекторы, среди которых наибольшей радиозащитной эффективностью обладает Т-1023.

В данной работе были доказаны радиозащитные свойства Т-1023. Главное преимущество этого химического соединения над стандартным протектором цистамином заключается в том, что доза, при которой он проявляет свою эффективность, значительно меньше среднелетальной, и обладает меньшей токсичностью, в отличие от цистамина.

## ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ЭФФЕКТА КВЕРЦЕТИНА И ГИНЕСТЕЙНА НА КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЕ HELA

**Нурматова М., Артыкбаева Г.М., Ялалова И.Р., Хашимова З.С.**

Институт биоорганической химии им. акад. А.С.Садькова АН РУз, Республика Узбекистан

*gulnoraar@rambler.ru*

Полифенолы, выделенные из растений, представляют интерес как субстанции для создания препаратов, предотвращающих туморогенез. При хроническом применении они подавляют трансформацию раковых клеток, ингибируют их пролиферацию. Среди систем передачи сигнала внутрь клетки наиболее актуальной является система клеточных медиаторов, предполагающая фосфорилирование белков. Известно, что под действием специфических факторов роста происходит автофосфорилирование рецепторных тирозинкиназ. Тирозинкиназный рецептор MET является рецептором для фактора роста гепатоцитов (HGF). Аберрантный сигналинг MET способствует прогрессии опухолей, усиливая пролиферацию, выживание, миграцию клеток и метастазирование. Инициация сигналинга начинается с фосфорилирования рецептора. Вмешательство в процесс передачи сигнала туморогенным фактором роста является перспективным подходом в противоопухолевой терапии.

**Целью** нашей работы явилось исследование эффекта полифенолов кверцетина и гинестейна на фосфорилирование рецептора MET в клеточной культуре HeLa.

**Методы.** Клетки HeLa обрабатывались кверцетином (Himedia) либо гинестейном (10 и 20 мкМ) (Sigma-Aldrich, Germany) и инкубировались в течение 1 ч при 37°C и 5% CO<sub>2</sub>, затем стимулировались ростовым фактором HGF (20 нг/мл) (Sigma-Aldrich, Germany). В лизатах определяли уровень фосфорилированного по тирозину MET набором Phospho-MET ELISA Kit (Sigma-Aldrich). Цитотоксический эффект оценивали традиционным МТТ тестом.

**Результаты.** Цитотоксический тест показал, что гинестейн подавляет пролиферацию по дозозависимому способу, максимальная активность отмечается при 100 мкг /мл (31,1%). Действие кверцетина в концентрации от 10-100 мкг/мл было в пределах 13,2-17,4% и не являлось дозозависимым. Цитотоксическое действие гинестейна и кверцетина сравнили с таковым у цисплатина, активность которого в таких же концентрациях была в 3 раза выше.

Клетки, преинкубированные с генистейном в концентрации 10 мкМ, обнаруживали низкий уровень фосфорилирования MET в сайте фосфорилирования тирозина по сравнению с контролем (79,38%), в то же время добавление HGF увеличивало фосфорилирование MET (87,6%). Преинкубация с кверцетином уменьшала фосфорилирование MET до 86,86%, тогда как преинкубация кверцетином в HGF-стимулированных клетках увеличивала фосфорилирование MET (97,31%).

Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что кверцетин и генистейн проявляют ингибирующий эффект на тирозинкиназную активность рецептора MET в дозах, равных физиологическим.

### **G-КВАДРУПЛЕКСЫ В ПРОМОТОРНЫХ ОБЛАСТЯХ ОНКОГЕНОВ: МИШЕНЬ ДЛЯ КООПЕРАТИВНОГО ПОДАВЛЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ**

**Оглоблина А.М.<sup>1</sup>, Жуликов Я.А.<sup>2</sup>, Алексеевский А.В.<sup>3</sup>, Якубовская М.Г.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>НИИ Канцерогенеза ФГБУ РОНЦ им. Н.Н.Блохина, Москва, Россия; <sup>2</sup>ГБОУ ВПО ПМГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия

*globbi@mail.ru*

Новым направлением молекулярной онкологии является изучение механизмов эпигенетической регуляции экспрессии генов неканоническими структурами ДНК, среди которых наиболее важным является стабилизация/дестабилизация G-квадруплексов (G4) - единственной неканонической формы нуклеиновых кислот, существование которой *in vivo* строго доказано. Промоторы онкогенов значительно обогащены G4-образующими последовательностями (G4-мотивами), в то время как гены-супрессоры опухолей обеднены данными мотивами.

При локализации G4-мотива в промоторной области гена, уровень его экспрессии определяется закономерностями перехода В-ДНК в неканоническую форму. Химические соединения способны модулировать процесс функционально значимого перехода В-ДНК в G4. Возможности использования потенциальных противоопухолевых препаратов, способных стабилизировать G4 и таким образом подавлять экспрессию онкогенов, в настоящее время активно изучаются.

С целью обнаружения онкогенов, содержащих G4-мотив в промоторной области и подверженных данному типу регуляции, был произведен биоинформатический анализ генома. Работа проводилась методами компьютерного анализа баз данных генома человека (human genome GRCh39/hg39). В результате проведения исследования были выявлены гены, содержащие QFS на расстоянии до 500 пар нуклеотидов от сайта старта трансляции.

Было выявлено более 50 онкогенов, содержащих G4-мотивы в промоторах, ранее не описанных в литературе. Пять из них (CSK, REL, CERK, RELA и PBX) были протестированы на наличие G4-зависимой регуляции экспрессии. Для этого клетки MCF7 обрабатывали классическим стабилизатором G-квадруплексов – лигандом TmPyP4 в концентрациях 50, 100 и 300 мкМ. Подбор концентраций проводили исходя из IC50, определяемой МТТ-тестом, которая составила 450 мкМ. Методом q-PCR обнаружено подавление экспрессии всех перечисленных генов, нормализация образцов проводилась по отношению к количеству мРНК генов домашнего хозяйства Rpl27. Наблюдали дозозависимый эффект подавления транскрипции: так при максимальной концентрации TmPyP4 (300 мкМ) экспрессия CSK снизилась в 2 раза, REL в 5 раз, CERK 5,6 раз, RELA 5,2 раз и PBX 5,6 раз. Таким образом, данные гены могут служить мишенями при разработке противоопухолевых препаратов - стабилизаторов G4.

### **РАЗРАБОТКА НОВОГО КРОВЕЗАМЕНИТЕЛЯ НА ОСНОВЕ ГЕМОГЛОБИНА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ**

**Орехова В.А.**

ФГБОУ ВПО Калужский государственный университет имени К.Э.Циолковского, Калуга, Россия

*orangefox1996@mail.ru*

Переливание донорской эритроцитарной массы в ветеринарии становится столь же востребованной лечебной процедурой, как и в медицине. Касается это в основном домашних животных. Необходимость переливания крови связана с тем, что домашние животные часто не доживают до глубокой старости, когда появляются заболевания, требующие хирургического вмешательства, нередко обширного и сопровождающегося массивной кровопотерей. Возможна потеря крови и при различных травмах, рождении потомства, несчастных случаях. Так же, питомцы страдают инфекционными заболеваниями и заболеваниями внутренних органов. Заготавливать эритроцитарную массу для каждого вида животных достаточно сложно, тем более, что и у животных существуют различия по группам крови. Поэтому даже однократное переливание крови без предварительного определения совместимости представляет определенную опасность, а повторное - может привести к тяжелым

последствиям. Значительным вкладом в хирургию может стать разработка и внедрение в практику универсального заменителя крови, пригодного для применения у многих видов животных.

Данный препарат может стать полноценной заменой донорских эритроцитов в неотложных и чрезвычайных случаях, сопровождающихся кровопотерей и шоком. Препарат прошел ряд доклинических исследований, в ходе которых была изучена фармакодинамика и определены параметры безопасности на лабораторных животных. Лечебное действие обусловлено стимулирующим (действует на различные функции животного организма), замещающим (перелитые эритроциты находятся в крови реципиента

30-120 дней), гемодинамическим и гемостатическим действием (переливание крови оказывает стимулирующие действие на систему гемостаза реципиента, вызывая умеренную гиперкоагуляцию, обусловленную увеличением тромбопластической и снижением антикоагулянтной функции крови) донорской крови. Препарат имеет длительные сроки хранения в обычных условиях (2 года при температуре от +4), свободен от опасности вирусного заражения, имеет высокую безопасность (т.к. решены проблемы с нефротоксичностью тетрамеров гемоглобина и очисткой гемоглобина от белковых примесей крови и фосфолипидов), удобен в применении (сухой лиофилизированный порошок), позволяет использовать более низкие (в 5-10 раз) концентрации препарата при сравнимой эффективности.

В настоящее время в России и странах СНГ действующего аналога нет. Наиболее близким по назначению является препарат Оксиглобин (BioPure, США), но его недостатком является высокая доза применения. Рынок России и стран СНГ по кровезаменителю с газотранспортной функцией можно сказать пуст. При этом, как показывает практика, потребность в препаратах подобного рода очень высока.

### СОЗДАНИЕ АНТИТЕЛ К ГАЛЕКТИНУ-3 ДЛЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ И ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ЦЕЛЕЙ

Павлова Е.В.<sup>1,2</sup>, Казаков А.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биологического приборостроения с опытным производством РАН, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ООО "Миранта Диагностика", Пушкино, Россия

*Catarios-KSU@mail.ru*

Семейство галектинов включает в себя пятнадцать белков-лектинов, которые способны связывать галактозиды. Среди них наибольшую клиническую значимость имеет галектин-3. Он достаточно широко распространен в тканях и органах млекопитающих, и выполняет сигнальные функции. Точный механизм его действия неизвестен, но показано, что он способен активировать нейтрофилы, макрофаги, тучные клетки, и опосредовать процессы адгезии, апоптоза и ангиогенеза. Доказано, что галектин-3 задействован в развитии злокачественных опухолей, сердечной недостаточности и фиброза. Блокировка его функций специфическими ингибиторами в экспериментах *in vitro* и *in vivo* зачастую приводит к снижению метаболического потенциала опухолевых клеток, и угасанию процессов фиброобразования тканей. Однако описанные в литературе ингибиторы галектина-3 представлены углеводами, что затрудняет их применение в клинике в качестве лекарственных средств. Поэтому целью нашей работы стало создание антител к галектину-3.

Были созданы конструкторы полноразмерных галектинов-3 макаки и человека в плазмиде pET28b. Антиген нарабатывали в *E.coli*, и очищали афинно на лактозил-сефарозе с последующей стадией гель-фильтрации на сорбенте Superdex75. Методом фагового дисплея была проведена селекция с чередованием галектинов-3 человека и макаки. Антигены чередовались для получения кросс-реактивных антител, т. к. в случае подтверждения их терапевтических свойств *in vitro*, последует стадия доклинических исследований *in vivo* на обезьянах. Нами были получены два уникальных фрагмента. Они были конвертированы в полноразмерные IgG, и наработаны в суспензионной культуре эукариотических клеток CHO-1. Взаимодействие полученных антител с галектинами-3 макаки и человека исследовалось методом поверхностного плазмонного резонанса на приборе Bio-Rad ProteOn™ XPR36. Расчеты констант взаимодействия проводили в стандартной программе ProteOn manager с использованием схемы бивалентного анализа. Величины равновесных констант диссоциации комплексов составили от 0.12 до 0.28 нМ.

В дальнейшей работе будет оценена клиническая значимость наших антител с точки зрения создания диагностической системы для определения содержания галектина-3 в сыворотке крови пациентов, и лекарственной формы для предупреждения метастазирования опухолей, и терапии фиброзов.

## РАЗРАБОТКА НОВОГО ПОДХОДА ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ АНТИДОТОВ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ ФОС НА IN VIVO МОДЕЛЯХ

Паликов В.А.<sup>1,2</sup>, Паликова Ю.А.<sup>1,2</sup>, Дьяченко И.А.<sup>1,2</sup>, Смирнов И.В.<sup>3</sup>, Мурашев А.Н.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>Филиал ФГБУН Института биорганической химии им. академиков М.Ш. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пушкино, Россия; <sup>3</sup>ФГБУН Институт биорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

*viktorpalikov@mail.ru*

На данный момент широко распространены фосфорорганические пестициды (ФОП), которые успешно используются против вредителей сельскохозяйственных культур. Обладая высокой эффективностью, они в тоже время высокотоксичны для человека и животных.

Существует множество способов изучения фармакодинамической активности противоядий при отравлении токсическими веществами, но на данный момент конкретной технологии оценки протективной активности антидотов не существует. В связи с этим возникает необходимость разработки комплексного подхода к исследованию инновационных препаратов, в частности, антидотов к различным отравляющим веществам.

Исследование проводилось на мышах линии Balb/c. В качестве отравляющего вещества был взят параоксон, относящийся к ингибиторам холинэстеразы необратимого типа. Контрольная группа получала физиологический раствор перорально. Токсин вводился мышам перорально в течение 14 дней в дозе 2,5 мг/кг. Во время эксперимента на 1,8 и 15 дни нами снимались показания дыхания, силы передних лап, массы тела, а в конце исследования был проведен тест «открытое поле».

Поведенческая активность исследуется в тесте «открытое поле» на многофункциональной системе TSE Multi Conditioning System Extended Advanced. Прибор Grip Strength позволяет оценить силу передних лап мыши. Для оценки состояния дыхательной системы применяется компьютерная система «PowerLab 8/35». По массе тела можно судить о качестве жизни и восстановлении после отравления.

Результаты. Проанализировав частоту дыхания, можно говорить о том, что группа мышей получавших параоксон, на 8 и 15 день исследования начали дышать чаще, чем контрольная группа. При этом частота дыхания на 15 день достоверно отличается от 8 дня у группы мышей с параоксоном. Дыхательный объем говорит о том, насколько глубоко дышит мышь. У группы мышей получавших параоксон дыхательный объем, на 8 и 15 день исследования значительно уменьшился по отношению к контрольной группе. Так же на 8 и 15 день этот показатель достоверно отличается в пределах исследуемой группы. Измерение силы передних лап на 8 и на 15 день исследования говорит о том, что группа мышей, которым вводился параоксон намного слабее контрольной группы. Двигательная активность мышей, которым вводился токсин, на 15 день уменьшилась практически в 9 раз в сравнение с контрольной группой.

Вывод. Данный подход для изучения активности антидотов к ФОП может найти своё практическое применение в доклинической практике.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПОЛИПЕПТИДНОГО АНАЛЬГЕТИКА, СЕЛЕКТИВНО ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩЕГО С TRPA-1 РЕЦЕПТОРАМИ

Паликова Ю.А.<sup>1,2</sup>, Паликов В.А.<sup>1,2</sup>, Дьяченко И.А.<sup>2</sup>, Мурашев А.Н.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия;  
<sup>2</sup>Филиал ФГБУН Института биорганической химии им. академиков М.Ш. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пушкино, Россия

*ulia2791@rambler.ru*

Восприятие боли – важная способность организма, позволяющая избегать раздражителей и минимизировать наносимый ему вред. Независимо от причин возникновения, многие заболевания сопровождаются болью и воспалением, резко снижающими качество жизни человека, его социальную адаптацию, вызывая постоянные страдания. Воспаление – это комплексный, местный и общий патологический процесс, возникающий в ответ на повреждение клеточных структур организма или действие патогенного раздражителя, и проявляющийся в реакциях, направленных на устранение продуктов повреждения, а если возможно, то и агентов (раздражителей), а также приводящий к максимальному для данных условий восстановлению в зоне повреждения. Именно воспалительный синдром является одной из основных причин обращения людей за врачебной помощью. Используемые в настоящее время анальгетики характеризуются рядом недостатков, и ведущие исследовательские коллективы и фармацевтические компании заняты разработкой новых болеутоляющих средств.

Недавнее открытие и описание семейства рецепторов TRPV-1 и TRPA-1 предоставил ряд потенциальных новых терапевтических мишеней для лечения хронической боли. Аллилизотионнат

(АПС) является агонистом TRPA-1 канала, тем самым способствуя развитию острой и воспалительной боли. Способность воздействовать на TRPA-1 каналы дает возможность моделировать острую и воспалительную боль, и на основе этой биомодели изучать активность новых препаратов.

Целью работы является изучение анальгетической активности рекомбинантного полипептида Ue-1 на мышах ICR с помощью теста АПС.

Материалы и методы. Анальгезирующее действие рекомбинантного полипептида Ue-1 мы проверяли с помощью теста АПС. Экспериментальной группе вводили Ue-1 внутримышечно в дозе 0,2 мг/кг, контрольная группа получала физиологический раствор внутримышечно в соответствующем объеме по массе животного. Через 20 минут мышам субплантарно в заднюю лапу вводился 0,5 % раствор АПС. После чего в течение 5 минут фиксировалось количество облизываний задней лапы и время её поджатия.

Так же измерялся диаметр подушечки задней лапы до момента введения вещества и во временные точки: 2; 4; 6 и 24 ч. после введения с помощью электронного штангенциркуля.

Результаты: При внутримышечном способе введения по результатам теста АПС через 20 минут в дозе рекомбинантного полипептида Ue-1 0,2 мг/кг были отмечены достоверные отличия между экспериментальными и контрольными группами в показателях количества облизываний лапы и времени её поджатия. Достоверные отличия в измерении диаметра лапы были обнаружены во всех временных точках 2; 4; 6 и 24 часа.

### **«ЭФФЕКТ МОЛОКА» ПРИ СРАВНЕНИИ ПОВЕДЕНИЯ ПОТОМСТВА КОНТРОЛЬНЫХ И ПОДСАЖЕННЫХ К ИММУНИЗИРОВАННЫМ К S100 ЖИВОТНЫХ**

**Перепеченова Н.А.<sup>1,2</sup>, Клокова К.В.<sup>1,2</sup>, Морозов С.Г.<sup>3</sup>, Сидякин А.А.<sup>3</sup>, Захарова И.А.<sup>3</sup>, Давыдов Д.М.<sup>3</sup>, Лобанов А.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушино, Россия; <sup>2</sup>Филиал ФГБУН Института биоорганической химии им. академиков М.Ш. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пушино, Россия; <sup>3</sup>ФГБНУ НИИ Общей патологии и патофизиологии РАМН, Москва, Россия

*Natka\_1511@mail.ru*

S100 - это группа димерных белков с молекулярным весом около 10кДа. Он обнаруживается в небольшом количестве в широком диапазоне клеток при различных условиях, но главным образом он является белком передачи сигналов и наибольшее количество его секретируется астроцитами – подвидом глиальных клеток. Период экспоненциального увеличения содержания S100 в онтогенезе совпадает с окончанием пролиферации, дифференцировки и началом функционирования синапсов. Передача белка S100 и антител к нему может происходить от матери к потомству не только через плаценту. Ряд авторов подчеркивает наличие значительного уровня S100 и некоторых других важных белков, в том числе антител, в грудном молоке.

Цель исследования – исследовать недостаток получаемого с молоком S100, как важного регуляторного пептида, на поведение потомства в определенный период постнатального развития.

Исследования проводились на стоке мышей ICR. Половозрелые самки иммунизировались трехкратно белком S100 с интервалом в 10 дней. После третьей иммунизации у животных анализировалась сыворотка крови на уровень антител к S100. Четвертая реиммунизация проводилась через 30 дней после третьей. На следующий день после последней иммунизации самки ссаживались с самцами для получения пометов.

Контрольные половозрелые самки ссаживались для получения потомства, после рождения часть помета от контрольных мышей подсаживалась к иммунизированным к S100 самкам, затем потомство тестировали в поведенческих тестах: избегание обрыва на приподнятой платформе (преодоление страха высоты) и Y-образный лабиринт (тест на поиск рукава с домашним запахом и двигательную активность в лабиринте).

У животных, которые недополучали S100 с молоком в гнездовом периоде постнатального развития, в ходе тестирования не было выявлено отличий по основному показателю физического развития – массе тела, но была заметна разница в поведении – подсаженные животные по сравнению с контрольными проявляли большую и не характерную для своего возраста двигательную и исследовательскую активность в тесте Y-образный лабиринт, а в тесте избегание обрыва наблюдалось снижение боязни высоты к последним дням тестирования. Данный феномен может быть применим к проблеме искусственного вскармливания.



**ИССЛЕДОВАНИЕ ПОСТУПЛЕНИЯ И ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ  
ПОРФИРАЗИНОВЫХ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КЛЕТОЧНЫХ  
ЛИНИЙ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ФЛЮОРЕСЦЕНТНЫЕ БЕЛКИ**

**Пескова Н.Н., Шилягина Н.Ю., Соколова Е.А., Брилкина А.А., Балалаева И.В.**

ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им.  
Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

*nin-22@yandex.ru*

Фотодинамическая терапия (ФДТ) является интенсивно развивающимся методом диагностики и лечения злокачественных новообразований. Необходимым этапом при исследовании каждого нового соединения является изучение механизмов его поступления в опухолевые клетки и внутриклеточного распределения. В настоящее время развивается подход к исследованию внутриклеточных мишеней фотосенсибилизаторов (ФС) с применением флуоресцентных белков.

Ранее в совместной работе с ИМХ им. Г.А. Разуваева РАН была получена серия соединений из группы тетраарилтетрацианопорфиразинов и показана перспективность их использования в качестве ФС. Целями данной работы являлось исследование поглощения и внутриклеточной локализации потенциальных агентов для ФДТ из данной группы соединений на стабильно трансфицированных клеточных линиях с флуоресцентно маркированными органеллами.

Нами была произведена трансфекция клеточной линии Т-24 (карцинома мочевого пузыря человека) для получения производных линий с флуоресцентно маркированными внутриклеточными структурами. Для этого методом липофекции в клетки был введен ген флуоресцентного белка TagGFP2, слитого с белком, определяющим его внутриклеточную локализацию (митохондрии или ядро).

С использованием селекции на среде с антибиотиками и последующей серии оптических сортировок были получены стабильно трансфицированные клеточные линии с флуоресцентно маркированными внутриклеточными структурами, которые были использованы для исследования внутриклеточного распределения тетраарилтетрацианопорфиразина с 4-фторфенильными (Pz1) и нафтильными (Pz2) боковыми радикалами.

Показано, что основными местами внутриклеточной локализации данных соединений в опухолевых клетках являются внутриклеточные мембраны, ядерная оболочка или прилегающие к ней структуры. Присутствие белков сыворотки крови в среде снижает скорость поступления порфиразинов в клетку, при этом введение Pz1 в составе наночастиц на основе полимерных щеток (Pz1-PB) уменьшает данный эффект. Показано, что для Pz1 и Pz1-PB в стандартной культуральной среде основным механизмом поступления в клетку является диффузия. Поступление Pz2 осуществляется преимущественно путем активного транспорта по caveолин-опосредованному пути эндоцитоза.

Локализация исследованных порфиразинов в мембранных структурах клетки позволяет рассматривать именно мембраны в качестве первичных мишеней фотодинамического воздействия.

Работа частично выполнена в рамках Госзадания 2014/134 (проект № 2460), а также при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (проект № 14.Z50.31.0022) и РФФИ (проект № 16-34-00772)

**СИНТЕЗ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫХ МИКРОКАПСУЛ,  
МОДИФИЦИРОВАННЫХ НАНОЧАСТИЦАМИ ДИОКСИДА ЦЕРИЯ**

**Попова Н.Р., Попов А.Л.**

ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия

*antonpopovleonid@gmail.com*

Наночастицы диоксида церия (наноцерий) рассматриваются как один из наиболее перспективных неорганических антиоксидантов для биомедицинского применения. Рассматривая наноцерий, как будущий терапевтический агент, существует необходимость разработки системы его адресной доставки в клетку, которая будет способна обеспечить процесс прецизионного дозирования препарата. В качестве эффективной системы доставки наноцерия могут выступать полиэлектролитные микрокапсулы. Нами показана возможность эффективной интеграции наноцерия, синтезированного цитратным способом, в структуру биodeградируемых и синтетических полиэлектролитных микрокапсул. Проведена комплексная оценка физико-химических характеристик структуры полученных микрокапсул методами ТЭМ, СЭМ, EDAX. Морфологический анализ синтезированных микрокапсул с помощью сканирующей электронной и конфокальной микроскопии определили типичную для этих микроструктур сферическую форму с некоторыми складками, которые формируются при подготовке образцов для анализа. Размеры синтезированных микрокапсул варьировались, при этом, синтетические микрокапсулы были более мелкие 2-3 мкм, нежели синтетические - 4-5 мкм. Можно было наблюдать незначительную агрегацию

биodeградируемых микрокапсул, хотя и не очень ярко. Характерная микроструктура и зернистость поверхности микрокапсул подтверждает наличие наночастиц диоксида церия в их структуре. Проведенный элементный анализ точно подтвердил наличие наночастиц диоксида церия в оболочке синтезированных микрокапсул. Анализ микрофотографий просвечивающей электронной микроскопии показал наличие наночастиц диоксида церия в структуре полиэлектролитной микрокапсулы. Для областей локализации наночастиц диоксида церия характерны более электронплотные участки. При более крупном увеличении в виде характерных структурированных линий отчетливо видна кристаллическая решетка наночастиц диоксида церия. Результаты экспериментов *in vitro* на культуре клеток нейробластомы человека В-50 подтверждают высокую эффективность доставки наночерия в клетку с использованием полиэлектролитных микрокапсул при сохранении его антиоксидантных свойств. Полученные результаты подтверждают возможность использования подобных систем в качестве высокоточной и контролируемой внутриклеточной адресной доставки наночастиц, обладающих терапевтическим эффектом.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 15-34-70019 «мол\_a\_мос», 14-44-03615 p\_центр\_a, № 3116-34-6024815 мол\_a\_дж.

### **ФУНКЦИОНАЛИЗАЦИЯ ПОВЕРХНОСТИ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА НАНОТРУБКАМИ ГАЛЛУАЗИТА**

**Рожина Э.В., Коннова С.А., Данилушкина А.А., Тарасова Е.Ю., Фахруллин Р.Ф.**  
ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Казань, Россия

*kazanbio@gmail.com*

Инженерия поверхности клеток человека актуальна и перспективна. Известно, что микробные клетки и бактерии имеют на своей поверхности защитный каркас, который защищает их от условий окружающей среды. Клетки млекопитающих не имеют надежной внешней стенки, и защищены только мембраной из двойного липидного слоя, которая является весьма восприимчивой к изменениям условий. Отметим, что механическая непрочность клеток млекопитающих значительно усложняет возможности химического воздействия на клетку, поэтому многие исследования лекарств *in vitro* невозможны или требуют долговременных и дорогостоящих процессов. Создание цитопротекторного каркаса на поверхности клеток млекопитающих из долговечных материалов перспективно для использования в различных тест-системах, клеточной терапии, восстановительной медицине, а также для фундаментальных исследований в области клеточной биологии. Существует ряд работ, в которых сделаны попытки создания оболочек у микробных клеток, дрожжей. В нашей лаборатории уже несколько лет исследуются свойства наноматериала галлузита, который является легкодоступным природным материалом и имеет особое значение для наномедицины и фармацевтики, поскольку способен связывать различные препараты внутри канальцев или на поверхности и удерживать их, увеличивая стабильность препарата или меняя скорость его освобождения. Нами осуществлено покрытие клеток аденокарциномы легкого человека (A549) защитным каркасом из полиэлектролита (РАН) и нанотрубок галлузита. Проведены эксперименты, в которых с помощью проточной цитометрии показано, что каркас из галлузита и полиэлектролита повышает устойчивость клеток к воздействию трипсина (окрашивание live/dead). Таким образом, мы показали, что создание цитопротекторного каркаса с применением наноматериала галлузита повышает устойчивость клеток.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной в рамках государственной поддержки Казанского (Приволжского) федерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров, и частично поддержана грантом РФФИ № 16-34-00196.

### **ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА НА СТАТУС МЕДИ У МЫШЕЙ**

**Рожкова Н.А.<sup>1</sup>, Соснин И.М.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Тольяттинский государственный университет, Тольятти, Россия

*natashatgu@yandex.ru*

Медь, тяжелый металл переходной группы, у млекопитающих - необходимый компонент для нормальной жизнедеятельности. Он входит в состав активных центров жизненно-важных ферментов (купроэнзимов), участвует в сигналинге, в регуляции апоптоза, нейротрансмиссии, пролиферации и неоваскуляризации. В физиологических условиях все атомы меди в организме находятся в координированном состоянии и не опасны для окружения. При нарушении структуры координационных сфер медь может покидать их и в свободном состоянии катализировать реакции типа Фентона, идущие с образованием активных метаболитов кислорода, вызывающих окислительный стресс, ведущий к гибели

клеток и/или расстройству регуляторных систем организма. Это способствует развитию нейродегенеративных заболеваний и росту опухолей, что нарушает метаболизм меди: при нейродегенерации она накапливается в мозгу, а опухоли стимулируют повышение уровня церулоплазмينا (ЦП, медьтранспортного белка и мультимедной (ферр)оксидазы) в крови. Для удаления накопленной меди в органах и блокирования биоценной меди для опухолевых клеток, используют хелаторы меди. Ранее мы показали, что ионы серебра Ag(I), изоэлектронные ионам меди Cu(I), снижают уровень биодоступной меди в организме лабораторных грызунов. В опытах грызунам добавляли в корм (50 мг/кг массы тела) AgCl (Ag-диета). У мышей наблюдали снижение оксидазной активности (уровень холо-ЦП) в сыворотке крови до нуля уже через три дня. При отмене Ag-диеты уровень оксидазной активности восстанавливался через 2 дня.

Цель данной работы - исследование влияния наночастиц серебра (СНЧ) на метаболизм меди у мышей. Синтезировали СНЧ путем восстановления элементарного серебра из раствора нитрата серебра. В воде растворяли  $\beta$ -циклодекстрин и гидроксид натрия, затем в раствор добавляли растительный полифенол. Смесь тщательно перемешивали до однородности, вводили раствор нитрата серебра и вновь тщательно перемешивали. Полученные образцы СНЧ были охарактеризованы спектрофотометрическими, электронно-микроскопическими и дифракционными методами. В работе был использован 25 мМ водный раствор СНЧ сферической формы,  $\text{Ø}20$  нм,  $D_{\text{max}}=340$  нм. СНЧ вводили в/б по 1 инъекции (400 мкг/кг массы тела) в течение 4 дней. О биодоступности СНЧ судили по появлению серебра в печени (определяли методом атомно-абсорбционной спектрометрии) и оксидазной активности сыворотки крови (тестирование оксидазной активности в геле, окрашенном орто-дианизидином). Показано, что СНЧ вызывают снижение активности ЦП в 10 раз. Обсуждаются перспективы использования СНЧ в качестве регулятора биодоступной внеклеточной меди у млекопитающих.

### **МЕТАБОЛИЗМ КОСТНОЙ ТКАНИ КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ГЛЮКОКОРТИКОИДНОЙ РЕЗОРБЦИИ И ВВЕДЕНИИ АЛЛОГЕННОГО ГИДРОКСИАПАТИТА**

**Романова Д.А., Горченкова М.Ю., Ерина Н.М., Агафонова А.И.**

ФГАОУ ВО Самарский государственный аэрокосмический университет им. С.П. Королева, Самара, Россия

*dasha-r94@mail.ru*

Целью исследования было изучение ряда биохимических показателей в сыворотке крови животных при моделировании стероидиндуцированной остеорезорбции на фоне введения аллогенного гидроксиапатита на разных сроках эксперимента.

Целью исследования было изучение ряда биохимических показателей в сыворотке крови животных при моделировании стероидиндуцированной остеорезорбции на фоне введения аллогенного гидроксиапатита на разных сроках эксперимента.

Исследования проведены на 60 беспородных лабораторных крысах-самцах массой 250 – 300 г. Все животные были разделены на группы со сроком эксперимента 14 и 28 суток. В каждой группе выделяли интактных животных, животных с моделированием глюкокортикоидной остеорезорбции, которым в течение 14 суток внутрибрюшинно вводился гидрокортизон (10мг/кг массы животного) в одно и тоже время, животных, которым на фоне введения глюкокортикоидов однократно вводили суспензию стерильного ГАП в изотоническом растворе хлорида натрия в бедренные мышцы крыс в концентрации 100мг/кг массы тела, а так же плацебо.

У животных при глюкокортикоидной остеорезорбции отмечено незначительное увеличение содержания свободного кальция в двух экспериментальных группах (14 и 28 суток) и ионизированного кальция во второй экспериментальной группе (28 суток); характерно высокое содержание остеокальцина в первой группе (увеличение на 30 % относительно контрольной группы) и кальцитонина во второй группе (увеличение на 37 % относительно контрольной группы) с глюкокортикоидной остеорезорбцией, в сравнении с контрольными группами и группами с ГАП. Содержание общего и ионизированного кальция изменялось слабо и находилось в пределах нормы, уровень паратиреоидного гормона и активной щелочной фосфатазы достоверно не отличались от контрольных групп, отмечено снижение концентрации остеокальцина и кальцитонина на разных сроках эксперимента относительно групп с глюкокортикоидной остеорезорбцией, что свидетельствует о снижении процессов костной резорбции в двух экспериментальных группах.

Экспериментальные данные свидетельствуют о снижении резорбции костной ткани на фоне введения гидроксиапатита на 14 и 28 сутки эксперимента. Нормализация метаболизма костной ткани отчетливо наблюдается на 28 сутки эксперимента.

## СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ В ОТНОШЕНИИ ОПУХОЛЕЙ ФЕНИЛЭТИЛИЗОТИОЦИОНАТА И «ТИАЦЕНА» НА ФОНЕ НАЗНАЧЕНИЯ КАНЦЕРОГЕННОГО АГЕНТА N-НИТРОЗОАМИНА

Румянцева Т.С.

Филиал ФГАОУ ВПО ИАТЭ НИЯУ МИФИ, Обнинск, Россия

*gracerum@mail.ru*

В многочисленных эпидемиологических исследованиях установлено, что в местах, где население потребляет большое количество овощей, содержащих изотиоцианаты, снижен риск возникновения опухолевых заболеваний в целом. В нескольких исследованиях установлено снижение риска заболевания раком предстательной железы у лиц, потребляющих большое количество овощей особенно крестоцветных, содержащих большое количество изотиоцианатов. Наиболее изученным является фенилэтилизотиоцианат. Показано, что механизм протективного действия этого изотиоцианата связан с его способностью модулировать активность ферментов метаболизма лекарств фазы I и II. При этом фенилэтилизотиоцианат ингибирует ферменты фазы I и активирует ферменты фазы II метаболизма лекарств. Большинство химических канцерогенов приобретают способность реагировать с ДНК и другими критическими компонентами клетки только после биотрансформации, происходящей под воздействием ферментов метаболизма лекарств фазы I. Ферменты метаболизма лекарств фазы II обеспечивают элиминацию канцерогенов из организма. Особый характер воздействия фенетилизотиоцианатов на ферменты обеих фаз приводит к ингибированию химического канцерогенеза. Также изотиоцианаты способны ингибировать рост опухолей, индуцируя апоптоз опухолевых клеток. Однако применение фенетилизотиоцианатов в качестве протективного препарата затруднено, т.к. он представляет собой маслянистую жидкость с сильным раздражающим действием. В связи с этим был синтезирован конъюгат фенетилизотиоцианата Тиацен, который не обладает раздражающим действием, а в животном организме метаболизируется с образованием свободного изотиоцианата.

**Цель работы:** оценить превентивное действие различных форм препарата «Тиацен» на образование опухолей в печени крыс при химическом канцерогенезе.

**Задача работы:** исследовать частоту образования опухолей в печени крыс при введении препаратов фенилэтилизотиоцианата и ПАМ-14 на фоне применения химического канцерогена - N-диэтилнитрозамина.

Для решения поставленной задачи сформировали 8 групп: по 16 крыс-самцов.

Проведенные исследования показали, что циклическая форма исследуемого препарат ПАМ-14 в комплексе с циклодекстрином обладает достоверно большим профилактическим действием в отношении опухолей по сравнению с действием только активной субстанции или его комплекса с циклодекстрином в тех же дозах. Эффективность циклической формы клатратного комплекса ПАМ-14 с циклодекстрином сравнимо по эффективности с препаратом-сравнения (фенилэтилизотиоцианата).

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СВЕТА НА МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Рысцов Г.К., Чернов А.С.

ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия

*gleb.8.ristsoff@gmail.com*

На данном этапе развития регенеративной медицины одним из наиболее стабильных методов восстановления поврежденного органа является пересадка тканей, сформированных из репрограммированных стволовых клеток, получаемые при помощи воздействия на них различных факторов дифференцировки.

Было выдвинуто предположение о том, что комплексное воздействие на культуры мультипотентных мезенхимальных клеток (ММСК) и фибробластов кожного покрова плода человека (HF) зеленым и красным светом с широким диапазоном длин волн позволит существенно повысить качество о скорость получения трансплантатов. Данные клетки были выбраны по причине способности давать начало клеткам остеогенного ряда и низкому уровню экспрессии комплексов гистосовместимости. Ранее уже было продемонстрировано, что воздействие светом на стволовые клетки способно приводить к смене пути их дифференцировки и долговременным метаболическим изменениям.

Экспериментальная работа выполнялась на клеточной культуре, перенесенной на 96 луночный планшет. Были выделены три экспериментальные группы: 1) контроль — интактные клетки, 2) клетки облучаемые зеленым светом ( $\lambda_{\max}=525\text{nm}$ ), 3) клетки облучаемые красным светом ( $\lambda_{\max}=633\text{nm}$ ). Облучение производилось в течение 25 мин  $W=1.2\text{Вт/м}^2$ . Обработанные таким образом клетки культивировались в течение недели с ежедневным подсчетом клеток. Также был произведен ПЦР анализ образцов, взятых через 2, 24, 48 и 74 часа после облучения, окраска флюоресцентным набором SYTO

“Live/Dead” и МТТ-тест. Визуальное наблюдение подтвердило начало дифференцировки по остеогенному пути, т. к. после облучения в культуре обнаруживались тяжи кристаллического фосфата кальция.

Основной упор делался на анализ уровня экспрессии онкомаркеров, остеогенных маркеров и маркеров клеточного цикла в тотальной РНК. Облучение красным или зеленым светом приводит к росту уровня экспрессии генов BMP1, SMAD2, SMAD4 (остеогены), TRAF2, (регулятор клеточного цикла) и снижению уровня экспрессии TNF, ALDH1A1 (проапоптотические и онкогены). При этом зеленый свет угнетает экспрессию проапоптотических G1CDKN1B (стимулируется красным) и TNFRSF1

Таким образом, можно предположить, что облучение зеленым и красным светом с широким диапазоном длин волн способно стимулировать пролиферацию клеток, не приводя при этом к риску последующего злокачественного перерождения или отмирания пересаживаемых тканей.

### **ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОТОКОЛА ПРОИЗВОДСТВА И КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА КОНДИЦИОНИРОВАННОЙ СРЕДЫ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ/СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЖИРОВОЙ ТКАНИ ЧЕЛОВЕКА**

Сагарадзе Г.Д.<sup>1</sup>, Григорьева О.А.<sup>1</sup>, Басалова Н.А.<sup>1</sup>, Нимирицкий П.П.<sup>1</sup>, Внуква А.А.<sup>2</sup>, Сысоева В.Ю.<sup>1</sup>,  
Калинина Н.И.<sup>1</sup>, Акопян Ж.А.<sup>1</sup>, Камалов Д.М.<sup>1</sup>, Суслина С.Н.<sup>3</sup>, Ефименко А.Ю.<sup>1</sup>, Ткачук В.А.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия; <sup>2</sup>ГБОУ ВПО  
ПМГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия; <sup>3</sup>ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов,  
Москва, Россия

*georgysagaradze@gmail.com*

Регенеративная медицина – современная мультидисциплинарная область, ориентированная на замещение или регенерацию поврежденных клеток, тканей или органов с целью восстановления их нормальных функций. Мезенхимные стволовые/стромальные клетки (МСК) представляют собой перспективный для применения в клеточной терапии и регенеративной медицине источник мультипотентных стволовых и прогениторных клеток взрослого организма. МСК продуцируют широкий спектр растворимых биологически активных молекул и внеклеточных везикул (ВВ), принимающих активное участие в репаративных и регенеративных процессах в поврежденных тканях. Различные исследовательские группы изучают регенеративные эффекты МСК на разнообразных экспериментальных моделях, а также в клинических испытаниях. Несмотря на эффективность использования МСК в регенеративной медицине, в настоящее время не наблюдается масштабного медицинского применения данного типа клеток. В то же время, кондиционированная среда МСК (МСК-КС), содержащая комбинацию растворимых секреторируемых продуктов МСК и ВВ, обеспечивает большинство терапевтических эффектов МСК и позволяет избежать сложностей, связанных с непосредственным введением клеток пациенту. МСК-КС может быть использована для разработки новых лекарственных средств и биоматериалов для регенеративной медицины, но для их эффективного и безопасного клинического внедрения нужно оптимизировать технологии производства МСК-КС, использовать разрешенные для клинического применения материалы, выбирать релевантные методики контроля качества и стандартизации. Мы разработали оптимизированный протокол производства КС от МСК жировой ткани человека, который основан на динамике накопления секреторируемых МСК ключевых факторов роста, секреторируемых при длительном кондиционировании клеток в подходящей для клинического применения среде. Мы показали специфическую активность полученной МСК-КС *in vitro* на моделях миграции фибробластов и эндотелиальных клеток человека, которые играют важную роль в репаративных и регенеративных процессах в поврежденной ткани. Учитывая сложный состав МСК-КС, были разработаны подходы к стабилизации данной субстанции. Дальнейшая оптимизация и валидация предложенных подходов позволит увеличить эффективность и стабильность лекарственных средств и биоматериалов на основе МСК-КС.

### **О МОЛЕКУЛЯРНОЙ ОСНОВЕ ГЕМОЛИЗА ЭРИТРОЦИТОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ БИЯДЕРНЫХ ТЕТРАНИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА – ДОНОРОВ ОКСИДА АЗОТА**

Соколова Е.М., Нешев Н.И., Психа Б.Л., Руднева Т.Н., Санина Н.А.  
ФГБУН Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка, Россия

*sem89@icp.ac.ru*

В эритроците существует невысокий, но относительно постоянный уровень генерации супероксида, который непрерывно образуется в реакции автоокисления оксигемоглобина. Как известно, одновременное присутствие в среде оксида азота и супероксида приводит к образованию пероксинитрита, с которым обычно связывают цитотоксические эффекты NO. Ранее нами было показано, что биядерные тетранитрозильные комплексы железа с тиолсодержащими лигандами (Б-ТНКЖ) вызывают гемолиз разбавленных суспензий эритроцитов. Предполагалось, что источником гемолитической активности

Б-ТНКЖ является оксид азота, а непосредственным индуктором гемолиза - пероксинитрит. Важно было установить, какой из нескольких известных механизмов развития пероксинитритзависимой цитотоксичности реализуется в эритроцитах. С учетом того, что действие многих цитотоксических эффекторов включает стадию активации пероксидного окисления липидов (ПОЛ), мы поставили перед собой цель сравнить действие на эритроциты Б-ТНКЖ и известного инициатора ПОЛ третбутилгидропероксида (t-BuOOH).

Была исследована зависимость скорости гемолиза под действием двух Б-ТНКЖ и t-BuOOH от температуры. Представление полученных данных в координатах Аррениуса выявило существенное различие в тангенсах угла наклона соответствующих графиков. Это указывало на значительное различие в энергиях активации гемолиза, что может свидетельствовать о различных механизмах гемолиза в этих двух случаях. Также было проведено прямое определение продуктов ПОЛ в эритроцитах с помощью ТБК-теста. В отличие от t-BuOOH, показавшего характерное для него концентрационнозависимое нарастание уровня ТБК-реактивных продуктов, Б-ТНКЖ не вызывали образования ТБК-реактивных продуктов.

На основе полученных результатов сделан вывод о том, что под действием изученных Б-ТНКЖ в условиях нашего эксперимента не происходит активации пероксидного окисления липидов эритроцитарной мембраны. Это означает, что пероксидное окисление липидов не может, скорее всего, рассматриваться в нашей системе в качестве молекулярной основы гемолиза эритроцитов под действием Б-ТНКЖ. Эти выводы согласуются с имеющимися литературными данными о гемолитическом действии синтетического пероксинитрита, согласно которым гемолитический процесс был нечувствителен к добавленным антирадикальным ингибиторам ПОЛ и, одновременно, эффективно ингибировался тиоловым антиоксидантом, ацетилцистеином. В связи с этим, можно полагать, что гемолитическое действие Б-ТНКЖ реализуется через известный для пероксинитрита механизм окисления сульфгидрильных центров в клетке.

#### **ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУММЫ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В СУХОМ ЭКСТРАКТЕ «АНГИОНОРМ» И ЛЕКАРСТВЕННОМ РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ, ВХОДЯЩЕМ В ЕГО СОСТАВ**

**Стручков П.А.<sup>1</sup>, Белобородов В.Л.<sup>1</sup>, Савватеев А.М.<sup>1</sup>, Колхир В.К.<sup>2</sup>, Воскобойникова И.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБНУ ВИЛАР, Москва, Россия

*peter455@yandex.ru*

Одним из перспективных направлений фитотерапии является применение препаратов на основе нескольких видов лекарственного растительного сырья (ЛРС). Так, отечественный препарат «Ангионорм», выпускаемый в виде таблеток, покрытых оболочкой, представляет собой суммарный экстракт четырех видов ЛРС: плодов каштана конского, корней с корневищами солодки, плодов боярышника и шиповника в соотношении в соотношении 30:15:20:35 соответственно. Препарат обладает антиагрегационным, ангиопротекторным, анальгетическим, противовоспалительным, вентоническим и диуретическим действием.

Суммарный экстракт смеси указанного сырья получают с помощью 25% этилового спирта, что позволяет извлечь из сырья сложный комплекс полифенольных соединений, имеющих биологическую активность. Одним из методов оценки суммы полифенольных соединений является спектрофотометрический метод, основанный на взаимодействии реактива Фолина-Чокалтеу с фенольными соединениями с образованием окрашенного продукта с максимумом оптической плотности в области 760 нм. Целью исследования было определение суммы полифенольных соединений как в суммарном сухом экстракте, так и в отдельных видах лекарственного растительного сырья.

Приготовление экстрактов: к 1 г измельченного сырья прибавляли 20 мл 25% этилового спирта, оставляли при комнатной температуре на 48 ч, затем фильтровали через бумажный фильтр. В дальнейшем экстракты хранили при t=10°C.

Сухой экстракт растворяли в 30% этиловом спирте, раствор центрифугировали.

Испытуемые растворы разводили до требуемой концентрации водой.

Для определения полифенольных соединений к испытуемым растворам добавляли реактив Фолина-Чокалтеу (щелочную среду pH=10 создавали с помощью натрия карбоната) и выдерживали в течение 30 мин при t=40°C, проводили измерение оптической плотности при  $\lambda=760$  нм.

Результаты измерений пересчитывали на массу эквивалента галловой кислоты с помощью калибровочного графика (GAE).

Содержание полифенольных соединений в суммарном экстракте составило 103,26±6,41 мг GAE/1 г экстракта (10,33%).

Содержание полифенольных соединений в экстракте плодов каштана конского составило 4,87±0,24 мг GAE/1 г экстракта, корней с корневищами солодки – 14,21±0,35 GAE/1 г экстракта, плодов боярышника – 2,75±0,18 мг GAE/1 г экстракта, плодов шиповника – 60,48±3,84 GAE/1 г экстракта. Столь высокие значения массы GAE для плодов шиповника можно объяснить тем, что содержащаяся в плодах

аскорбиновая кислота также реагирует с реактивом Фолина-Чокалтеу и вносит свой вклад в оптическую плотность при 760 нм.

### НОВЫЙ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ СПОСОБ СНИЖЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ АММИАКА В КРОВИ

Тихонова Л.А.<sup>1,2</sup>, Косенко Е.А.<sup>1,2</sup>, Каминский Ю.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО  
Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия

*ljudasik09@rambler.ru*

Одной из актуальных проблем, стоящих перед современной медициной, является борьба с различной острой и хронической интоксикацией. Наиболее широко для этих целей применяются дезинтоксикационные растворы для внутривенного вливания и гемаферез. Наиболее перспективным является введение в кровоток ферментов, которые могли бы активно перерабатывать токсины в безвредные для организма продукты. Однако этот метод сопровождается возникновением многочисленных побочных эффектов и иммунного ответа на введенное вещество. Одним из способов устранения нежелательных эффектов может быть использование эритроцитов в качестве «носителей» фермента.

Целью данной работы явилась разработка методики встраивания фермента глутаминсинтетазы (ГС) в эритроциты мыши (аммоциты) и изучение способности аммоцитов удалять аммиак из крови животных с экспериментальной гипераммониемией.

ГС является одним из основных ферментов, прямо утилизирующих аммиак. В норме уровень аммиака в крови не превышает 50-70 мкМ, но при многочисленных заболеваниях человека, а также после приема ряда препаратов всего лишь двукратное повышение концентрации аммиака в крови (гипераммониемия) может приводить к гепатоэнцефалопатии, потере сознания, судорогам, коме и смерти. Существующие способы снижения концентрации аммиака в крови непрямы и длительны (от нескольких часов до нескольких суток), и не лишены побочных эффектов. Поскольку в эритроцитах млекопитающих ГС отсутствует, введение данного фермента в эритроциты могло бы способствовать снижению повышенной концентрации аммиака в кровяном русле при различных патологиях.

Мы разработали способ внедрения ГС в эритроциты, основанный на диализе в гипотонических условиях с последующим запечатыванием эритроцитов в гипертоническом буфере. Была проверена нативность аммоцитов и целостность мембраны и оценено время жизни аммоцитов в кровяном русле. Введение аммоцитов в кровоток животных с экспериментально вызванной гипераммониемией приводило к быстрому удалению аммиака из крови. Полученные аммоциты сохраняли свою активность в течение 48 часов. Таким образом, на основе эритроцитов получено новое средство, позволяющее быстро удалять из кровотока высокие концентрации аммиака, который может накапливаться при различных патологических состояниях.

### АНТИМИКРОБНЫЙ ПЕПТИД АРЕНИЦИН-1 КАК ИНГИБИТОР СИСТЕМЫ КОМПЛЕМЕНТА

Умнякова Е.С.<sup>1</sup>, Леонова Т.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ НИИ Экспериментальной Медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*umka-biolog@mail.ru*

Антимикробные пептиды (АМП) и комплемент являются наиболее важными гуморальными факторами системы врожденного иммунитета. Длительная коэволюция и колоколизация этих факторов позволяют предположить существование взаимосвязи и тесного взаимодействия между различными АМП и белками комплемента. Такого рода взаимодействия могут играть решающую роль в процессе регуляции иммунного ответа со стороны системы комплемента.

До сих пор закономерности взаимодействия АМП с системой комплемента не подвергались всестороннему изучению на биохимическом уровне. В литературе имеются лишь разрозненные и противоречивые сведения о влиянии отдельных АМП на активацию комплемента.

В конкретном случае мы проводили изучение взаимодействия антимикробного пептида ареницина-1 (Ar-1) из целомацитов пескожила *Arenicola marina* с рецепторной молекулой классического пути комплемента – C1q.

С помощью рецепторно-ферментного и иммуноферментного анализа нам удалось выявить комплексы Ar-1 с белком комплемента C1q, которые были стабильны и в условиях высокой ионной силы (0,5 М NaCl). Способность Ar-1 взаимодействовать с C1q сравнима с таковой другого антимикробного пептида – протегрина-1 (PG-1), кателицидина из лейкоцитов свиньи. Данный пептид имеет сходную с Ar-1 третичную структуру: и Ar-1, и PG-1 образуют антипараллельные бета-шпильки, стабилизированные

дисульфидными связями. Возможно, подобная структура важна для взаимодействия этих пептидов с белком С1q.

Влияние Ag-1 на активацию комплемента оценивали с помощью антител-зависимого гемолиза эритроцитов барана. Обнаружили, что Ag-1 в концентрации 20 мкг/мл полностью подавлял активацию комплемента, а в концентрации 7 мкг/мл этот же пептид подавлял активацию частично.

Мы предполагаем, что этот антимикробный пептид может быть использован в качестве регулятора системы комплемента. Существует множество патологических состояний, связанных либо с гипо-, либо с гипер-активацией каскада комплемента, и потому важно продолжать изучение этого феномена с перспективой создания препарата для лечения последствий дисрегуляции системы комплемента.

Работа поддержана грантом РФФИ для молодых ученых №16-34-00136 мол\_а.

### **ОЦЕНКА ИНТЕНСИВНОСТИ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ФАГОЦИТОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ГЛЮКОНАТОВ 3d-МЕТАЛЛОВ ПРИ ИНДУЦИРОВАННОМ ИММУНОДЕФИЦИТЕ**

**Усачев С.А., Князева О.А.**

ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия

*nuggetus@mail.ru*

Интенсивный режим химиотерапии может вызвать глубокую иммунодепрессию, поэтому в настоящее время лечение цитостатиками сочетается с применением иммунокорректирующих препаратов. Большой научный и практический интерес представляет использование глюконатов переходных металлов (Fe, Cu, Cr, Mn, Zn, Co), которые обладают иммунокорректирующими эффектами. Поэтому целью настоящей работы явилось изучение интенсивности метаболической активности фагоцитов крови лабораторных мышей при пероральном введении им глюконатов 3d-металлов на фоне индуцированного иммунодефицита.

Влияние указанных глюконатов металлов изучалось в сравнении с тремя группами: введение дистиллированной воды, иммуномодулирующего препарата «Ликопид» и глюконата Са после предварительной внутрибрюшинной инъекции циклофосфана. Контрольную группу составляли интактные животные. Было показано, что способность нейтрофилов к фагоцитозу частиц латекса у мышей, получавших глюконаты металлов, значительно увеличивалась. Наибольшее увеличение интегрального фагоцитарного индекса было обнаружено в группе мышей, принимавших глюконат марганца (на 138,9%), затем глюконат цинка (на 108,4%), меди (на 91,5%), кобальта (на 52,5%) и железа (на 47,4%). При этом примечательно, что увеличение реактивности фагоцитов было связано не только с увеличением активных нейтрофилов в системном кровотоке, но и с усилением их поглотительной способности, что показало фагоцитарное число – количество частиц латекса, захваченных одним нейтрофилом. Метаболическую активность нейтрофилов оценивали по их способности восстанавливать нитросиний тетразолий в спонтанном и стимулированном НСТ-тесте. У животных, получавших глюконаты металлов были выявлены статистически значимые отличия в показателях НСТ-теста по сравнению с группой нелеченных животных ( $p < 0,05$ ). Так, под действием глюконата марганца и глюконата меди происходило наибольшее повышение ферментативной активности и потребление кислорода в спонтанном и индуцированном тестах (на 44%, 35,5% и на 44%, 35% соответственно). Под влиянием других глюконатов показатели также увеличивались: цинка – на 32%, 32,2%, железа – 12%, 25,4%, кобальта – 20%, 19,4%. Показатель индекса стимуляции повышался следующим образом: при введении глюконата меди – на 76,9 %, глюконата марганца – на 69,2% , глюконата цинка – на 61,5%, глюконата железа – на 53,8% и глюконата кобальта – на 46,1%. Эти данные свидетельствуют об улучшении состояния бактерицидной системы клеток, их метаболического и функционального потенциала, а также киллерной способности на фоне вторичного иммунодефицита.

Таким образом, глюконаты переходных металлов восстанавливают метаболическую систему фагоцитоза в нейтрофилах, повышая тем самым эффективность борьбы клеток иммунной системы с патогенами.

### **ПОЛУЧЕНИЕ ПОЛИМЕРНЫХ СУБМИКРОННЫХ ФОРМ НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСА ЖЕЛЕЗА (III) С ТЕТРАФЕНИЛПОРФИРИНОМ**

**Фаустова М.Р.<sup>1</sup>, Жунина О.А.<sup>2</sup>, Моллаев М.Д.<sup>1</sup>, Никольская Е.Д.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Московский государственный университет тонких химических технологий имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия; <sup>2</sup>АНО Институт молекулярной диагностики, Москва, Россия

*phaustova112@yandex.ru*

Метод бинарных каталитических систем основывается на генерировании катализатором и субстратом окисления активных форм кислорода (АФК). В качестве катализатора может выступать комплекс железа (III) с тетрафенилпорфирином, а субстратом окисления может считать аскорбиновая кислота (АК). Однако главной проблемой при использовании такого соединения является отсутствие



продолженного действия и высокая токсичность. Поэтому, с целью повышения эффективности данного метода, были созданы полимерные наноструктуры с металлопорфирином (MeP). Требуемые полимерные формы были получены на основе полимера PLGA 5004 методом одинарного эмульгирования и отличались в зависимости от метода гомогенизации и концентрации стабилизатора эмульсии.

По результатам эксперимента было установлено, что средний размер полимерных капсул, содержащих комплекс железа (III) с тетрафенилпорфирином составил 320 нм. Следует отметить, что наименьшим размером обладала полимерная форма, при получении которой использовали 1% поливиниловый спирт (ПВС) в качестве стабилизатора эмульсии, её размер составил 250-280 нм. Дзета-потенциал всех полимерных форм с MeP составлял от -25 до -8.95 мВ, что способствует лучшему проникновению лекарственного вещества в опухолевые клетки. Определение общего содержания комплекса железа (III) с тетрафенилпорфирином и его содержания внутри полимерных носителей (степени включения) проводили спектрофотометрическим методом с последующим математическим расчетом.

Полимерные частицы, обладающие наименьшим размером (250-280 нм) также имели самую большую степень включения вещества – 74%, при этом общее содержание MeP было 6.5%. Данные частицы были исследованы *in vitro* для определения противоопухолевой активности комплекса железа (III) с тетрафенилпорфирином в отношении клеток рака шейки матки линии HeLa.

В процессе исследования было установлено, что оптимальным стабилизатором эмульсии для включения данного MeP является 1% ПВС; оптимальное массовое соотношение вещества к полимеру 1:5; оптимальное объемное соотношение водной и органической фаз 5:1. Результаты исследования цитотоксической активности полученных частиц показали увеличение эффективности полимерной формы MeP в 2.6 раза в сравнении со свободным MeP. Таким образом, включение MeP в полимерную капсулу приводит к повышению его цитотоксической активности, из чего можно предположить о высокой противоопухолевой эффективности данной полимерной формы MeP в испытаниях *in vivo*.

#### **ВЛИЯНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АДЕНОВИРУСА, НЕСУЩЕГО ГЕН КОСТНОГО МОРФОГЕНЕТИЧЕСКОГО БЕЛКА 2, НА ОСТЕОГЕННУЮ ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК IN VITRO**

**Хамидуллина Л.Р.<sup>1,2</sup>, Журавлева М.Н.<sup>2</sup>, Гаранина Е.Е.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВПО "Казанский (Приволжский) федеральный университет; <sup>2</sup>Институт Фундаментальной Медицины и Биологии, Казань, Россия

*liya.hamidullina@mail.ru*

Кость сохраняет способность к регенерации и самообновлению в течение всей жизни. При массивных травмах, обширных костных дефектах, нарушении местной трофики, нарушается сращения перелома, формируется ложный сустав. Генная терапия - один из наиболее перспективных подходов в современной регенеративной медицине. Основное преимущество аденовирусных конструкций для доставки терапевтических генов - отсутствие интеграции в геном клетки хозяина. В работе получена аденовирусная конструкция (Ad-BMP2), несущая ген костного морфогенетического белка 2 (BMP2), определено ее влияние на процессы остеогенной дифференцировки мультипотентных мезенхимных стволовых клеток (ММСК) *in vitro*. Показано, что трансдуцированные аденовирусом ММСК, трансплантированные крысам, сохраняют жизнеспособность в течение 4 недель.

Конструкция Ad-BMP2 получена стандартными методами молекулярной генетики, амплифицирована в клетках HEK293A, выделена криолизом с последующей концентрацией в градиенте плотности хлорида цезия. Экспрессия трансгена в трансдуцированных клетках HEK293 FT показана методом иммуноцитохимии и иммуноблоттинга. Синтез мРНК BMP2 в трансдуцированных ММСК показан методом ПЦР-РВ. Определена активность щелочной фосфатазы и минерализация в трансдуцированных ММСК. Трансдуцированные ММСК были трансплантированы внутримышечно крысам линии Wistar, образцы исследованы методом флуоресцентной микроскопии.

В работе был получен и наработан в препаративных количествах Ad-BMP2. Синтез мРНК в трансдуцированных ММСК показан методом ПЦР-РВ. При иммуноцитохимии клеток HEK293FT, трансдуцированных Ad-BMP2, наблюдалось положительное окрашивание. При иммуноблоттинге лизатов HEK293FT, трансдуцированных Ad-BMP2, показано наличие полос, соответствующих массе белка BMP2. Методом von Kossa выявлены минеральные отложения (фосфаты) в трансдуцированных ММСК. Активность щелочной фосфатазы в трансдуцированных ММСК составила 2467,30±65,98 Ед/мг (1274,06±64,72 в контроле). При флуоресцентной микроскопии срезов мышц через 4 недели после имплантации трансдуцированных ММСК, показано наличие живых клеток.

Таким образом, Ad-BMP2 способствуют синтезу белка BMP2 в культурах клеток *in vitro*. Синтезируемый белок обладает проостеогенной активностью *in vitro*. ММСК, трансдуцированные Ad-BMP2, сохраняют жизнеспособность в тканях спустя 4 недели после трансплантации.

Ad-BMP2 и модифицированные клетки перспективны для использования в регенеративной медицине при лечении травм и заболеваний опорно-двигательного аппарата.

### ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА NRF2 И ЕГО НУКЛЕОЦИТОПЛАЗМОТИЧЕСКОГО РЕГУЛЯТОРА KEAP1

Христиченко А.Ю.<sup>1,2,3</sup>, Полозников А.А.<sup>2</sup>, Газарян И.Г.<sup>2</sup>, Лежнин Ю.Н.<sup>3</sup>, Смирнова Н.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГОУ ВПО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия; <sup>2</sup>ФГБУ ФНКЦ ДГОИ им. Д. Рогачева, Москва, Россия; <sup>3</sup>ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

*hristik12@yandex.ru*

Окислительный стресс характеризуется неспособностью клетки защитить себя от негативного воздействия активных форм кислорода. Он участвует в патогенезе таких заболеваний, как ишемия, гипертензия, болезнь Альцгеймера, Паркинсона, лежит в основе процессов старения и нейродегенерации.

Одним из ключевых транскрипционных факторов, повышающих экспрессию антиоксидантов, защищающих клетку от окислительного стресса, является Nrf2. В цитоплазме Nrf2 в отсутствие окислительного стресса находится в связанном состоянии с белком Keap1. Комплекс Nrf2-Keap1 распознается Cul3-Rbx1E3 убиквитиновыми лигазами, что приводит к протеосомальной деградации всего комплекса. При окислительном стрессе Keap1 меняет свою конформацию так, что его связь с Nrf2 разрушается и Nrf2 стабилизируется.

Активаторы Nrf2 обладают высоким фармацевтическим потенциалом в области лечения хронических заболеваний нервной системы. Они не дают связаться Nrf2 с Keap1 за счет ковалентной модификации стресс-чувствительных цистеинов Keap1, либо за счет успешной конкуренции с Nrf2 за связывание Keap1. Тем самым активаторы предотвращают протеосомальную деградацию транскрипционного фактора, способствуя его накоплению в клетке и повышая выживаемость клетки при окислительном стрессе.

Ранее было установлено, что домен Neh2 транскрипционного фактора, в котором лежат участки связывания с Keap1, состоит из 96 аминокислотных остатков.

В данной работе представлена разработка люциферазного репортера с меньшим, чем все ранее исследованные, фрагментом домена Neh2 (с 16 по 84 аминокислоту). Репортер был создан с помощью стандартных методов геной инженерии. На основе данного репортера, а так же репортера, кодирующего наименьший из всех описанных фрагментов (с 16 по 96 аминокислоту), и репортера с последовательностью полного домена Neh2 было проведено сравнение эффективности связывания этих фрагментов и полного домена с белком Keap1. Показано, что при уменьшении фрагмента до длины 16-84 распознавание сохраняется. Для этого репортерными плазмидами с тремя разными фрагментами Neh2 была трансфицирована клеточная линия Нек293Т и проведен люциферазный с известным активатором Nrf2 — NDGA.

С помощью данных репортеров были получены стабильные линии, продуцирующие маленький, большой и полный фрагмент Neh2, соединенный с люциферазой. На стабильных линиях был проведен скрининг Ретг Библиотеки, которая состоит из 320ти лекарственных препаратов и новых разработок, которые рассматриваются как препараты для лечения хронических поражений нервной системы. Среди них были отобраны активаторы Nrf2 20 наиболее эффективных.

### ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ГИДРОХЛОРИДА АСКОРБАТА ХИТОЗАНА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ВЗП

Чемодурова А.А.<sup>1</sup>, Токмакова Е.В.<sup>2</sup>, Альзубаиди А.Ф.А.<sup>1</sup>, Зудина И.В.<sup>1</sup>, Ксенофонтова О.Ю.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия; <sup>2</sup>ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского, Саратов, Россия

*chemodurova.alina@mail.ru*

Создание эффективных антисептических препаратов для профилактики воспалительных заболеваний пародонта (ВЗП) - гингивита и пародонтита - до сих пор не утратило свою актуальность в связи с широкой распространенностью этих заболеваний и негативными последствиями для человека. Считается, что основной причиной развития ВЗП является пародонтопатогенная микрофлора, которая нередко проявляет высокую скорость адаптации к используемым антибиотикам. Поэтому более перспективным выглядит конструирование профилактических антибактериальных средств, способных активизировать местный иммунитет и повысить устойчивость слизистых оболочек полости рта к действию агрессивной микрофлоры.

В данной работе на добровольцах в возрасте от 18 до 25 лет изучали эффективность применения гелеобразной формы комплексной соли, приготовленной на основе аскорбиновой кислоты и гидрохлорида хитозана со степенью деацетилирования 79 мольн.% (ЗАО «Биопрогресс», РФ). Клиническое состояние тканей пародонта оценивали по стоматологическим индексам (ГИ, ПИ, РМА, I. Muhlemann). Состав микрофлоры в десневой жидкости определяли методом ПЦР с использованием набора «Мультидент-5» (ООО «НПФ Генлаб», г.Москва), позволяющего детектировать ДНК 5 видов пародонтопатогенов: *A. actinomycetemcomitans*, *B. forsythus*, *P. intermedia*, *P. gingivalis*, *T. denticola*. Больные ВЗП каждый вечер после чистки зубов апплицировали препарат гидрохлорида аскорбата хитозана на область краевой десны с захватом слизистой оболочки альвеолярного отростка. Продолжительность ежедневных обработок составляла 3 мин в течение 7 дней.

Как показали исследования, гингивит легкой и средней степени был диагностирован у 20% из 100 обследованных молодых людей, пародонтит легкой степени – у 3%. Из общего числа страдающих ВЗП (23 чел.) у 61% была выявлена ДНК *P. gingivalis*, у 4% – *A. actinomycetemcomitans* и у 4% – *P. intermedia*. ДНК одного вида бактерий выявлялась у 22% больных, а ассоциация из 2-х или 3-х видов пародонтопатогенов – у 44% и у 4%, соответственно.

После проведенного курса лечения у всех пациентов наблюдались нормализация индексных показателей и купирование воспаления тканей пародонта с длительным сроком ремиссии. Лишь у 10% пациентов, прошедших терапию, выявлялась ДНК *P. gingivalis*. Таким образом, препарат гидрохлорида аскорбата хитозана проявляет ярко выраженное противовоспалительное действие, способен подавлять рост большинства пародонтопатогенов, в связи с чем может быть рекомендован в качестве эффективного средства профилактики ВЗП.

## ВЛИЯНИЕ ТЕСТОСТЕРОНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ГЛИКОПРОТЕИНА-Р

Щулькин А.В., Черных И.В., Якушева Е.Н., Гацаного М.В.

ГБОУ ВПО Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова,  
Рязань, Россия

*alekseyskulkin@rambler.ru*

Гликопротеин-Р (АВСВ1-белок, Pgp) – это эффлюксный белок-транспортер, играющий важную роль в фармакокинетике лекарственных препаратов, а также в развитии резистентности опухолевых клеток к химиотерапии.

Цель исследования – изучить влияние тестостерона на функционирование Pgp.

Материалы и методы. Работа выполнена на 22 половозрелых кроликах-самцах массой 4300–4700 г породы Шиншилла, составивших 3 группы опытов. Первая группа – контроль (n=8), представлена животными, которым однократно внутримышечно вводили физиологический раствор в объеме 1 мл/кролик. Вторая и третья группы (n=7 в каждой) включала кроликов, которым однократно внутримышечно вводили тестостерона ундеканат в дозе 12 мг/кг массы и 24 мг/кг массы соответственно. За день до начала эксперимента и через 14 суток после введения изучаемых веществ у животных определяли функциональную активность Pgp и уровни тестостерона, эстрадиола и прогестерона в сыворотке крови. Активность Pgp оценивали по анализу фармакокинетики его маркерного субстрата фексофенадина после его однократного перорального введения в дозе 67,5 мг/кг массы. Модельно независимым методом рассчитывали следующие фармакокинетические параметры:  $C_{max}$  – максимальная концентрация;  $AUC_{0-t}$  – площадь под фармакокинетической кривой концентрация-время;  $Cl$  – общий клиренс. Полученные результаты обрабатывали тестом ANOVA.

Результаты. Введение животным тестостерона в дозах 12 мг/кг массы и 24 мг/кг массы приводило к увеличению его концентрации в сыворотке крови на 14 сутки эксперимента на 239,9% и 253,8% ( $p < 0,05$ ) соответственно. Концентрации эстрадиола и прогестерона в сыворотке крови во всех исследуемых группах достоверно не изменялись.

Введение тестостерона в дозе 12 мг/кг массы на 7 сутки вызывало повышение  $C_{max}$  фексофенадина в 2,04 раза (90% ДИ 1,52; 2,75,  $p < 0,05$ ),  $AUC_{0-t}$  в 2,25 раза (90% ДИ 1,65; 3,08,  $p < 0,05$ ) и уменьшение  $Cl$  в 0,36 раза (90% ДИ 0,25; 0,52,  $p < 0,05$ ). На 14 сутки введения тестостерона в дозе 24 мг/кг  $AUC_{0-t}$  фексофенадина повысилась в 1,75 раза (90% ДИ 1,47; 2,09,  $p < 0,05$ ), а  $Cl$  уменьшился в 0,48 раза (90% ДИ 0,37; 0,61,  $p < 0,05$ ). При проведении корреляционного анализа выявлена прямая пропорциональная зависимость между концентрацией тестостерона и  $C_{max}$  и  $AUC_{0-t}$  фексофенадина.

Данные изменения фармакокинетики фексофенадина свидетельствуют об ингибирующем влиянии тестостерона на функциональную активность гликопротеина-Р на уровне целостного организма.

Работа поддержана грантом РФФИ 16-04-00320 а.

## ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ EGFR-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ МУТАЦИЙ ПРИ АДЕНОКАРЦИНОМЕ ЛЕГКОГО У НАСЕЛЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН

Шигапова Л.Х.<sup>1</sup>, Еникеев Р.Ф.<sup>2</sup>, Гордиев М.Г.<sup>2</sup>, Гусев О.А.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Казань, Россия; <sup>2</sup>ГАУЗ Республиканский клинический онкологический диспансер МЗ РТ, Казань, Россия; <sup>3</sup>RIKEN, Йокогама, Япония

*shi-leyla@yandex.ru*

Рак легких остается одним из самых распространенных видов рака в мире и является частой причиной смерти от злокачественных новообразований среди мужчин и женщин. Аденокарцинома – злокачественная опухоль, образующаяся из железистых структур альвеол и бронхов, диагностируется в 30-45% случаев немелкоклеточного рака легких (НМРЛ). За последнее десятилетие ингибиторы тирозинкиназы - гефитиниб и эрлотиниб были широко исследованы для лечения пациентов с НМРЛ. В 2004 году в нескольких исследованиях показали значительное преимущество лечения пациентов с НМРЛ, несущих EGFR-активирующие мутации, ингибиторами тирозинкиназы по сравнению с традиционной химиотерапией. При аденокарциноме изменению подвергаются 18-21 экзоны гена EGFR, наиболее распространенными мутациями являются делеции 19 экзона и замена аргинина лейцином в 21 экзоне.

Исследование проводилось на базе Республиканского клинического онкологического диспансера РТ. Данные по пациентам с аденокарциномами легкого собирались в период с 2012 по 2015 гг. на территории Республики Татарстан. На предмет мутаций в гене EGFR был проанализирован 581 пациент. Стадии развития опухоли у пациентов 3В-4. Средний возраст - 61 год (от 35 до 84 лет).

По статистическим данным онкологов России, в Республике Татарстан с 2012 по 2014 гг. прослеживалась тенденция роста случаев заболевания рака трахей, бронхов и легких, если в 2012 году она составляла 1366 человек, то к 2014 году число заболевших составила 1384 человека. Распределение по половой принадлежности остается почти одинаковой, несмотря на то, что аденокарцинома встречается чаще у некурящих женщин.

Россия, по распространению случаев заболевания аденокарциномой легкого, занимает промежуточное положение между США (10%) и странами Восточной Азии (35%), частота мутаций в гене EGFR у пациентов с аденокарциномой легкого на юге России составила 18,6%. В Республике Татарстан, у 146 человек из 581, в аденокарциноме легкого были обнаружены мутации в гене EGFR. Следовательно, на долю положительных мутаций в гене EGFR приходится 25% из всех случаев аденокарциномы легкого. Интересно, что женщины преобладают над мужчинами по количеству мутаций именно в гене EGFR: из 146 мутаций на долю женщин приходится 91 случай. Исходя из наших данных, можно сказать, что EGFR-активирующие мутации при аденокарциноме НМРЛ в Республики Татарстан, превышают мировой стандарт по данному показателю.

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

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЦИТОФЛАВИНА ПРИ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЕ НА ПРОЦЕССЫ МЕТАБОЛИЗМА И ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ

Шумилова А.В., Филиппенко Е.С.

ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

*ekaterina.filippenko@gmail.com*

В патогенезе черепно-мозговой травмы (ЧМТ) важное место занимают развивающиеся гипоксические повреждения нервной ткани, приводящие к дезинтеграции энергетического обмена и развитию чрезмерных свободнорадикальных процессов. Учитывая гипоксическую компоненту ЧМТ и ее повреждающее действие на нервную ткань, целесообразно применение антигипоксических и антиоксидантных средств защиты, к которым относится цитофлавин. Целью исследования являлось изучение действия цитофлавина на перекисное окисление липидов и органический фосфат в условиях посттравматического периода у крыс.

Исследования проводились на 18 половозрелых крысах линии Вистар массой от 150 до 200 г. ЧМТ воспроизводили путем свободного падения груза массой 100 г с высоты 80 см на теменно-затылочную область головы. Крысам опытной группы (n=6) в течение последующих 10 дней внутрибрюшинно вводили цитофлавин в дозе 0,2 мл/кг, причем первый раз препарат вводили через 1 час после воспроизведения ЧМТ. Животным контрольной группы (n=6) вводили физиологический раствор NaCl в том же объеме. Норму определяли у интактных животных (n=6). В работе исследовали концентрацию промежуточных и конечных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) - малонового диальдегида (МДА) в эритроцитах и

диеновых конъюгат (ДК) в плазме, а также концентрацию АТФ и 2,3-ДФГ в красных клетках крови. Результаты обрабатывали с помощью программ BIostat и Microsoft Excel с использованием методов одномерной статистики.

На 1 сутки с момента нанесения ЧМТ концентрация МДА в эритроцитах крыс опытной группы в 2,5 раза превысила соответствующий показатель в интактной группе животных, ДК в плазме крови увеличились на 66%. Усиление пероксидации привело к уменьшению концентрации АТФ и 2,3-ДФГ в эритроцитах на 80% и 66% соответственно относительно нормы. Применение в этих условиях цитофлавина не оказывало существенного влияния на процессы ПОЛ в течение первых 3 дней наблюдения, а способствовало возрастанию концентрации АТФ и 2,3-ДФГ в эритроцитах травмированных крыс на 39% и 37% соответственно относительно данных на 1 сутки. На 7-й день исследования концентрация МДА в эритроцитах и содержание ДК в плазме животных снизилась до значений интактной группы по сравнению с аналогичными данными в крови крыс с ЧМТ, которым вводили физиологический раствор.

Таким образом, использование цитофлавина в посттравматическом периоде ЧМТ привело к восстановлению метаболического и оксидантного баланса крови, что говорит об эффективности использования препарата при данной патологии.

### **ХАРАКТЕРИСТИКА МОДУЛЯТОРОВ АНГИОГЕНЕЗА ЯДА ГЮРЗЫ (VIPERA LEBETINA TURANICA SN.)**

**Юнусова Э.С., Садыков Э.С., Шкинев А.В., Султаналиева Н.М.**

Института биоорганической химии им. акад. А.С.Садыкова АН РУз, Республика Узбекистан

*rexa83@yandex.ru*

На *in vivo* модели хориоаллантаической мембраны (СММ) 7- и 11-дневных эмбрионов кур изучали действие яда гюрзы и его фракций. Адекватность модели подтверждали действием известного ингибитора развития сосудистой сети (гидрокортизон, 250 мкг). Яд тестировали на 5-7 дни инкубации, фракции - на 11 и последующие дни. Было показано, что дозы яда до 5 мкг оказывали слабый ингибирующий эффект, 7.5 и 12.5 мкг - тормозили или останавливали развитие сосудистой сети и, соответственно, эмбриона, доза в 20 мкг/эмбрион вызывала полное исчезновение сосудистой сети и гибель зародыша.

При разделении яда гюрзы на Sephacryl S-200 были получены четыре основных фракции (фр. 1-4). В дозе 10 мкг/эмбрион компоненты фр. 1 действовали на сосудистую сеть по всей площади мембраны. Наблюдалось концентрирование сосудов, достигающее максимума в точке расположения диска при одновременном размывании их контура что, по-видимому, связано с выраженной геморрагической активностью компонентов этой фракции. Мелких сосудов под диском с фр. 1 и на его периферии почти не видно, периферические сосуды по цвету отличны от таковых в контроле. Индекс ветвления крупных и мелких сосудов при действии фр.1 заметно снижается. Фр. 4 (10 мкг/эмбрион) также оказывает эффект образования сосудистых пучков, скопление которых образуется под диском нанесения, однако плотность капилляров практически неотличима от контроля, т.е. действие компонентов фр. 4 неспецифично.

Фр. 1 и 2, содержащие по данным электрофореза компоненты яда с мол. массами 80-43 и 30-14 кДа соответственно и, как показано ранее, эффективно ингибирующие агонист-индуцированную агрегацию тромбоцитов человека, в дозе 10 мкг/эмбрион существенно тормозили развитие сосудистой сети. Подавление ангиогенеза фр. 2 и 3 выражается в торможении развития сети капилляров хориоаллантаической мембраны (на 42-45 - фр.2 и 27-29% - фр.3). При этом действие фр. 3 было менее специфичным: индекс ветвления сосудов от контроля не отличался. Изучаются механизмы антиангиогенного действия компонентов фракций 1 и 3 яда гюрзы, элементы их структуры и сопутствующие активности.

### **НОВОЕ ВЕЩЕСТВО С АНТИАМНЕСТИЧЕСКИМ ЭФФЕКТОМ НА ОСНОВЕ ГАМК**

**Якимова Т.Н.**

Филиал ФГАОУ ВПО ИАТЭ НИЯУ МИФИ, Обнинск, Россия

*tynisa@mail.ru*

ПАМ-28 – вещество, которое является производным гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), - важнейшим тормозящим нейромедиатором центральной нервной системы человека и млекопитающих.

Структура ПАМ-28 позволила предположить наличие ноотропного эффекта, что и было подтверждено на начальных этапах в экспериментах *in vivo*

Ноотропные препараты – нейрорепаративные вещества, которые способны улучшать когнитивные, интеллектуальные функции, процессы памяти и обучения, как при различных заболеваниях, так и у здоровых лиц.

Основной моделью для изучения действия веществ на формирование и воспроизведение памятного следа в условиях его нарушения (т.е. амнезии) и в норме на настоящий момент является методика условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ).

Препаратом сравнения для проведения эксперимента был выбран фенибут, т.к. он так же является производным ГАМКа, имеет сходную химическую структуру и проявляет ноотропную активность.

Исследование выполнено на белых беспородных половозрелых крысах самцах 2-3 месячного возраста массой 210 - 230 г.

Статистическая обработка результатов была осуществлена с помощью статистического пакета "BioStat" для Windows с использованием критериев Стьюдента ( $P \leq 0,05$ ), Фишера ( $P \leq 0,05$ ), Крускала-Уоллиса ( $P \leq 0,1$ ).

Были изучены: ПАМ-28 (5 мг/кг и 50 мг/кг), фенибут (50 мг/кг).

Были получены результаты:

- соединение ПАМ-28 оказывает некоторое антиамнестическое действие в дозе 5 мг/кг и, особенно, в дозе 50 мг/кг, что выражается в статистически достоверном увеличении процента животных без амнезии.

- Препарат сравнения фенибут в дозе 50 мг/кг незначительно ослабляет амнезию УРПИ вызванную максимальным электрошоком и уступает по антиамнестическому эффекту соединению ПАМ-28.

Выводы:

Выявлена прямая зависимость антиамнестического эффекта ПАМ-28 от дозы соединения - с увеличением дозы антиамнестический эффект соединения ПАМ-28 усиливается.

По антиамнестической активности изученные соединения в исследуемых дозах можно расположить в следующей последовательности: ПАМ-28 (50 мг/кг) > ПАМ-28 (5 мг/кг) > Фенибут (50 мг/кг).

## **ИММОТАЛИЗАЦИЯ И ИСЛЕДОВАНИЕ ДИФФЕРЕНЦИРОВОЧНОГО ПОТЕНЦИАЛА МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**

**Яппарова О.Н.**

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

*lesenok1803@mail.ru*

Мезенхимные стволовые клетки (МСК) являются перспективным материалом для регенеративной медицины и тканевой инженерии. Однако ограниченная пролиферация и снижение дифференцировочного потенциала первичных МСК *in vitro* препятствуют проведению длительных лабораторных исследований.

Целью работы является иммортализация и исследование свойств иммортализованной линии мезенхимальных стволовых клеток человека.

В ходе работы была иммортализована линия мезенхимных стволовых клеток (иМСК) полученных из жировой ткани человека посредством подавления экспрессии гена *p53* и гиперэкспрессии каталитического компонента человеческой теломеразы (hTERT). Изменений в морфологии и кариотипе клеток обнаружено не было. Методом проточной цитофлуориметрии было показано, что экспрессия типовых маркеров МСК, включая CD90, CD105 и CD73, и отсутствие экспрессии маркеров гемопоэтических клеток CD45, CD34, CD11b, CD19 и HLA-DR. Тест на пролиферацию клеток показал, что время удвоения популяции иМСК *in vitro* было значительно ниже, чем у родительской линии клеток. Дифференцировка клеток была оценена на 10-33 пассажах. Клетки сохраняли потенциал к дифференцировке в хондрогенном, адипогенном и остеогенном направлениях, результаты не зависели от пассажа исследуемых клеток.

В результате выполненной работы была получена линия иМСК, обладающая высокой пролиферативной активностью и сохранившая потенциал к дифференцировке на поздних пассажах. Наши результаты свидетельствуют, что полученная клеточная линия может являться модельной для проведения фундаментальных исследований по изучению потенциала применения МСК в регенеративной медицине.

## **СЕКЦИЯ «ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ И ФОТОБИОЛОГИЯ»**

### **ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ ОТДЕЛЬНЫХ КАРОТИНОИДОВ В СВЕТОСОБИРАЮЩИХ КОМПЛЕКСАХ LH2 ИЗ ПУРПУРНЫХ СЕРНЫХ БАКТЕРИЙ**

**Ашихмин А.А., Большаков М.А., Махнева З.К., Москаленко А.А.**  
ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пушкино, Россия

*AshikhminAA@gmail.com*

В бактериальном фотосинтезе каротиноиды являются дополнительными пигментами и выполняют несколько важных функций: светособирающую (поглощение энергии света и ее передача к бактериохлорофиллу (БХл)), защитную (тушение возбужденных триплетных состояний БХл и нейтрализация токсичных синглетных форм кислорода) и структурную (стабилизация структуры светособирающих комплексов). Все эти функции направлены на поддержание оптимальных характеристик, как световой стадии фотосинтеза, так и структур, в которых эти стадии протекают.

Цель данной работы – изучение влияния отдельных каротиноидов на свойства светособирающих комплексов LH2 из пурпурных серных бактерий.

В качестве объектов исследования были использованы две серные бактерии *Allochrocatium minutissimum* штамм МГУ и *Ectothiorhodospira haloalkaliphila* штамм ATCC 51935<sup>T</sup>. Мы показали, что при ингибировании биосинтеза каротиноидов с помощью дифениламина (ДФА) в клетках этих бактерий собирается полный набор практически бескаротиноидных антенных комплексов LH1-RC и LH2 (ДФА-комплексы). В ДФА-комплексы из обеих культур был встроены ряд отдельных каротиноидов (родопин, сфероиден, сфероиденон, нейроспорин и др.), которые отличаются между собой количеством сопряженных двойных связей (СДС) и боковыми группами. Эффективность встраивания этих каротиноидов, по нашей оценке, составила от 40 до 90% по сравнению с контрольными комплексами LH2 из соответствующих бактерий.

Изучен ряд характеристик модифицированных комплексов LH2 (поглощение, оптическая активность, перенос энергии от каротиноидов на БХл, термостабильность, фотоустойчивость). Анализ спектров возбуждения флуоресценции показал, что в комплексах со встроенными каротиноидами восстанавливается перенос энергии с каротиноидов на БХл. Повышение стабильности комплексов LH2 подтверждает важную роль каротиноидов в стабилизации структуры антенных комплексов. При облучении сине-зеленым светом модифицированных комплексов LH2 из обеих бактерий установлено, что сфероиден, родопин и нейроспорин участвуют в процессе фотоокисления БХл850. Предполагается, что параметрами, определяющими эффективность функций каротиноидов у пурпурных бактерий, могут являться: количество СДС в молекуле каротиноида, наличие боковых групп, а также влияние ближайшего микроокружения молекул каротиноидов, т.е. видовые особенности структуры светособирающих комплексов.

Работа поддержана грантом РФФИ №15-04-02660а.

### **ОТНОШЕНИЕ СОИ К ПОЧВЕННО-КЛИМАТИЧЕСКИМ УСЛОВИЯМ УЗБЕКИСТАНА**

**Байкабилов Д.К., Сафаров А.К.**

Национальный университет Узбекистана имени М. Улугбека, Ташкент, Узбекистан

*baykabilov@list.ru*

Узбекистан характеризуется резко континентальным климатом, поэтому исследование физиолого-биохимических особенностей различных сортов сои, обеспечивающих получение высоких урожаев и качественного зерна, представляет большой научный и практический интерес.

Соя – высокобелковая и маслянистая культура. Семена культурной сои, иногда называемые «соевыми бобами» (от англ. soya bean) — широко распространённый продукт питания, известный ещё в третьем тысячелетии до н. э. Сою часто называют «чудо-растением» — отчасти благодаря высокому содержанию растительного белка, в среднем составляющему около 40 % от массы семени, а у отдельных сортов достигающему 48-50 %, во многом аналогичном животному, отчасти благодаря сравнительно высокой урожайности.

Теплолюбивая культура. Семена начинают прорасти при температуре 8-10<sup>0</sup>С, но всходы могут переносить заморозки от 2 до 3<sup>0</sup>С. Оптимальная температура для прорастания семян в условиях Ташкента 22-24<sup>0</sup>С. Чем ниже температура воздуха и почвы при посеве семян сои, тем позднее появляются всходы. Оптимальными температурами для прорастания сои в наших условиях являются 18-20<sup>0</sup>С, а минимальными - 6-8<sup>0</sup>С

Сухость воздуха и почвы в фазах цветения и налива зерна резко снижает урожай этой культуры. При появлении всходов и первых настоящих листьев соя малотребовательна к воде. Соя требует много влаги (до 60-70% от всего объема воды за вегетацию), особенно в фазах цветения и образования бобов. Для роста и развития сои большое значение имеет и относительная влажность воздуха. При засухе отмечается опадание цветков и появление пустых бобов.

Благодаря мощной и глубоко проникающей в почву корневой системе может извлекать из глубоких слоев почвы воду и питательные вещества. Оптимальная влажность почвы 7-9%. В Узбекистане соя в основном возделывается в поливных землях.

Соя – светлюбивое растение. При посеве сои необходимо учитывать потребность в освещении. Для многих сортов сои длительность светового дня равна 13-16 часам, но и есть фотонейтральные сорта.

Сою можно возделывать на всех почвах, кроме тяжелых, кислых, солонцовых и заболоченных. Оптимальное значение pH равно 6,5. Для получения одного центнера необходимо внесение удобрений в количестве: азота - 30 кг, фосфор - 100-120 кг и калия - 60-80 кг.

Полученные результаты свидетельствуют, что факторы среды могут существенно влиять на интенсивность и характер протекания физиолого-биохимических процессов у изученных сортов сои. Для наиболее полного проявления потенциальных (генетически обусловленных) возможностей сорта необходимо применять региональную агротехнологию возделывания сои.

### **ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРОВ И РАЗЛИЧНЫХ ГАЗОВЫХ СРЕД НА АКТИВНОСТЬ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ЛИПОКСИГЕНАЗЫ В РАСТЕНИЯХ**

**Бердникова О.С., Титова А.П., Ершова А.Н.**

ФГБОУ ВПО Воронежский государственный педагогический университет, Воронеж, Россия

*olgaberdn@mail.ru*

Растительные липоксигеназы (КФ 1.13.11.12) катализируют окисление свободных и связанных в фосфолипидах мембран полиненасыщенных жирных кислот с образованием гидропероксидных радикалов. Установлено, что при действии условий кратковременной гипоксии и среды CO<sub>2</sub> содержание различных типов активных форм кислорода (АФК) в клетках растений значительно возрастает, при этом митохондрии вносят существенный вклад в их образование (Ершова А.Н., 2014). Однако роль липоксигеназы в этом процессе до конца не выяснена. В связи с этим исследовали влияние специфических ингибиторов SHAM (1 мМоль) и пропилгаллата (1 мМоль) на активность митохондриальной липоксигеназы растений гороха (неустойчивых) и кукурузы (среднеустойчивых), находящихся в условиях различных газовых сред (воздух, гипоксия, CO<sub>2</sub> - среда). Контролем служили растения, находящиеся в условиях нормальной аэрации. Митохондрии выделяли методом дифференциального центрифугирования, их чистоту оценивали по маркерному ферменту СДГ и содержанию хлорофилла. Активность липоксигеназы определяли спектрофотометрически, используя в качестве субстрата линолевою кислоту. В условиях гипоксии в проростках гороха обнаружено двукратное повышение активности митохондриальной липоксигеназы, а при действии CO<sub>2</sub> - среды она увеличивалась в 3 раза. В клетках среднеустойчивых проростков кукурузы отмечалось лишь незначительное повышение активности липоксигеназы в условиях гипоксии (на 15%), а при действии CO<sub>2</sub> - среды на 31%. При внесении ингибитора SHAM активность митохондриальной липоксигеназы проростков гороха, находящихся в условиях аэрации, снижалась на 70%, а у растений кукурузы на 30%. В условиях гипоксии SHAM блокировал повышение активности фермента в митохондриях растений гороха до уровня контроля, в растениях кукурузы - в 2 раза. В условиях CO<sub>2</sub> - среды у неустойчивых растений гороха активность фермента снижалась до 31%, в проростках кукурузы до 63% от уровня аэрируемых растений. Пропилгаллат в меньшей степени влиял на активность митохондриальной липоксигеназы проростков гороха, снижая ее до 50%, а у растений кукурузы - до 73%. В условиях гипоксии при внесении пропилгаллата активность липоксигеназы в митохондриях растений кукурузы снижалась в 7 раз, а при действии CO<sub>2</sub> - среды в 4 раза. В растениях гороха пропилгаллат оказывал сходное влияние. Проведенные исследования с использованием ингибиторного анализа подтверждают участие митохондриальной липоксигеназы растений в накоплении АФК при кратковременной гипоксии у гороха и кукурузы, что ранее только предполагалось.

### **ИЗУЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ АБСЦИЗОВОЙ КИСЛОТЫ В ПРОРОСТКАХ ЯЧМЕНЯ ПОСЛЕ ГАММА-ОБЛУЧЕНИЯ СЕМЯН СТИМУЛИРУЮЩИМИ ДОЗАМИ**

**Битаршвили С.В., Волкова П.Ю., Гераськин С.А.**

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, Обнинск, Россия

*bitarishvili.s@gmail.com*

Абсцизовая кислота (АБК), являясь гормоном стресса растений, играет важнейшую роль в механизмах адаптации к неблагоприятным факторам окружающей среды, к числу которых относят ионизирующее излучение. В диапазоне малых доз ионизирующего излучения наблюдается эффект



радиационного гормезиса, который в случае предпосевного облучения семян проявляется как стимуляция прорастания и увеличение процента всхожести семян. Так как АБК является ингибитором прорастания, целью работы явилось изучение содержания данного фитогормона в динамике прорастания семян, облученных малыми дозами.

В качестве объекта использовали проростки ячменя сорта Нур. Сухие семена облучали в дозах 4, 8, 12, 16, 20 Гр., высевали рулонным методом с дистиллированной водой. Концентрацию АБК определяли в проростках с 3 по 7 день. С 4 дня в листьях и корешках отдельно. Количественный анализ проводился методом ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии (259 нм).

Исследования показали, что содержание АБК в трехдневных проростках после облучения 4, 12, 16, 20 Гр. снижается, причем минимальная концентрация обнаружена при 4 Гр. В то время как при 8 Гр. наблюдается увеличение концентрации почти в 2 раза. Исследование концентраций АБК в корешках 4-7 дневных проростков показало, что при 8 Гр происходит увеличение содержания фитогормона по отношению к контролю в каждый из дней. Однако в листьях такой эффект наблюдается только на 5 день прорастания. Эти данные хорошо соотносятся с результатами экспериментов, в которых изучались морфобиологические параметры проростков, выросших из облученных семян. Максимальные концентрации АБК зафиксированы на 7 день при 4 Гр. В листьях с 4 по 6 день содержание фитогормона постепенно увеличивается, оставаясь ниже значений в контроле, на 7 день концентрация резко возрастает. Похожая картина наблюдается и в корешках: вначале содержание АБК ниже контрольных значений, но на 7 день происходит резкое увеличение концентрации, превышающее контрольное значение в 5 раз. Следует отметить, что при облучении большими дозами (12, 16, 20 Гр.) подобных «скачков» концентраций не наблюдается. Количественное изучение фитогормона в листьях показало, что при облучении 12, 16, 20 Гр. с 4 по 5 день содержание АБК возрастает и в последующие дни существенно не меняется. В корешках несколько иная картина: у проростков после облучения 12 и 16 Гр достоверное снижение концентраций наблюдается лишь на 4 и 5 день. В то время как при 20 Гр. содержание фитогормона ниже контрольного во все дни эксперимента.

## ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА ФОРМИРОВАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ПШЕНИЦЫ

**Бойко Е.В., Головацкая И.Ф.**

ФГБОУ ВПО Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия

*CaterinaSoloveva@gmail.com*

Процессы фотосинтеза растений непосредственно связаны с образованием активных форм кислорода (АФК). В избыточном количестве АФК могут повреждать фотосинтетический аппарат (ФА). Одним из представителей сильнейших низкомолекулярных антиоксидантных веществ является гормон сна человека – мелатонин (Мел). В настоящее время установлено, что Мел распространен и в царстве растений. Имеются данные о повышении квантового выхода фотосинтеза у харовых водорослей экзогенно внесенным Мел, возможно, за счет защиты ФА от АФК. Недостаточно сведений о влиянии Мел на ФА высших растений. В связи с этим целью исследования было изучение влияния Мел на формирование ФА листа *Triticum aestivum* L. Для этого 2-дневные проростки переносили на среду с Мел («Sigma» США) в концентрациях 0.1–10 мкМ (опыт) и без него (контроль) и выращивали в течение 6 сут на белом свете. После чего определяли размеры первого листа, содержание пигментов фотосинтеза (хлорофилла *a*, хлорофилла *b*, каротиноидов), а также спектрофотметрически определяли фотохимическую активность изолированных хлоропластов на уровне ФС2 по реакции Хилла. Дополнительно к этому, в среду с хлоропластами добавляли 1 мкМ Мел и проводили повторные измерения. В результате исследований установили, что экзогенная обработка 10 мкМ Мел при культивировании проростков ингибировала рост первого листа, тогда как другие концентрации достоверно не изменяли данный показатель. Содержание всех групп фотосинтетических пигментов снижалось при выращивании растений на Мел всех исследуемых концентраций по сравнению с контролем. Наименьшее количество пигментов фотосинтеза отмечено при обработке 1 мкМ Мел. У растений, выращенных на Мел, снижалась вдвое фотохимическая активность хлоропластов, вероятнее всего, за счет прооксидантных свойств Мел в этих концентрациях. Однако эффективность внесения 1 мкМ Мел в суспензию хлоропластов зависела от предобработки проростков Мел. У контрольных растений фотохимическая активность пластид снижалась в 3 раза, в то время как у опытных растений, выросших на 1 мкМ Мел, этот показатель увеличился. На основе полученных данных можно заключить, что при длительном действии Мел в определенных концентрациях проявлял свойства прооксиданта и угнетал фотосинтетический аппарат растений *T. aestivum*, снижая уровень пигментов фотосинтеза и фотохимическую активность хлоропластов (ФС2). В то же время, растения, выросшие на Мел, формировали новое прооксидантно-антиоксидантное равновесие мембран хлоропластов с учетом этого вещества.

## **ФОТОСИНТЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ФОРМИРОВАНИЯ УРОЖАЯ РИСА В ПОСЕВАХ РАЗЛИЧНОЙ ГУСТОТЫ**

**Брагина О.А.**

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт риса, Краснодар, Россия

*olesya.bragina.1984@mail.ru*

Фотосинтез - основной процесс питания растений. Поэтому урожай растений, прежде всего, определяется размерами и продуктивностью работы фотосинтетического аппарата. Густота стояния растений является фактором, определяющим развитие растений, их продуктивность и урожай с единицы площади. Исследования проводились в течение 3 лет, в условиях вегетационного опыта: в железных резервуарах на двух фонах минерального питания: 1-N<sub>24</sub>P<sub>12</sub>K<sub>12</sub> (оптимальный); 2-N<sub>36</sub>P<sub>18</sub>K<sub>18</sub> (высокий фон) г д.в. на 1 м<sup>2</sup> посева, с использованием трех сортов риса: Рапан (st), Гамма, Ренар, различающихся кущением и урожайностью зерна. Густота растений-150, 300, 450 шт./м<sup>2</sup>. При недостаточной густоте растений 150 шт./м<sup>2</sup> снижалась урожайность исследуемых сортов риса за счет уменьшения числа продуктивных побегов на единице площади, причем стимулирование кущения растений путем внесения повышенной дозы удобрения не привело к образованию оптимального числа продуктивных побегов на 1 м<sup>2</sup>. В результате растения сформировали недостаточную листовую поверхность. При этом фотосинтетически активная радиация (ФАР) с единицы площади поглощалась не полностью, что также обуславливало формирование невысокого урожая. При увеличении густоты стояния растений увеличивался и индекс листовой поверхности, обеспечивающий максимальное поглощение ФАР и формирование высокого урожая зерна. Коэффициент корреляции между индексом листовой поверхности посева в фазу цветения и урожайностью сортов на оптимальном фоне питания составил  $r=0,78$ . Это свидетельствует о том, что индекс листовой поверхности является одним из важных признаков сорта риса. Оптимальная густота стояния должна обеспечивать наиболее выгодное сочетание густоты стояния растений и продуктивной кустистостью каждого из них. Разные по продуктивности генотипы различались по диапазону оптимального стеблестоя, а его определение в сортах является важной их характеристикой.

## **ВЛИЯНИЕ ХЛОРИДА НАТРИЯ НА АЦИДОФИЦИРУЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ КОРНЕЙ ПРОРОСТКОВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ**

**Верчук А.Н., Яковец О.Г.**

Белорусский государственный университет, Минск, Белоруссия

*aleksei-wip@mail.ru, yakovets@inbox.ru*

Засоление почв связано с накоплением хлоридов и сульфатов натрия, кальция и магния, карбонатов и нитратов калия. Наиболее опасное влияние оказывают ионы Na<sup>+</sup> и Cl<sup>-</sup>. В связи с тем, что площадь засоленных почв в мире составляет около 950 млн. га, засоление почв является одной из наиболее серьезных проблем для мирового сельского хозяйства. Вредное влияние на растительный организм высокой концентрации солей связано, в частности, с повреждением мембранных структур, например, плазмалеммы, вследствие чего возрастает ее проницаемость, теряется способность к избирательному накоплению веществ. Существенная роль в процессах роста, развития, а также адаптации растений к действию неблагоприятных факторов окружающей среды принадлежит H<sup>+</sup>-АТФазной помпе плазмалеммы, об активности которой в корнях проростков можно судить по ацидофицирующей активности. В связи с этим нами проанализирована динамика изменения данной характеристики корневой системы проростков пшеницы, подвергнутых кратковременному действию NaCl разной концентрации.

Эксперименты проводились на 7-9 дневных этиолированных проростках озимой пшеницы сорта «Ядвися», выращенных рулонным способом при комнатной температуре в растворе 10<sup>-4</sup>М CaSO<sub>4</sub>. Для исследования влияния засоления проростки помещались в раствор, содержащий кроме 10<sup>-4</sup>М CaSO<sub>4</sub> и 10<sup>-3</sup>М KCl (контроль), 1, 5, 50, 150 или 300мМ NaCl. Значение pH контрольного и экспериментальных растворов в начале эксперимента доводилось до величины 6,8 5·10<sup>-3</sup>М NaOH. На основе изменений в течение 180 мин pH инкубационного раствора рассчитывали количество H<sup>+</sup>, выделенных корнями за каждый интервал времени с учетом объема раствора и веса корней.

В ходе проведенных экспериментов выявлено, что низкие концентрации NaCl (1 и 5мМ) активировали ацидофицирующую активность корней. Причем эффект ослаблялся с ростом концентрации соли. Увеличение концентрации NaCl до 50мМ вызывал активацию выхода H<sup>+</sup> в наружную среду только у части проростков. Высокие концентрации NaCl (150 и 300мМ) подавляли ацидофицирующую активность корней. Ранее при постоянном выращивании проростков в присутствии NaCl разной концентрации нами была зафиксирована стимуляция роста корней и побегов у 11-12 дневных проростков при низких концентрациях NaCl. При увеличении засоления среды до 150 и 300мМ NaCl увеличивался процент неразвивающихся проростков. Хлорид натрия в концентрации 1, 5 и 50мМ вызывал также рост содержания

фотосинтетических пигментов. Установленный характер изменения под действием NaCl активности H<sup>+</sup>-помпы плазмалеммы клеток корней может объяснить выявленные ранее физиолого-биохимические изменения.

### **КРАТКОСРОЧНАЯ АДАПТАЦИЯ СВЕТОСОБИРАЮЩЕЙ СИСТЕМЫ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ К УСЛОВИЯМ ОСВЕЩЕНИЯ**

**Ветошкина Д.В., Борисова М.М., Козулева М.А., Иванов Б.Н.**  
ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пушкино, Россия  
*vetoshkina\_d@mail.ru*

Цель работы – изучение механизмов регуляции «state transitions» – процесса миграции части светособирающего комплекса фотосистемы 2 (ССК2) между фотосистемой 2 и фотосистемой 1 под действием света. В ходе работы решались две основные задачи: 1) разработка подхода, позволяющего оценить протекание state transitions на целых растениях с помощью измерений кинетики релаксации нефотохимического тушения (НФТ) после освещения; 2) выяснение влияния уровня освещенности на регуляцию state transitions в растениях *Arabidopsis thaliana* и *Hordeum vulgare*.

Для решения первой задачи использовали растения дикого типа и мутантные растения, нокаутированные по гену *stn7*, кодирующему синтез киназы STN7 – фермента, осуществляющего фосфорилирование белков ССК2, необходимое для перемещения ССК2 от фотосистемы 2 к фотосистеме 1. На основании различий в кинетике релаксации НФТ между растениями дикого типа и мутантными растениями, было обнаружено, что часть релаксации НФТ в растениях дикого типа отражает релаксацию процесса state transitions. Другим подходом для оценки протекания state transitions является использование ингибитора NaF. Фторид натрия ингибирует фосфотазу, фермент осуществляющий дефосфорилирование белков ССК2, таким образом не происходит релаксация НФТ, связанная со state transitions. Этот подход был применен на листьях ячменя, которые инкубировались в присутствии и отсутствии NaF в течение часа в темноте. Установлено, что одним из ключевых факторов, который необходимо учитывать при оценке state transitions является продолжительность времени освещения листьев действующим светом. На основе полученных данных сделано заключение, что для полного протекания state transitions, необходимым является освещение продолжительностью не менее 20 минут. Результат имеет важное фундаментальное значение, поскольку ранее при оценке state transitions по релаксации НФТ использовали, преимущественно, 5-ти минутное освещение.

Выявлено, что регуляция протекания state transitions осуществляется по-разному у растений арабидопсиса дикого типа и ячменя при увеличении освещенности растений. В то время как при 300 мкмоль квантов/м<sup>2</sup>с растения арабидопсиса дикого типа и мутанты имеют одинаковый ход кривой релаксации НФТ, что говорит об отсутствии процесса state transitions. В листьях ячменя протекание state transitions продолжается и при 300 мкмоль квантов/м<sup>2</sup>с. Лишь при увеличении интенсивности действующего света свыше 800 мкмоль квантов/м<sup>2</sup>с в листьях ячменя перестает происходить процесс state transitions.

В результате работы были получены данные, которые существенно расширили понимание регуляции процесса state transitions в высших растениях при изменении уровня освещенности.

Работа поддержана грантом РФФИ 15-04-09291

### **ВЛИЯНИЕ ФИТОГОРМОНОВ НА АКТИВНОСТЬ ФОТОСИНТЕЗА, ЕГО РЕГУЛЯЦИЮ ЭЛЕКТРИЧЕСКИМИ СИГНАЛАМИ И ФОРМИРОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ К ТЕМПЕРАТУРНОМУ СТРЕССУ**

**Гаспирович В.В., Морозова Е.Н., Сурва Л.М., Мудрилов М.А., Синицына Ю.В., Середнева Я.В.,  
Сухов В.С., Воденев В.А.**

ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

*berbendinarius@yandex.ru*

Обработка фитогормонами является одним из методов повышения продуктивности и устойчивости сельскохозяйственных культур. В данной работе проводилось исследование влияния подобной обработки на активность фотосинтеза, его регуляцию электрическими сигналами и устойчивость к температурному стрессу.

Объектом исследования являлись проростки гороха и пшеницы 18-24 дневного возраста, выращенные из семян, обработанных абсцизовой кислотой, пирабактином, эпибрассинлидом и эпином. Активность фотосинтеза оценивали с использованием системы состоящей из газоанализатора и РАМ-флуориметра. Электрическую активность регистрировали внеклеточно.

Обработка семян фитогормонами не оказывает выраженного влияния на фотосинтетическую активность в проростках пшеницы и гороха в покое, вместе с тем наблюдается увеличение устойчивости растений к повышенным температурам. Так, у контрольных растений получасовой прогрев до 48<sup>0</sup>С (горох) и

45,5<sup>0</sup>С (пшеница) на следующие сутки приводил к приблизительно двукратному снижению ассимиляции CO<sub>2</sub> на свету. В обработанных растениях снижение данного параметра было менее выраженным, а при некоторых вариантах обработки практически отсутствовало. Эти наблюдения позволили предположить, что растения, обработанные фитогормонами, обладали повышенной устойчивостью к воздействию температур. В качестве потенциальных механизмов, обеспечивающих формирование этой устойчивости, были предположены генерация и распространение электрических сигналов. Экспериментальный анализ показал, что обработка фитогормонами усиливает ответ фотосинтеза на распространение электрического сигнала (вариабельный потенциал), вызванного локальным ожогом. Отдельно проведенный блок экспериментов так же показал, что электрические сигналы возникают в условиях постепенного нагрева растений до 50<sup>0</sup>С при температурах 36<sup>0</sup>С (горох) и 42<sup>0</sup>С (пшеница). Важно отметить, что данные температуры являются естественными для природных условий. Опираясь на полученные данные можно предположить, что повышение температуры окружающей среды приводит к генерации вариабельного потенциала, который в свою очередь повышает температурную устойчивость проростков.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-26-00098)

### АНАЛИЗ ПОЛНОЙ НУКЛЕОТИДНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ХЛОРОПЛАСТНОГО ГЕНОМА МИКОГЕТЕРОТРОФНОГО РАСТЕНИЯ *MONOTROPA HYPOPITYS*

Груздев Е.В.<sup>1,2</sup>, Кадников В.В.<sup>1</sup>, Белецкий А.В.<sup>1</sup>, Марданов А.В.<sup>1</sup>, Равин Н.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биоинженерии, ФИЦ Биотехнология РАН, Москва; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

gruevg@ya.ru

Хлоропласты – имеющие собственный геном растительные органеллы, в которых осуществляется фотосинтез. Исследование хлоропластных геномов в настоящее время является одним из основных источников информации о филогении и эволюции растений. Хлоропластная ДНК у высших растений представляет собой кольцевую молекулу длиной 120-200 т.п.н., которая обычно содержит 110-130 генов, среди которых гены собственного генетического аппарата и фотосинтеза. В ходе эволюции ряд растений приобрели способность к гетеротрофному питанию, в результате паразитизма на других растениях или грибах (микогетеротрофия). Несмотря на высокий консерватизм хлоропластных геномов высших растений, у гетеротрофных растений наблюдается тенденции к его сокращению за счет потери фотосинтетических функций. Однако, сохранение хлоропластных геномов предполагает наличие функций не связанных с фотосинтезом. В данной работе мы определили полную нуклеотидную последовательность хлДНК нефотосинтезирующего микогетеротрофного растения *Monotropa hypopitys* (подъельник). Образец подъельника (MON-1VOLR) был собран в Вологодской области (58°35'14" с.ш., 37°59'20" в.д.). Расшифровка хлоропластного генома была осуществлена с помощью пиросеквенирования геномной ДНК растения.

Хлоропластный геном подъельника имеет размер 35336 п.н, это один из самых коротких среди известных хлДНК цветковых растений. Он претерпел значительную редукцию и множественные перестройки относительно «стандартной» для цветковых растений структуры хлДНК, что привело к потере инвертированных повторов, характерных для большинства хлоропластных геномов. Общая редукция сказалась и на сокращении генного состава. Хлоропластный геном подъельника содержит 42 кодирующих последовательности, из которых 4 кодируют рРНК, 19 – тРНК и 19 – являются белок-кодирующими генами. Белок-кодирующие последовательности представлены 9 генами белков малой субъединицы рибосомы (*rps 2,3,4,7,8,11,12,14,18*), 8 генами большой субъединицы (*rpl 2,14,20,22,23,32,33,36*), а также генами матуразы *matK*, фактора инициации трансляции *infA*. Обнаружены два псевдогена: *clpP* и *accD*. Таким образом, в геноме *M. hypopitys* полностью утрачены гены обеих фотосистем, комплекса цитохромов *b6/f6*, субъединиц АТФазы, NADH-дегидрогеназы и РНК-полимеразы, в то время как гены собственного генетического аппарата в основном сохранены. Таким образом, хлДНК *M. hypopitys* представляет собой пример экстремальной редукции хлоропластного генома у высших растений, отражающей полную потерю способности к фотосинтезу и переход к гетеротрофному питанию.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-14-00749.

### АДАПТИВНЫЕ МЕХАНИЗМЫ УСТЫЧНОГО АППАРАТА ЛИСТЬЕВ *TRIGLOCHIN MARITIMA L.* НА ПРИЛИВНО-ОТЛИВНОЙ ЗОНЕ СЕВЕРНЫХ МОРЕЙ

Гуляева Е.Н., Марковская Е.Ф.

ФГБОУ ВО Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия

gln7408@gmail.com

В настоящее время интерес исследователей вызывает жизнедеятельность организмов, обитающих в нестабильных условиях побережий приливных морей. Растения, обитающие на литорали, находятся в неблагоприятных условиях произрастания, что оказывает влияние на структурно-функциональные

характеристики растений. Устьичный аппарат выполняет важную функцию в регуляции процессов фотосинтеза и водного режима, поэтому заслуживает пристального внимания.

Целью данной работы являлось изучение структурно-функциональных особенностей устьичного аппарата листьев *Triglochin maritima* L. Все исследования проводили в период с 2012 по 2015 гг. на трех опытных участках на литорали Белого и Баренцева морей (64°58'N, 34°91'E), (69°05'N, 36°02'E), (66°16'N, 33°33'E). Работа выполнена на растениях, произрастающих в условиях приливно-отливной динамики. Пробы листьев фиксировали 70% спиртом и анализировали с помощью микроскопа МИКМЕД-5 (Ломо, Россия). Определяли количественные параметры устьичного аппарата: количество и площадь устьиц, размеры устьичной щели.

В ходе исследования выявлено, что листья *Triglochin maritima* L. имеют однослойную эпидерму со слоем кутикулы и парацитный устьичный аппарат. Количество устьиц у растений зависит от их положения на приливно-отливной зоне и варьирует от 29 до 62 шт/мм<sup>2</sup>, площадь устьичных щелей от 130 до 185 мкм<sup>2</sup>, а общая площадь устьиц от 850 до 990 мкм<sup>2</sup>. Степень открытия устьичной щели коррелировала со значениями проводимости по SC-1 Leaf Porometer (Decagon Devices, США).

Изучение динамики размеров устьичной щели показало, что максимальное открытие отмечалось у растений, которые длительное время находились на осушке и до начала заливания. По мере заливания устьица начинали закрываться, степень открытия устьичной щели уменьшалась и после заливания (через час после прилива и за час до отлива) достигала минимального значения. По мере отлива и выхода растения на осушку степень открытия устьичной щели (проводимость устьиц) опять увеличивалась. В ночные часы во время прилива устьица несколько часов были закрыты. Полученные результаты могут свидетельствовать о запуске двух различных механизмов контролирующих открытие устьиц, один из которых связан с условиями работы устьиц в воздушной среде, при использовании CO<sub>2</sub> в качестве источника неорганического углерода, а второй – в водной среде в условиях преобладания бикарбоната в среде обитания. Как мы предполагаем у группы растений, живущих в условиях приливной-отливной динамики, индуцируется работа карбоангидразы, которая обеспечивает RuBisCO дополнительным субстратом (CO<sub>2</sub>) (Марковская и др., 2015).

## **ВЛИЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА СОДЕРЖАНИЕ ДИЕНОВЫХ КОНЬЮГАТОВ В КОРНЕПЛОДАХ СТОЛОВОЙ СВЕКЛЫ**

**Гурина В.В., Нестёркина И.С.**

ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии СО РАН, Иркутск, Россия

*nichka.g@bk.ru*

Изучение механизмов адаптации растений к стрессовым условиям необходимо для создания устойчивых сельскохозяйственных культур. Способность к защите от влияния отрицательных условий среды это обязательное свойство всех живых организмов. Любой стресс сопровождается окислительным, поэтому изучение воздействия окислительного стресса является одной из актуальных задач современной физиологии растений.

Интенсивность окислительного стресса в организме чаще всего оценивают по уровню продуктов перекисного окисления липидов. Методы определения продуктов перекисного окисления позволяют регистрировать промежуточные и конечные продукты реакций перекисного окисления. В качестве промежуточных продуктов легче всего исследовать содержание диеновые конъюгаты. Целью исследования было изучение динамики содержания первичных продуктов перекисного окисления липидов – диеновых конъюгатов в тканях корнеплодах столовой свеклы при окислительном стрессе.

Объектом исследования служили корнеплоды столовой свеклы (*Beta vulgaris* L.), сорт Модана. Для создания окислительного стресса ткани корнеплода размером 1см×1см×1см инкубировали в растворе 100 мМ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в течение 16 ч. В контрольном варианте инкубацию проводили в дистиллированной воде. Определение содержания диеновых конъюгатов проводили по методике Владимирова, Арчакова. Измерение проводили на СФ-46 при 203 нм. Результаты проведенных экспериментов показали, что содержание диеновых конъюгатов в тканях корнеплодов подвергнутых окислительному стрессу увеличилось на 15%. Это позволяет сделать вывод о том, что методика стрессового воздействия достаточно интенсивна и подвергнутые такой обработке корнеплоды могут быть использованы в дальнейших экспериментах для изучения адаптационных механизмов, противодействующих негативным изменениям, вызванным окислительным стрессом. Увеличение диеновых конъюгатов в общих липидах показывает, что происходит перекисное окисление липидов, которое в свою очередь приводит к изменению структуры мембран и конформации мембранных белков.

## ОСМОТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ *ARABIDOPSIS THALIANA* ПРИ ХЛОРИДНОМ ЗАСОЛЕНИИ

Данилова Е.Д., Малофий М.К., Ефимова М.В.

ФГБОУ ВПО Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия

*nusy.l.d@gmail.com*

В настоящее время более четверти почв земного шара подвержены избыточному засолению, которое оказывает крайне негативное влияние на водный баланс растений, вызывая осмотический стресс. Определение величины осмотического потенциала имеет большое значение, так как этот параметр позволяет судить о максимальной способности растения поглощать воду из почвы и удерживать ее, несмотря на губительное действие некоторых абиотических стрессоров, в том числе и засоления.

В нашем исследовании эффект засоления оценивали на 14-суточных проростках *Arabidopsis thaliana* экотипа Columbia, выращенных на белом свете на стерильной питательной среде ½ Мурасиге и Скуга с добавлением NaCl (0, 100, 125, 150 и 175 мМ). Для оценки величины осмотического потенциала клеточного экссудата семядоли проростков хранили при -20°C; клеточный сок отжимали из размороженных образцов семядолей растений. Осмотический потенциал определяли на криоскопическом осмометре Osmomat 030 (“Gonotec”, Германия) в соответствии с инструкцией производителя.

В семядолях проростков *Arabidopsis* контрольного варианта (без добавления NaCl) величина осмотического потенциала составляла -0.5 мПа. Минимальная из исследуемых концентраций NaCl, 100 мМ, снижала анализируемый показатель в 1.6 раз. Данный параметр оставался без изменений при концентрации NaCl 125 мМ. Наибольший негативный эффект отмечен при концентрации 175 мМ, осмотический потенциал снижался в два раза. Аналогичная зависимость была ранее показана нами для другого представителя семейства *Brassicaceae* *Brassica napus*, интенсивное засоление (175 мМ NaCl) снижало величину осмотического потенциала также в два раза (Ефимова и др., 2014. Физиол. раст. Т. 61. С. 778-789).

Таким образом, установлено, что величина негативного эффекта засоления на изменение осмотического потенциала определяется интенсивностью засоления среды. Наиболее вероятно, что понижение уровня осмотического потенциала растений обусловлено необходимостью достаточного обеспечения потока воды из среды в растение в условиях абиотического стресса.

## ФАКТОРНЫЙ АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА СОРТОВ ЯЧМЕНЯ ПО ИЗОЭНЗИМАМ, МАРКИРУЮЩИМ УСТОЙЧИВОСТЬ К СВИНЦУ

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

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, Обнинск, Россия

*ar.djuna@yandex.ru*

Исследован ответ 100 сортов ярового двурядного ячменя на действие нитрата свинца. С использованием тестовой концентрации (1,5 мг/мл) были исследованы 100 сортов ячменя и выбрано по 6 устойчивых и чувствительных. С этими сортами был проведен изoenзимный анализ по выявлению редких аллелей 3 ферментных систем – супероксиддисмутазы, пероксидазы, глутаматдегидрогеназы. Такие изозимы были успешно обнаружены. На их основе все сорта были классифицированы с помощью факторного анализа, чтобы доказать предопределенность ответа на действие свинца генетическими особенностями организма. Классификацию проводили на основе матрицы наличия в спектрах каждого из рассматриваемых сортов всех редких изоферментов, выраженную в долях от единицы.

На основе матрицы можно провести классификацию контрастных по устойчивости сортов ячменя, при которой производится группировка объектов по их близости в пространстве признаков. Для выделения факторов использовали метод главных компонент с последующим вращением в пространстве общих факторов с целью получения структуры, удовлетворяющей критерию Бергмана. Количество факторов определяли по критерию «каменистой осыпи». При вращении общих факторов использовали критерий «варимакс».

Результаты использования 4-х факторной модели были таковы. В 1-й фактор попадают 5 сортов (один устойчивый Pongo и 4 чувствительных: Медикум 336, Jelen, NSGL1, Рубеж), во 2-й – (один устойчивый Donum), в 3-й – (два чувствительных: Мыть и Заветный) и в 4-й – (четыре устойчивых: Вятский, Тео, Заря, Симфония). Таким образом, устойчивые сорта объединяются в 2 кластера: сорта Вятский, Тео, Заря, Симфония в одном и сорт Donum в другом. Чувствительные сорта тоже объединились в 2 кластера: Медикум 336, Jelen, NSGL1, Рубеж в 1-й, а Мыть и Заветный - в 2-ой. При этом в 1-й из них попал устойчивый сорт Pongo. Вероятно, устойчивость сорта Pongo к действию свинца определяется работой других энзимных систем, рассмотрение которых выходит за рамки настоящего исследования. Следует также отметить сорт Donum, который отделился от всех остальных сортов даже при использовании 2-х факторной модели. Таким образом, нам удалось, основываясь исключительно на данных о биохимическом полиморфизме, правильно классифицировать 12 контрастных по устойчивости к действию свинца сортов

ячменя. Полученный результат подтверждает предположение о генотипической природе внутривидового полиморфизма по устойчивости к свинцу и указывает на генетическое сходство близких по устойчивости сортов ячменя.

#### **ВЛИЯНИЕ ОТСУТСТВИЯ АЛЬФА-КАРБОАНГИДРАЗЫ 4 НА РАБОТУ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ ЭЛЕКТРОН-ТРАНСПОРТНОЙ ЦЕПИ В РАСТЕНИЯХ *ARABIDOPSIS THALIANA***

**Журикова Е.М., Игнатова Л.К., Мудрик В.А., Иванов Б.Н.**  
ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пушкино, Россия

*zhurikova-alena@yandex.ru*

Карбоангидраза (КА) – цинксодержащий фермент, который катализирует обратимую гидратацию углекислого газа с образованием бикарбоната и протона. В тилакоидной мембране высших растений выявлена только одна КА, а именно, альфа-КА4, точное местоположение которой ещё не установлено. При этом на основе различий в характеристиках и обнаружения в разных частях этой мембраны в ней были идентифицированы три источника КА активности.

В работе использовали растения *Arabidopsis thaliana* дикого типа (ДТ) и мутантные растения, нокаутированные по гену *At4g20990*, кодирующему альфа-КА4 (линии 9-12 и 8-8). Растения выращивали при 8 часовом освещении светом интенсивностью 120 мкмоль квантов/м<sup>2</sup> с и концентрации CO<sub>2</sub> 450 ppm. С помощью флуориметра mini-PAM («Walz», Германия) параметры флуоресценции хлорофилла *a* листьев были измерены при насыщающей интенсивности света, 500 мкмоль квантов/м<sup>2</sup> с, и оптимальной для фотосинтеза концентрации CO<sub>2</sub> 800 ppm. Скорость ассимиляции CO<sub>2</sub> листом измеряли с помощью газоанализатора GFS-3000 в потоке воздуха с концентрацией CO<sub>2</sub> 700 ppm.

Было найдено, что в указанных условиях эффективный квантовый выход фотосистемы 2,  $\Psi$ , в мутантных растениях был на 10% выше, чем в растениях ДТ. Коэффициент нефотохимического тушения,  $q_N$ , флуоресценции хлорофилла *a* в мутантных растениях был на 15-30% ниже, чем в растениях ДТ. Измерения релаксации этого тушения после выключения света показали, что эта разница возникает вследствие более низкого энергозависимого тушения,  $q_E$ , в мутантных растениях. Скорость ассимиляции CO<sub>2</sub> листьями мутантных растений в отличие от величины  $\Psi$  была ниже по сравнению с растениями ДТ; разница достигала 30-40%.

Более низкая, по сравнению с растениями ДТ, величина  $q_E$  в мутантных растениях свидетельствует о нарушении в отсутствие альфа-КА4 протонирования компонентов фотосистемы 2, ответственных за развитие диссипации световой энергии в этой фотосистеме. Более высокое значение эффективного квантового выхода в мутантных растениях и одновременно более низкая скорость ассимиляции CO<sub>2</sub>, позволяющая предположить, что в растениях, лишенных альфа-КА4, увеличен поток электронов к альтернативным акцепторам, наиболее вероятным из которых является кислород.

Работа поддержана грантом РФФИ 15-04-03883

#### **ПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭКЗОГЕННОЙ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА РАСТЕНИЯ ОГУРЦА В УСЛОВИЯХ ГИПОТЕРМИИ**

**Игнатенко А.А., Репкина Н.С.**

ФГБУН Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия

*angelina911@ya.ru*

Салициловая кислота (СК) – фитогормон фенольной природы, который принимает участие в различных ростовых, физиологических и адаптивных процессах растений. В частности, хорошо известна ее роль в защитных реакциях против патогенов. В отличие от этого, участие СК в механизмах формирования холодоустойчивости растений менее изучено. В связи с этим, целью работы было исследование влияния экзогенной СК на устойчивость проростков огурца к действию низких положительных температур. Недельные проростки огурца (*Cucumis sativus* L.) гибрида F1 Зозуля помещали на раствор СК (50 и 100 мкМ) и затем подвергали действию низких положительных температур (12 и 4°C). Холодоустойчивость определяли по выходу электролитов из листьев, уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) – по содержанию малонового диальдегида (МДА), содержание свободного пролина – по методу Бейтса с соавторами. Установлено, что воздействие температуры 12°C приводило к снижению выхода электролитов и уровня МДА в листьях, что свидетельствует о повышении устойчивости проростков, а температура 4°C вызывала увеличение выхода электролитов и накопление МДА, указывающее на их повреждение. Предобработка растений огурца СК (50 и 100 мкМ) способствовала снижению негативного влияния низких температур (12 и 4°C) на мембраны клеток, уменьшая выход электролитов из них. Вместе с тем, экзогенная СК уменьшала содержание МДА и уровень ПОЛ, что способствовало повышению устойчивости растений огурца при действии низких температур. Кроме того, СК усиливала накопление протекторного соединения –

свободного пролина в семядольных листьях огурца в условиях низких температур. Таким образом, совокупность полученных данных позволяет заключить, что предобработка СК в условиях гипотермии оказывает на проростки огурца протекторное действие, обусловленное ее способностью снижать развитие ПОЛ и препятствовать нарушению проницаемости мембран клеток.

### **СОРТОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПО СОДЕРЖАНИЮ ПИГМЕНТОВ ФОТОСИНТЕЗА В ПЛАСТИНКЕ ПЕРВОГО ЛИСТА ОЗИМОЙ РЖИ**

**Каргатова А.М., Степанов С.А.**

ФГБОУ ВПО Саратовский Государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия

*kuy-jene@yandex.ru*

Содержание хлорофилла является наследуемым сортовым признаком у озимой ржи. Содержание фотосинтетических пигментов в нижних листьях имеет особое значение в начале прорастания и развития проростков ржи, т.к. отмечена зависимость между развитием главного побега и зародышевой корневой системы.

Сравнительный анализ содержания пигментов фотосинтеза в листьях озимой ржи сортов саратовской и инорайонной селекции, выращиваемой в Саратовской губернии, ранее не проводился.

Исследования проводились в лабораторных условиях. Объектами изучения являлись 13 сортов озимой ржи: саратовской селекции - Елисеевская, Волжанка, Саратовская 7, Марусенька, Памяти Бамбышева, Солнышко; инорайонной - Таловская 41, Радонь, Роксана, Кировская 89, Безенчукская 87, Памяти Кунакбаева, Чулпан 7. Сорты отличались по морфологии побега, качеству зерна, устойчивости к засухе и листовой ржавчине, урожайности.

Среди сортов озимой ржи наблюдались значительные различия по содержанию фотосинтетических пигментов и соотношению между ними в пластинке 1-го листа при выращивании растений в условиях климатокamеры. Содержание пигментов 1-го листа при выращивании растений в условиях климатокamеры. Содержание пигментов составляло: хлорофилла *a* - от 1,03 до 1,92 мг/г; хлорофилла *b* - от 0,29 до 0,55 мг/г; каротиноидов - от 0,42 до 0,76 мг/г сырой массы. Соотношение пигментов достигало следующих значений: хлорофиллов *a* и *b* - от 2,29 до 5,28; хлорофиллов к каротиноидам - от 3,02 до 3,62.

Среди сортов ржи саратовской селекции меньшим содержанием хлорофиллов *a* и *b*, каротиноидов отличался стародавний сорт Елисеевская и новый сорт Солнышко. Более высокие значения по содержанию хлорофиллов и каротиноидов в пластинке первого листа свойственны сорту Волжанка. Среди сортов ржи инорайонной селекции меньшим содержанием пигментов фотосинтеза отличался сорт Кировская 89, большим - Таловская и Безенчукская 87. Более высокие значения соотношения хлорофиллов *a* и *b* отмечены: среди сортов саратовской селекции - Памяти Бамбышева, инорайонных сортов - Чулпан 7 и Памяти Кунакбаева.

Как показали исследования, суммарное содержание всех пигментов фотосинтеза в пластинке первого листа ржи составляло от 1,74 (Елисеевская) до 3,21 (Безенчукская 87) мг/г сырой массы. Таким образом, в контролируемых условиях роста и развития растений сортовые различия в содержании пигментов фотосинтеза в пластинке первого листа у озимой ржи могут достигать почти 2-х-кратных значений.

### **ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ LYSM-РЕЦЕПТОР-ПОДОБНОЙ КИНАЗЫ K1 ГОРОХА В РАЗВИТИИ СИМБИОЗА С КЛУБЕНЬКОВЫМИ БАКТЕРИЯМИ**

**Кириенко А.Н., Долгих Е.А.**

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии,  
Санкт-Петербург, Россия

*kiriencoann@yandex.ru*

Сигнальный диалог между бактериями порядка *Rhizobiales* и бобовыми растениями является индуктором каскада событий, которые приводят к развитию новых органов на корнях растений – азотфиксирующих клубеньков. Ключевыми регуляторами этого процесса являются выделяемые ризобиями факторы клубенькообразования Nod-факторы. В рецепцию Nod-факторов у бобовых растений вовлечены рецептор-подобные киназы с LysM-мотивами во внеклеточном домене (LysM-РПК). У гороха посевного (*Pisum sativum* L.) наиболее вероятными кандидатами на роль рецепторов к Nod-факторам являются LysM-РПК, кодируемые генами PsSym10 и PsSym37. Однако LysM-РПК PsSym10 обладает инактивным киназным доменом и поэтому, вероятнее всего, работает в комплексе с другой LysM-РПК, необходимой для осуществления передачи сигнала в клетку. В нашей работе мы сфокусировались на функции LysM-РПК K1, которая может являться дополнительным компонентом в рецепторном комплексе у гороха. Ранее нами была показана возможность формирования комплексов между рецепторными киназами SYM10 и K1 в различных гетерологичных системах – листьях *Nicotiana benthamiana* и дрожжах *Pichia pastoris* с помощью дрожжевой дигибридной системы. Роль K1, как возможного рецептора, была подтверждена построением 3D



модели внеклеточного домена и докинг анализом с основным лигандом – Nod фактором *Rh. leguminosarum* (NodRlv-V, Ac,C18:4). Для окончательного подтверждения роли K1 в симбиозе был произведён поиск мутантов по данному гену с применением методики TILLING (совместно с INRA-URGV, Франция). Выявлено 15 мутантных линий, у 3 из которых мутация, согласно *in silico* предсказаниям, нарушает функцию белка. Для выявленных мутантов был проведен анализ фенотипа. У мутантой линии, несущей мутацию в LysM3 домене внеклеточной части белка, на 28 день после инокуляции ризобиями на корнях растений не формировались клубеньки. Микроскопия показала блок развития симбиоза, формирование сас-подобных инфекционных нитей, отсутствовал выход бактерий из инфекционных нитей. Полученные данные позволяют говорить о ключевой роли K1 в распознавании Nod факторов, формировании комплекса с SYM10 и развитии симбиоза.

### **ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО ОТВЕТА РАСТЕНИЙ ВИНОГРАДА РАЗЛИЧНОГО ФИТОСАНИТАРНОГО СОСТОЯНИЯ**

**Колмыков А.Е., Сундырева М.А.**

ФГБНУ Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства,  
Краснодар, Россия  
*joker790@mail.ru*

Воздействие биотических стрессоров на растения винограда способно значительно снизить продуктивность виноградника и время его эксплуатации. Большое значение при этом имеет сопротивляемость растения воздействию различных патогенов. Фитоиммунитет обеспечивается множеством механизмов, изучение которых позволит контролировать динамику системы «многолетнее растение – природная среда» и снизить затраты на возделывание культуры.

Цель работы: Сравнительная оценка иммунного ответа растений винограда с различной устойчивостью к милдью.

Исследования проводились в 2014-2015 годах на вегетационной площадке СКЗНИИСиВ в г. Краснодар. Объектами исследований являлись гибридные формы винограда: ТАНА 33, ТАНА 42, ТАНА 68 различного видового происхождения, обладающие различной степенью устойчивости к грибным заболеваниям винограда. Кусты 2010 года посадки, плодоносящие, формировка – высокоштамбовый двусторонний кордон. Обработок пестицидами на участке не проводилось.

Произведена оценка интенсивности развития милдью на изучаемых гибридных формах винограда ТАНА 33, ТАНА 68 и ТАНА 42. В 2014 году оценка производилась 7 раз за вегетацию. В 2015 году оценка интенсивности развития произведена один раз в связи с неблагоприятными погодными условиями для развития милдью.

Как показывают наблюдения гибридная форма Тана 33 является наиболее устойчивой по сравнению с формами Тана 42 и Тана 68, которые в значительной степени поражаются милдью.

Содержание лигнина в листьях форм ТАНА 33 и ТАНА 68 возрастало в процессе патогенеза. Форма ТАНА 42 отличалась самыми низкими показателями содержания лигнина в листьях в начале августа.

Накопление кофейной кислоты, являющейся предшественником лигнина, отмечается с началом развития милдью на винограде. В 2014 году наибольшие показатели содержания кофейной кислоты отмечены в листьях формы винограда Тана 33. В 2015 году – форма ТАНА 68, а наименьшим из изучаемой группы – ТАНА 42.

В 2014 году связь между развитием милдью и накоплением хлорогеновой кислоты больше в пораженных листьях у формы ТАНА 68, у формы ТАНА 33 хлорогеновая кислота накапливалась в основных листьях. У формы ТАНА 42 накопление хлорогеновой кислоты происходило в равной степени в основных и больных листьях, однако.

В 2015 году содержание хлорогеновой кислоты в листьях возрастало в начале развития милдью. У формы ТАНА 33 в начале развития патогена отмечено невысокое содержание хлорогеновой кислоты в листьях, которое затем возрастало. Наибольшее содержание хлорогеновой кислоты выявлено у ТАНА 42 как в непораженных, так и в пораженных листьях.

### **УРОВЕНЬ ОН-РАДИКАЛОВ В РАСТЕНИИ *TRITICUM VULGARE* ПОСЛЕ ИНКУБАЦИИ С НАНОЧАСТИЦАМИ ОКСИДА НИКЕЛЯ CuO**

**Короткова А.М., Лебедев С.В.**

Институт биоэлементологии ФГБОУ ВПО Оренбургский государственный университет, Оренбург, Россия  
*anastasiaporv@mail.ru*

Под действием неблагоприятных факторов среды, таких как воздействие наночастиц (НЧ) металлов переменной валентности, происходит повышение концентрации активных форм кислорода и запуск окислительного стресса, приводящего к деструкции жизненно важных клеточных компонентов и клеточной гибели. В этом аспекте особенно губительно повышение внутри клетки гидроксильных ОН-радикалов,

оказывающих непосредственное влияние на молекулу ДНК и вызывающих образование ее окисленных производных. Поэтому вполне актуально исследовать уровень ОН-радикалов в среде с НЧ металлов у растений.

Определение ОН-радикалов проведено по измерению поверхностной флуоресценции 7-гидроксикумарин-3-карбоновой кислоты в суспензии клеток из корневой части четырехсуточных проростков *Triticum vulgare*, обработанных НЧ оксида меди CuO ( $65 \pm 10,5$  нм) при  $\lambda_{\text{возб.}} = 400$  нм,  $\lambda_{\text{эм.}} = 450$  нм на многопланшетном ридере. Лабораторные опыты проводили в 3-х кратной биологической повторности.

Установлено, что после 24-х часовой инкубации с НЧ CuO с проростками *Triticum vulgare* наблюдается существенно более интенсивное образование ОН-радикалов по сравнению с контрольными растениями, выращенными на дистиллированной воде. Так при воздействии НЧ CuO в концентрациях 0.0125, 0.025, 0.05, 0.1, 0.5 и 1 М количество образующихся радикалов HO $\cdot$  достоверно увеличивается относительно контроля на 10.4, 9.63, 24, 23.5, 29.4 и 34.9 %, соответственно.

На ряду с этим показано, что наличие обработка растений 0.1 М НЧ CuO в течение 1, 2 и 3 часов в существенной мере не влияет на образование ОН-радикалов – повышение содержания лишь до 0.93, 4.73 и 8.66 % относительно контроля. Однако при более длительном контакте в течение 4, 12 и 24 часов происходит более интенсивное образование ОН-радикалов по сравнению с контрольными растениями - до 18.8, 24 и 21.8 %, соответственно.

Таким образом, установлена зависимость образования ОН-радикалов от концентрации наночастиц оксида меди и времени инкубации с металлом в среде.

Работа выполнена при финансовой поддержке Государственного задания №342 от 01.02.2014 г.

### **СТИМУЛЯЦИЯ ОБРАЗОВАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В КАЛЛУСАХ ШАЛФЕЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО И ЭХИНАЦЕИ ПУРПУРНОЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ ХЛОРХОЛИНХЛОРИДА**

**Кривелева А.Н.**

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*nasya.kriveleva@yandex.by*

Хлорхолинхлорид является одним из известных ретардантов, под действием которых происходит торможение роста клеток молодого стебля в длину, усиление их деления в поперечном направлении, стимуляция развития механической ткани, повышение устойчивости обработанных растений к неблагоприятным факторам. Замедление ростовых процессов культивируемых *in vitro* растительных клеток и тканей, а также применение индукторов стрессоустойчивости могут выступать в качестве стимулов для повышения синтеза продуктов вторичного метаболизма. Основной группой вторичных метаболитов в культурах клеток шалфея лекарственного и эхинацеи пурпурной являются фенольные соединения, в частности, различные фенолоксиолы, фенилпропаноиды, флавоноиды и др. Лекарственные растения, содержащие фенилпропаноиды и флавоноиды, и соответственно, культуры их клеток и тканей являются перспективным источником адаптогенных, тонизирующих, антиоксидатных, иммуномодулирующих лекарственных средств. В связи с этим целью настоящей работы явилось исследование возможности повышения содержания суммы фенольных соединений в клетках каллусов шалфея лекарственного и эхинацеи пурпурной под влиянием хлорхолинхлорида. В работе использовалась питательная среда Мурасиге и Скуга, содержащая 3% сахарозы и фитогормоны. Стерильный маточный раствор хлорхолинхлорида добавляли в проавтоклавированные питательные среды до конечных концентраций от 1 до 100 мкМ. Анализ содержания суммы фенольных соединений в пересчете на феруловую кислоту производили на 30-е сутки ростового цикла (стационарная фаза). В самой низкой из протестированных концентраций хлорхолинхлорид не вызывал достоверных изменений уровней накопления вторичных метаболитов фенольной природы в клетках исследуемых каллусных культур. В присутствии 5 мкМ хлорхолинхлорида обнаружено возрастание содержания фенолов относительно контроля в среднем на 67% в каллусах шалфея лекарственного и на 24% в каллусах эхинацеи пурпурной. В результате культивирования каллусных тканей шалфея лекарственного на средах, включающих 10-100 мкМ хлорхолинхлорида, стимулирующий эффект проявлялся в меньшей степени и не превышал 20-30%. В случае эхинацеи пурпурной небольшое возрастание содержания фенольных соединений отмечалось в присутствии 10 мкМ хлорхолинхлорида, тогда как более высокие его концентрации не приводили к повышению образования анализируемых вторичных метаболитов. Таким образом, показана возможность использования хлорхолинхлорида в достаточно низкой концентрации (5 мкМ) для стимуляции накопления вторичных метаболитов фенольной природы в каллусных культурах отдельных лекарственных растений.

## ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ СТЕВИОЗИДА НА РОСТОВЫЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ КЛЕТОК КОРНЕЙ ПШЕНИЦЫ

**Куприянова В.В., Невмержицкая Ю.Ю., Тимофеева О.А.**

ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань, Россия

*Valentina.kupriyanova.2012@mail.ru*

Одной из приоритетных задач современной агрономической науки является поиск и создание новых регуляторов роста, которые являются экологически безопасными, полифункциональными физиологически активными соединениями, обладающими кроме рострегулирующей еще и антистрессовой активностью.

Исследование биологической активности различных химически модифицированных и природных производных стевиола показало, что они проявляют гиббереллин-подобную активность. Согласно нашим исследованиям наибольшей активностью среди этих соединений обладает дитерпеновый гликозид стевиозид, являющийся основным гликозидом растения *Stevia rebaudiana Bertoni*. При этом стевиозид уменьшает эффект тяжелых металлов на рост, активность лектиновых белков и антиоксидантных ферментов.

Для исследования использовали 3-х и 7-суточные проростки озимой пшеницы (*Triticum aestivum L.*) сорта Казанская 560. Перед посевом семена пшеницы стерилизовали 2% раствором перманганата калия в течение 15 минут, затем тщательно промывали водой и высаживали в кюветы на водопроводную воду и на среду со стевиозидом ( $10^{-8}$ М). Растения выращивались при 23<sup>0</sup>С и 16-часовом фотопериоде с освещенностью 100 Вт/м<sup>2</sup> в течении 6-ти суток. Затем растения пересаживали на растворы блокаторов Ca<sup>2+</sup>-каналов циннаризина (30 мкМ) и нифедипина (30 мкМ), через 24 ч определяли активность растворимых и связанных с клеточной стенкой лектинов, аскорбатпероксидазы.

В наших экспериментах стевиозид ( $10^{-8}$ М), добавленный в среду выращивания растений, повышал митотическую активность клеток корней 3-суточных проростков пшеницы на 17%. Эти результаты согласуются с полученными нами ранее о стимуляции стевиозидом ( $10^{-8}$ М) роста корней на 14% и листьев на 17%. Можно предположить, что стевиозид участвует в регуляции ростовых процессов растений.

Для выяснения возможной роли Ca<sup>2+</sup>-каналов в механизмах действия стевиозиды мы использовали модификаторы Ca<sup>2+</sup>-сигнальной системы циннаризин (30 мкМ) и нифедипин (30 мкМ) во второй серии экспериментов. При этом стевиозид ( $10^{-8}$ М) уменьшал эффект только циннаризина (30 мкМ) на активность растворимых лектинов и аскорбатпероксидазы, что позволяет сделать заключение об участии именно Ca<sup>2+</sup>-каналов эндомембран в механизмах действия стевиозиды.

## ДЕЛЕНИЕ И РАСТЯЖЕНИЕ КЛЕТОК КОРНЯ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ТАБАКА С ГЕТЕРОЛОГИЧНЫМ ГЕНОМ IAAМ

**Лаврентьева В.В.**

ФГАОУ ВПО Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б. Н. Ельцина,  
Екатеринбург, Россия

*lavrentieva.w@gmail.com*

Табак давно введен человеком в культуру и активно используется в качестве модельного растения. Ауксин, в свою очередь, является одним из важнейших гормонов для растения, который участвует в органогенезе, реализации тропических движений растения, работе меристем, и других физиологических действиях.

Используя технологии рекомбинантных ДНК, можно создавать модельные растения для изучения влияния эндогенного уровня гормонов на рост и развитие растений. В нашей работе изучены особенности клеток корня в зонах деления и растяжения у трансгенных растений табака сорта Самсун (2 линии, 24 растения) со встроенным агробактериальным геном синтеза ауксинов iaaM под сильным конститутивным промотором 35S в сравнении с контрольными (2 линии, 14 растений).

Для расчета митотического индекса в линии трансгенного контроля (pSS) измерения проводились на 3 образцах КАМ, в остальных линиях использовалось по 13-17 кончиков корней. Использовалась стандартная методика определения митотического индекса на временных давленных препаратах, зафиксированных в фиксаторе Кларка и окрашенных ацетокармином.

Достоверного различия по митотическому индексу между линиями найдено не было (55-62 %). Подобные результаты были ожидаемы, так как известно, что ауксин стимулирует деление ствольных клеток ПАМ, но не оказывает данного влияния на клетки кончика корня.

На окрашенных ацетокармином препаратах проводились измерения размеров клеток. Всего в работе было использовано 10 растений контрольной линии, 4 растения линии pSS, 8 растений трансгенной линии 6/1 и 16 растений трансгенной линии 6/2.

Клетки корневой апикальной меристемы во всех линиях имели типичную изодиаметрическую форму, индекс прозенхимности не имел достоверных отличий и составлял 1,04 – 1,05. Объем клеток во всех линиях существенно не отличался и составлял от 2000 до 2750 мкм<sup>3</sup>. Следовательно, морфологические характеристики клеток зоны деления не менялись под действием избытка ауксина.

В зоне растяжения корня индекс прозенхимности составлял: 3,61 у контроля и 4,1-4,6 у трансгенных растений, что достоверно больше. Объемы клеток варьировали от 92000 до 130000 мкм<sup>3</sup>. Меньший объем дифференцированных клеток линий трансгенного контроля и 6/2 можно объяснить случайной инсерцией генетической конструкции в функциональный ген и нарушением гормонального баланса, соответственно. Следовательно, эндогенный избыток ИУК стимулирует растяжение клеток вдоль длинной оси в зоне дифференциации.

#### **УЧАСТИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА И АЗОТА В РОСТЕ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР, РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ПО ГОРМОНОЗАВИСИМОСТИ**

**Лугманова А.Ф.<sup>1</sup>, Сибгатуллина Г.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Казанский национальный исследовательский технологический университет, Казань, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань, Россия

*AnisaLugmanova@gmail.com*

Важной проблемой физиологии растений является познание сущности процессов роста, клеточной дифференциации и морфогенеза. Каллусные культуры, различающиеся по митотической активности и гормонозависимости, являются удобной моделью для изучения многих физиолого-биохимических процессов и генетики растительного организма. Целью данной работы было оценить роль перекиси водорода и оксида азота в регуляции роста неморфогенных культур гречихи татарской, различающихся по гормонозависимости.

Исследования показали, что гормонозависимый и гормононезависимый каллусы существенно не различаются по показателям митотического индекса и привеса сухой биомассы. Однако привес сырой биомассы гормонозависимого каллуса был в 2 раза выше по сравнению с культурой, растущей в отсутствие экзогенных гормонов. Вероятно, это связано с большей оводненностью клеток гормонозависимого каллуса. В гормонозависимом каллусе растяжение клеток наблюдалось только на 1-е сутки культивирования, тогда как в гормононезависимом каллусе отмечали растяжение клеток, как на 1-е сутки, так и в период после 6-х суток культивирования. Проведенные исследования выявили сходство динамики содержания внутриклеточной H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> обеих культур. Снижение внутриклеточного содержания H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в обоих каллусах отмечали на 1-е сутки культивирования, когда происходило растяжение клеток. В дальнейшем происходило увеличение содержания H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> при увеличении митотической активности клеток каллусов. Была выявлена корреляция между активностью СОД и содержанием H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в клетках неморфогенных каллусов на начальные и конечные сутки пассажа. Наши исследования содержания NO в каллусных культурах, выявили, что содержание NO в клетках привыкшего каллуса выше в два раза по сравнению с каллусом, растущим на среде с добавлением гормонов, при этом динамика содержания NO в исследуемых культурах существенно не различается.

Таким образом, мы установили, что отсутствие гормонов в среде культивирования значительно не сказывается на ростовых характеристиках каллуса. Предположительно, гормононезависимый каллус способен к синтезу эндогенных гормонов, на уровне, позволяющем поддерживать высокие темпы роста. Исходя из полученных данных, можно заключить, что перекись водорода может участвовать в регуляции процессов деления и растяжения каллусных клеток. Корреляции между содержанием и динамикой NO и ростовыми параметрами исследуемых каллусов установить не удалось. В дальнейшем представляет интерес исследовать изменение экспрессии генов клеточного цикла, которые могут находиться под редокс-контролем.

#### **РЕГУЛЯЦИЯ СОЛЕУСТОЙЧИВОСТИ ПРОРОСТКОВ *ARABIDOPSIS THALIANA* 24-ЭПИБРАССИНОЛИДОМ**

**Малофий М.К., Коломейчук Л.В., Ефимова М.В.**

ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия

*marina\_malofii@mail.ru*

Брассиностероиды оказывают всестороннее влияние на развитие растений. Особый интерес исследователей в последние годы связан со способностью брассиностероидов активировать защитные системы растений в условиях стресса.

Исследовали действие NaCl (0, 75, 100, 125 и 150 мМ) и 24-эпибрасинолида (ЭБЛ, 0.1-10 нМ) на рост и развитие 7-суточных проростков *Arabidopsis thaliana* экотипа *Wassilewskija*. Контролем служили

проростки *Arabidopsis*, выращенные на питательной среде ½ Мурасиге и Скуга. Нами были проанализированы ростовые (длина осевых органов и площадь семядолей) и физиологические (содержание фотосинтетических пигментов и пролина) показатели.

Наибольшую чувствительность к действию NaCl проявляли корни проростков; подавление их роста было отмечено при концентрации 75 мМ (на 15 %), максимальный негативный эффект был достигнут при концентрации NaCl 150 мМ (в 2,8 раз). Экзогенный ЭБЛ на фоне засоления снижал негативный эффект последнего на рост корня, наибольший результат был достигнут при 0,1 нМ.

Снижение накопления фотосинтетических пигментов (хлорофилла *a*, хлорофилла *b* и каротиноидов) наблюдалось при концентрации NaCl 75 мМ; наибольший негативный эффект был отмечен для хлорофилла *a*. Вне зависимости от действующей концентрации гормона, ингибирующий эффект соли подавлялся.

Известно, что маркером стресса является повышенное содержание пролина, который снижает негативное действие засоления, за счет реализации осмопротекторной, антиоксидантной и шаперонной функций. В нашем исследовании уровень пролина увеличивался в 1.5 раза при 75 мМ NaCl, максимальное его содержание достигалось при концентрации соли 150 мМ (в 4 раза выше контрольного). Экзогенный ЭБЛ снижал аккумуляцию пролина при засолении вне зависимости от действующей концентрации и содержания NaCl в среде.

Таким образом, нами показана органоспецифичность реакции проростков *Arabidopsis* в ответ на действие NaCl. В основе протекторного действия 24-эпипбрасинолида при солевом стрессе, очевидно, лежит его способность предотвращать разрушение фотосинтетических пигментов и снижать накопление пролина. Последнее связано с тем, что при формировании защитных механизмов на фоне хлоридного засоления важным является не только быстрое обеспечение растения высокими концентрациями совместимых осмолитов, но и сохранение энергетических ресурсов за счет блокирования отдельных метаболических путей и формирования альтернативных защитных систем, направленных на выживание организма в условиях стресса.

## ИЗМЕНЕНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЛИСТА ГОРОХА ПРИ РАСПРОСТРАНЕНИИ ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО СИГНАЛА

Морозова Е.Н., Сухов В.С.

ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

*kater333@inbox.ru*

В настоящее время показано, что варибельный потенциал (ВП), распространяясь по растению, способен вызывать ряд функциональных ответов, в том числе обратимую инактивацию фотосинтеза, включая уменьшение поглощения CO<sub>2</sub> листом, снижение квантовых выходов фотосистем I и II, рост нефотохимического тушения и др. Целью настоящей работы стало исследование пространственного распределения фотосинтетического цвета в плоскости листа и анализ связи такого распределения с распространением ВП по листовой пластинке. Объектом исследования являлись проростки гороха (*Pisum sativum* L.), сорт Альбумен, 18-24 дневного возраста, выращенные гидропонным способом в климатической камере (25°C, 12-ти часовой световой период). Генерацию ВП индуцировали, обжигая кончик первого зрелого листа открытым пламенем в течение 3-4 секунд. Биоэлектрические реакции регистрировали внеклеточно при помощи хлорсеребряных (Ag/AgCl) макроэлектродов, трехканального высокоомного усилителя (ИПЛ-113, "Семико", Россия) и ПК. Три измерительных электрода контактировали с различными участками второго зрелого листа через электропроводящий гель, электрод сравнения был погружен в омывающий корни раствор. Для исследования фотосинтетической активности в различных участках второго листа использовали РАМ-флуориметр - IMAGING-PAM MINI Version (Heinz Walz GmbH, Германия), который позволял регистрировать пространственное распределение квантового выхода фотосистемы II (Y(PSII)) и нефотохимического тушения флуоресценции (NPQ).

Было показано, что локальный ожог первого листа гороха вызывал снижение активности фотосинтеза (уменьшение Y(PSII) и рост NPQ) во втором зрелом листе. Такое снижение развивалось в течение нескольких минут после ожога, а его амплитуда существенно различалась в различных участках исследуемого листа. Так наибольшие изменения наблюдались по краям исследованного листа, а минимальные развивались в области средней жилки. Неоднородной была и динамика распространения ответа по листу, так как уменьшение Y(PSII) и рост NPQ изначально развивались по краям нижней части листа, постепенно распространяясь в верхнюю часть и к средней жилке. Можно предположить, что такие распространения изменения отражают особенности ВП в различных участках листа. Действительно, анализ ВП показал, что наибольшая амплитуда электрического сигнала наблюдается по краям листа, в то время как в области центральной жилки имеет место лишь небольшой по амплитуде варибельный потенциал. Такой результат показывает определенное соответствие между параметрами ВП и параметрами фотосинтетического ответа в различных участках листа. Причины, лежащие в основе неоднородного

распределения параметров ВП и вызванного ими фотосинтетического ответа в листе требуют дальнейшего исследования. Можно предположить, что такие различия могут быть связаны с различным возрастом клеток листа в разных его участках, так как возбудимость клеток растений зависит, по-видимому, от их возраста. Другой возможной причиной полученных результатов может быть сложный путь распространения ВП по листу.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-26-00098)

### **ДИНАМИКА ПРОРАСТАНИЯ МУТАНТНЫХ ЛИНИЙ С НАРУШЕННОЙ РЕЦЕПЦИЕЙ ЦИТОКИНИНОВ *ARABIDOPSIS THALIANA* ПРИ ХЛОРИДНОМ ЗАСОЛЕНИИ**

**Мурган О.К.<sup>1</sup>, Дорошенко А.С.<sup>2</sup>, Ефимова М.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия;

<sup>2</sup>Институт физиологии растений им. Тимирязева РАН, Томск, Россия

*reborn\_rinni@mail.ru*

В настоящее время активно обсуждается проблема участия фитогормонов в формировании механизмов устойчивости растений к хлоридному засолению. Вопрос о том, вовлекаются ли цитокинины (ЦК) в регуляцию солеустойчивости, остается открытым. Для его изучения проводят исследования на мутантах с нарушенным синтезом гормона или оценивают его экзогенное воздействие.

Модельным объектом в нашей работе служили проростки инсерционных мутантов *Arabidopsis thaliana* - *ahk2* и *ahk2/ahk3* с инактивированными генами рецепторов ЦК, полученные на основе экотипа *Columbia*. Устойчивость проростков к засолению выявляли по динамике прорастания на различных концентрациях NaCl в среде (0, 75, 100, 125, 150, 175 и 200 мМ) на протяжении 14 суток после 3-х суточной стратификации семян.

В отсутствие засоления количество проросших семян на 2-е сутки у всех анализируемых линий значительно различалось; максимальный показатель был достигнут для линии *ahk2* - 83 %, минимальный - для двойного мутанта *ahk2/ahk3* - 44 %. На 14-е сутки число проросших семян у родительской линии и двойного мутанта составляло примерно 86 %; у одинарного мутанта значение было выше на 10%.

Родительская линия проявляла более высокую солеустойчивость при концентрациях NaCl в интервале 75-125 мМ. При 75 мМ NaCl, интенсивность прорастания семян Col на 2-е сутки не изменялась по сравнению с контрольным вариантом и составляла 64 %. Увеличение концентрации NaCl до 100 и 125 мМ способствовало снижению показателя в 3.5-3.8 раз. Линии с нарушенной рецепцией ЦК характеризовались низкой интенсивностью прорастания семян при 75 мМ NaCl. Однако увеличение концентрации соли до 125 мМ способствовало повышению устойчивости у мутантных линий, начиная с 3-х суток. Количество проросших семян одинарного мутанта превышало, а у двойного мутанта было сопоставимо с аналогичным показателем для родительской линии. 150 мМ NaCl задерживала прорастание семян *Arabidopsis* с нарушенной рецепцией ЦК на одни сутки; для *ahk2* и Col этот показатель выравнивался лишь на 5-е сутки. Значительные различия среди линий появлялись только при 175 и 200 мМ NaCl; семена *ahk2/ahk3* начинали прорастать на 6 и 10-е сутки соответственно, в то время как остальные линии – на 3 и 6-е сутки.

Таким образом, можно предположить, что при адаптации растений к NaCl в низких концентрациях функционирование системы восприятия цитокининов не является лимитирующим фактором, тогда как отсутствие основного рецептора АНК3 при интенсивном засолении (свыше 150 мМ) снижает устойчивость растений.

### **ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ДОНОРНЫХ ПАР, СОДЕРЖАЩИХ ДИХЛОРФЕНОЛИНДОФЕНОЛ ИЛИ N,N,N',N'-ТЕТРАМЕТИЛ-1,4-Р-ФЕНИЛЕНДИАМИН, С КИСЛОРОДОМ И ФОТОСИСТЕМОЙ 1**

**Петрова А.А.<sup>1</sup>, Козулева М.А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>НИИ физико-химической биологии им. Белозерского МГУ, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пушино, Россия

*draparnaldia@gmail.com*

Изучение взаимодействия компонентов фотосинтетической электрон-транспортной цепи, в частности фотосистемы 1 (ФС1), с O<sub>2</sub> в условиях воздействия высоких интенсивностей света требует присутствия эффективного донора электронов. Тогда реакция ФС1 с акцептором электронов окажется скоростью-лимитирующей стадией. Кроме того, в среде не должно протекать побочных реакций с участием O<sub>2</sub>. В данной работе мы детально изучили взаимодействие двух наиболее часто используемых донорных пар аскорбат + дихлорфенолиндофенол (ДХФИФ) и аскорбат + N,N,N',N'-тетраметил-1,4-р-фенилендиамин (ТМФД) с ФС1 и O<sub>2</sub>.

Нами были использованы выделенные комплексы ФС1 из цианобактерии *Synechocystis sp.* PCC 6803. Их взаимодействие с донорными парами мы изучали методами измерения скорости поглощения O<sub>2</sub> с помощью стандартного электрода Кларка и методом регистрации сигнала P<sub>700</sub><sup>+</sup> с помощью РАМ-

флуориметра. Мы сравнили скорости поглощения  $O_2$  в суспензии без добавок и в присутствии метилвиологена, который эффективно принимает электроны от ФС1 и затем восстанавливает  $O_2$ .

Эффективность работы ДХФИФ и ТМФД, как доноров электронов, определялась путем сравнения скоростей поглощения  $O_2$  в присутствии метилвиологена. Нами было показано, что в случае использования ДХФИФ в качестве медиатора, скорости поглощения  $O_2$  были значительно более высокими, чем при тех же концентрациях ТМФД. Таким образом, в условиях стационарного освещения ДХФИФ является более эффективным донором электронов. Это также подтверждают измерения кинетики восстановления  $P_{700}^+$ : в присутствии ДХФИФ скорость восстановления  $P_{700}^+$  выше, чем в присутствии ТМФД.

С другой стороны, нами было выявлено, что скорость поглощения  $O_2$  в пробе, содержащей ДХФИФ, линейно растет с увеличением его концентрации, в то время как в случае ТМФД этот показатель выходит на плато уже при относительно низких концентрациях медиатора. Мы предположили, что это связано с тем, что ДХФИФ выступает также в роли акцептора электронов. Это подтверждается результатами измерений зависимости амплитуды сигнала  $P_{700}^+$  от концентрации ДХФИФ и ТМФД.

Таким образом, несмотря на то, что ДХФИФ является более эффективным донором, он может подобно метилвиологену акцептировать электроны от ФС1 и восстанавливать  $O_2$ . Поэтому, в его присутствии изучение реакции взаимодействия  $O_2$  с ФС1 затруднительно и этот фактор необходимо учитывать при проведении подобных экспериментов.

### **ВЛИЯНИЕ ПАРА-АМИНОБЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ НА СОЛЕУСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM L.*)**

**Петрова А.А., Белозерова А.А.**

ФГБОУ ВО Тюменский государственный университет, Тюмень, Россия

*inbiobotan@gmail.com*

Засоление является одним из основных экологических факторов, серьезно влияющих на продуктивность сельскохозяйственных культур. Большое количество земель недоступно для возделывания из-за проблемы засоления. Засоление затрагивает 2% ирригационных почв в мире, по прогнозам исследователей к 2050 году более 50% пахотных земель будут засолены.

Оценку сортов пшеницы по устойчивости к хлоридному засолению проводили с использованием вегетационных сосудов в лабораторном и полевом (2014-2015 гг.) экспериментах. Для повышения солеустойчивости использовали пара-аминобензойную кислоту, физиологически активное вещество полимодификационного действия. Лабораторный эксперимент включал 6 вариантов: контроль 1 и опыт 4 – сухие семена без обработки; контроль 2 и опыт 3 – семена, выдержанные в воде; опыт 1 – семена, обработанные 0,01% раствором ПАБК; опыт 2 – семена, обработанные 0,05% раствором ПАБК. Определение морфометрических параметров проведено на 10-дневных проростках. В полевых условиях изучено 4 варианта: контроль 1 и опыт 3 – семена, выдержанные в воде, опыт 1 – семена, обработанные 0,01% раствором ПАБК; опыт 2 – семена, обработанные 0,05% раствором ПАБК. В опытных вариантах создавался провокационный фон с 1,4% NaCl. Время обработки семян – 12 часов.

Лабораторная всхожесть семян значительно снижалась в условиях хлоридного засоления, и в среднем по сортам изменялась от 44,7 до 53,1%, в контрольных вариантах от 82,3 до 83,5%. По сортам данный показатель варьировал от 14,0% у сорта СКЭНТ 3 в опыте 2 до 74,7% у сорта СКЭНТ 1 в опыте 3. На провокационном фоне в лабораторных условиях наблюдалось угнетение признаков корневой системы (число, длина, сырая и сухая масса корней) и надземных органов (число, ширина, площадь листа, длина, сырая и сухая масса побега) проростков. В полевом эксперименте отмечено снижение сырой и сухой массы растений, показателей флагового и второго листа.

Предпосевная обработка семян ПАБК привела к повышению адаптивных свойств проростков, способствуя увеличению числа корней, длины корневой системы и побегов, площади листовой пластинки. В условиях полевого опыта отмечено увеличение высоты растений, длины колоса и количество междоузлий. Наибольший эффект отмечен при использовании ПАБК в концентрации 0,01%.

### **АКТИВНОСТЬ ПЕРЕКИСЬ - РАСЩЕПЛЯЮЩИХ ФЕРМЕНТОВ В УЗЛЕ КУЩЕНИЯ РАСТЕНИЙ ТРИТИКАЛЕ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЛУБИНЫ ЕГО ЗАЛЕГАНИЯ**

**Платовский Н.Н., Здиорук Н.В.**

Институт Генетики, Физиологии и Защиты Растений, Кишинёв, Молдова

*Nik.Plat@hotmail.com*

Климатические условия в Республике Молдова не всегда бывают оптимальными для культивирования зерновых, что связано с малоснежными зимами, поверхностным промерзанием почвы и ранневесенними засушливыми периодами, приводящими к ослаблению и даже гибели растений. Мы использовали биологически активный регулятор роста - РЕГЛАЛГ для обработки семян тритикале перед посевом, что позволило «погрузить» узел кущения глубже в почву, тем самым защищая его от мороза и засухи.

Отметим, что узел кушения у контрольных растений был погружен в почву на 3 см, в то время, как у опытных растений – на 4,5 см за счет уменьшения длины эпикотилия, благодаря чему в бесснежные зимы температура в этой зоне на 3-4°C выше, по сравнению с зоной нахождения узла кушения у контрольных растений.

Нами определялась суммарная удельная активность перекись-расщепляющих ферментов в экстрактах узлов кушения контрольных и опытных вариантов в осенне-зимний период. Что дало возможность судить о специфичности биохимических процессов, протекающих в растениях. Полученные результаты свидетельствуют о том, что активность перекись-расщепляющих ферментов в ноябре в экстрактах из узлов кушения контрольного варианта составляла 1,42 мМ Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/мин/мг белка, а в экстрактах опытного варианта – 1,15 мМ Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/мин/мг белка. Данная тенденция сохраняется на протяжении всего осенне-зимнего периода, однако численные значения активности снижались. К началу января активность ферментов в экстрактах из узлов кушения контрольного варианта составляет 0,48 мМ Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/мин/мг белка, в то время, как в экстрактах опытного варианта – 0,25 мМ Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/мин/мг белка. Следовательно, с увеличением глубины залегания узла кушения активность ферментов уменьшается в среднем на 0,25 единиц в течение всего осенне-зимнего периода. Таким образом, можно предположить, что растения опытных вариантов меньше расходуют метаболитов для окислительно-восстановительных процессов, это обеспечивает им преимущество, по сравнению с контрольными растениями.

### ДЕГИДРОАСКОРБАТ РЕДУКТАЗЫ ИЗ СЕМЕЙСТВА ГЛУТАТИОН-S-ТРАНСФЕРАЗ РИСА

**Приказюк Е.Г., Емельянов В.В.**

ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*prikaziuk@mail.ru*

Семейство генов глутатион-S-трансфераз (glutathione S-transferase, GST) у растений велико: у *Oryza sativa* – 91 ген, у *Arabidopsis thaliana* – 78 генов. Основная функция продуктов этих генов – восстановление соединений, появляющихся как при нормальном метаболизме растения, так и извне (гербициды). Экзогенные вещества, как правило, вызывают стрессорный ответ.

По гомологии аминокислотных последовательностей глутатион S-трансферазы делят на подсемейства: 4 подсемейства димерных белков – φ (phi), τ (tau), ζ (zeta), θ (theta); 2 подсемейства мономерных белков – λ (lambda), DHAR (дегидроаскорбат редуктазы) и 2 минорных подсемейства белков, у которых также имеется GST-домен, – фактор элонгации 1 гамма (elongation factor 1 gamma, EF1γ) и тетрахлородигидрохинон дегалогеназа (tetrachlorohydroquinone dehalogenase, TCHQD).

Наше исследование посвящено изучению экспрессии генов *OsDHAR* риса (*O. sativa* var. japonica) при недостатке кислорода и последующем окислительном стрессе. Продукты этих генов – дегидроаскорбат редуктазы (EC 1.8.5.1) – играют важную роль в детоксикации активных форм кислорода, соединения аскорбатную и глутатионовую половины аскорбат-глутатионового цикла (Halliwell Asada pathway). Фермент восстанавливает дегидроаскорбиновую кислоту, окисляя глутатион. Дегидроаскорбат образуется в клетке при действии фермента монодегидроаскорбат-редуктазы или при неферментативном диспропорционировании двух молекул монодегидроаскорбата. Хотя дегидроаскорбиновую кислоту можно восстановить за счёт других соединений, не обязательно глутатиона, в рамках аскорбат-глутатионового цикла интересны именно глутатион S-трансферазы.

Активность DHAR существенно не изменялась в корнях и побегах риса после суток анаэробного воздействия. Воздействие трехсуточного анаэробнозиса приводило к снижению активности фермента, которое нивелировалось после 24 ч реэрации, а в побегах проростков риса DHAR даже активировалась под действием реэрации. Предварительные данные транскрипционного анализа показали сходные результаты. Суммарная экспрессия генов *OsDHAR* в побегах риса поддерживалась на постоянном уровне при аноксии и возрастала при реэрации (особенно после краткосрочной аноксии, 12 и 24 ч.), а в корнях уровень экспрессии *OsDHAR* снижался под действием аноксии и возрастал при реэрации. Из двух предполагаемых генов *OsDHAR* наиболее активным и в побегах, и в корнях был *OsDHAR1*.

### ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА ЦИРКОНА ДЛЯ УСТРАНЕНИЯ РОСТА И РАЗВИТИЯ РАСТЕНИЙ ГОРОХА (*PISUM SATIVUM L.*)

**Рыбовалова И.А., Чмелёва С.И.**

ФГАУ ВО Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского, Симферополь, Россия

*irina.ribovalova@yandex.ru*

В настоящее время наряду с природными регуляторами роста все большее значение приобретает использование синтетических физиологически активных веществ, а также различных комплексных препаратов, обладающих большим спектром физиологического действия на растение. Большинство



используемых препаратов является аналогами эндогенных фитогормонов. При этом, будучи естественными соединениями, они непосредственно включаются в метаболизм растений, не оказывая вредного влияния на почву и окружающую среду.

Циркон - препарат широкого спектра биологического действия, рекомендован производителем для обработки различных сельскохозяйственных культур. Его действующим веществом служит смесь гидроксикоричных кислот (ГКК), получаемых из растительного сырья эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea* L.).

Как в теоретическом, так и практическом отношении несомненный интерес представляет всестороннее изучение воздействия препарата Циркона на хозяйственно ценные сорта культурных растений, выращиваемых в условиях Республики Крым.

В связи с этим, целью нашей работы явилось изучение влияния предпосевной обработки препаратом Циркон на рост на семена и проростки гороха (*Pisum sativum* L., сортов Арфа, Дамир и Мадонна).

Применяли предпосевную обработку семян в течение 6 часов растворами препарата в концентрациях: 0,0125; 0,025 и 0,05 мг/л. В качестве морфометрических показателей исследовались: высота растений, длина корней, масса сырого и сухого вещества у 10-, 20-, 30-дневных растений, выращенных в вегетационных сосудах емкостью 2 кг, при естественном освещении. Растения выращивали в лабораторных условиях при температуре от +20 до +24<sup>0</sup> С в течение 4 недель.

В результате наших исследований было установлено, что Циркон стимулирует ростовые процессы гороха уже на ранних этапах онтогенеза. Наблюдается увеличение надземной и подземной части растений, как по массе, так и по длине.

Обработка Цирконом семян гороха способствовала увеличению длины надземной части растений гороха уже на 10 сутки учета в среднем в 1,6 раз по сравнению с контролем; длины корневой системы – в 1,4 раза; массы сухого вещества надземной части – в 1,7 раз; массы сухого вещества корней – на 13%.

Полученные результаты подтвердили перспективность использования препарата Циркон для предпосевной обработки семян различных сельскохозяйственных культур.

#### **ВЛИЯНИЕ *BACILLUS SUBTILIS* НА СОДЕРЖАНИЕ ПРОЛИНА В ПОБЕГАХ ПШЕНИЦЫ ПРИ ПОЧВЕННОЙ ЗАСУХЕ**

**Саттарова Л.Р., Курамшина З.М.**

ФГБОУ ВО Стерлитамакский филиал Башкирского государственного университета, Стерлитамак, Россия

*liliya-sattarova-DM@mail.ru*

Засуха является одним из внешних факторов, ингибирующих многие метаболические процессы, лимитирующих рост и продуктивность растений. В настоящее время актуальность приобретают исследования, посвященные изучению и разработке приемов выращивания растений, обеспечивающих их устойчивость к почвенной засухе. Для увеличения продуктивности и устойчивости культурных растений особое внимание уделяется использованию бактериальных препаратов, изготовленных на основе штаммов эндофитных штаммов *Bacillus subtilis*. Целью данной работы явилось изучение влияния инокуляции семян пшеницы эндофитными штаммами бактерий *Bacillus subtilis* шт. 26Д на содержание пролина в условиях имитации почвенной засухи. Семена растений *Triticum aestivum* L обрабатывали суспензией спор (10<sup>6</sup> клеток/мл) эндофитных бактерий *B. subtilis* 26Д из расчета 20 мкл суспензии на 1 г семян и высевали в почву. Почвенную засуху имитировали следующим способом. После посева семян почву во всех сосудах поливали дистиллированной водой до влажности 70 % от полной полевой влагоемкости, которую определяли расчетным методом. После появления всходов контрольными растениями служили те, которые поливались из расчета создания 70 % влажности почвы. Опытные растения (имитация засухи) выращивались в сосудах, в которых влажность почвы поддерживалась на расчетном уровне 30 % от полной полевой влагоемкости. Через 30 дней измеряли биомассу растений и содержание пролина в побегах. Содержание свободного пролина определяли с помощью кислого ингидринового реактива. Навеску растительной ткани (200 мг) заливали 5 мл кипящей дистиллированной воды и выдерживали в течение 10 минут на водяной бане. Затем в чистую пробирку заливали 2 мл ледяной уксусной кислоты, 2 мл ингидринового реактива и добавляли 2 мл экстракта. Пробы инкубировали в течение 20 мин на водяной бане, затем быстро охлаждали. Далее измеряли оптическую плотность продуктов реакции при длине волны 520нм на спектрофотометре. В результате проведенных исследований было выявлено, что растения, инокулированные *B. subtilis* и выросшие при влажности почвы 70%, имели более высокие показатели биомассы и низкое содержание пролина, чем необработанные бактериями растения и выросшие при оптимальном увлажнении почвы. Растения, инокулированные бактериями и растущими в условиях недостатка влаги, имели более высокие показатели биомассы и содержание пролина, чем необработанные растения, подвергнутые засухе. Таким образом, в условиях засухи обработка семян спорами эндофитного штамма бактерий *B. subtilis* 26Д способствовала снижению отрицательного эффекта засухи у растений.

## ВЛИЯНИЕ ТЕПЛООВОГО ШОКА НА СОДЕРЖАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ В ПРОРОСТКАХ ТРИТИКАЛЕ ПРИ ЗАСОЛЕНИИ

Свиридович М.М., Яковец О.Г.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*sviridovich.mari@mail.ru, yakovets@inbox.ru*

Растения способны под влиянием одного из неблагоприятных факторов приобретать устойчивость к другим стрессовым воздействиям. Благодаря кросс-устойчивости, растения можно закалывать, стимулируя их иммунитет низкими дозами стрессоров. Предварительный тепловой шок (ТШ) защищает растительный организм от последующего действия засоления, засухи, тяжелых металлов, ультрафиолетовой радиации.

Объектом исследований служили 11-дневные проростки тритикале сорта «Михась», выращенные рулонным способом в стеклянных сосудах при комнатной температуре и естественном освещении. В первой серии экспериментов проростки выращивались на дистиллированной воде. На 8 и 11 сутки после посадки проростки подвергались 3ч-воздействию высокой температуры ( $+40,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$ ). Содержание фотосинтетических пигментов (ФСП) определяли у 11-дневных проростков через 0,5, 1 и 72ч после ТШ. Через 0,5ч после ТШ наблюдалось достоверное увеличение количества хл *a*, хл *b*, их суммы; количество каротиноидов не изменялось. Через 1ч наблюдаемый эффект усиливался, более того, было зафиксировано увеличение количества каротиноидов. Через 72 часа происходило достоверное уменьшение количества ФСП. Возможно, наблюдаемые эффекты связаны с синтезом белков теплового шока, их защитной функцией, а также с индуцируемым гипертермией разрушением хлорофилл-белкового комплекса и увеличением количества хлорофилла в свободном состоянии. Во второй серии экспериментов 8-дневные проростки помещали в сосуды, содержащие растворы состава (I): 1мМ CaSO<sub>4</sub>; 1мМ CaSO<sub>4</sub>, 150мМ NaCl; 1мМ CaSO<sub>4</sub>, 300мМ NaCl. После 72ч-воздействия 300 мМ NaCl наблюдалось достоверное уменьшение количества ФСП. В третьей серии экспериментов рулоны с проростками на 8 сутки после посадки подвергали тепловому закаливанию и помещали в растворы состава (I) на 72ч. В результате установлено, что после предварительного ТШ при последующем выращивании проростков в присутствии 300 мМ NaCl наблюдалось достоверное увеличение количества ФСП.

Таким образом, установлено, что гипертермия индуцирует увеличение содержания ФСП в проростках в первые часы после воздействия (0,5ч, 1ч), в дальнейшем наблюдается снижение количества ФСП; выращенные при засолении проростки отличаются от контрольных меньшим содержанием ФСП; предварительный ТШ повышает устойчивость фотосинтетического аппарата тритикале к последующему 72ч-воздействию сильного засоления (300 мМ NaCl).

## ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ МЕТАБОЛИЗМ УГЛЕРОДА В СТРУКТУРНЫХ ЭЛЕМЕНТАХ КОЛОСА

Синенко О.С., Киселева И.С.

ФГАОУ ВПО Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н.Ельцина,  
Екатеринбург, Россия

*olga\_sinenko@list.ru*

У злаков главный аттрагирующий орган – колос, основными потребителями ассимилятов в котором являются зерновки. Рост и развитие отдельных частей колоса, таких как ости, чешуи, рахис, зерновка, происходит неравномерно и несинхронно. Очевидно, что формирование структурных элементов колоса и зерновок взаимосвязано, но, вместе с тем, осуществляется по-разному. В частности, эти части колоса могут использовать фотосинтаты, транспортируемые как из листьев, так и синтезированные в них самих, и по-разному их метаболизировать.

Растения ячменя *Hordeum vulgare L.* сорта «Варде», выращивали в открытом грунте мелкоделяночным способом. В фазы трубкования, колошения, молочной и молочно-восковой спелости изучали метаболизм углерода в разных частях колоса в режиме «pulse-chase» (экспозиция в <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> - 20 секунд). Образцы фиксировали через 20, 40 секунд, 1, 2, 5, 10, 20 минут.

В фазу трубкования, когда происходил рост структурных элементов колоса, включение <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> в сахарозу возрастало и при 10-минутной экспозиции достигало 48%, оставаясь далее на постоянном уровне. Противоположную динамику имело включение метки в ФГК и ФЭС. Их содержание снижалось с увеличением времени экспозиции после «глотка» с 25% до 6,7 %.

На стадии колошения в осях колоса метка включалась в сахарозу уже через 40 секунд после глотка. Ее содержание увеличивалось вплоть до 5-минутной экспозиции, затем оставалось постоянным на уровне 70%. В чешуях колоса при этом максимальный уровень включения метки в сахарозу был 55,6%. Содержание ФГК и ФЭС среди продуктов фотосинтеза в чешуях снижалось до 7,3%.

В фазу молочной спелости включение метки в ФГК и ФЭС в осях при малых экспозициях было в 1,8 раза больше, чем в чешуях, и через 20 минут эта тенденция сохранялась. В осях радиоактивность сахарозы также была выше, чем в чешуях колоса (70,8% и 48,2% соответственно).

Содержание <sup>14</sup>C-меченных аминокислот в осях на всех фазах онтогенеза колоса было меньше примерно в 3 раза, чем в чешуях. В опытах по «глотковой» кинетике со временем увеличивалось содержание аланина, серина, глицина, и аспартата.

На всех изученных стадиях образование сахарозы, как продукта фотосинтеза в осях колоса, было выше, чем в чешуях. Это свидетельствует о том, что в осях преимущественно осуществляется углеводная направленность фотосинтеза, в то время как в чешуях увеличена доля альтернативных путей фотосинтеза. Это согласуется с полученными ранее сведениями о том, что ости колоса в период налива зерновок могут поставлять в них собственные фотоассимиляты.

### **ПОВЫШЕНИЕ ХОЛОДОУСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUMAESTIVUM*L.) ПОД ДЕЙСТВИЕМ РЕГУЛЯТОРА РОСТА ЦИРКОН**

**Соловей Я.Н., Кучер Е.Н., Чмелёва С.И.**

ФГАУ ВО Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского, Симферополь, Россия

*yansolovey93@mail.ru*

В условиях Республики Крым одной из главных причин повреждения и гибели озимых является вымерзание растений. Повреждение растений, особенно на ранних фазах онтогенеза при низких температурах часто ослабляют их устойчивость к действию других факторов. В отдельные годы уничтожается до 70% посевов на больших площадях. Для ослабления отрицательных влияний низких температур в сельскохозяйственной практике используют различные приемы, в том числе, и обработка синтетическими регуляторами роста растений. К таким препаратам относят Циркон, созданный на основе гидроксикоричных кислот, выделенных из эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea* L.). Циркон разработан фирмой ННПП "НЭСТ М", зарегистрирован Госхимкомиссией и внесен в Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории РФ в 2001 году. По эффективности и экологической безопасности Циркон отвечает мировым стандартам. Целью проведенного нами исследования явилось изучение влияния препарата Циркон на рост и развитие озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L. CV /Трипольская/) на ранних этапах онтогенеза в различных температурных условиях. Отобранные по средним размерам и протравленные слабым раствором перманганата калия, семена замачивали в водных растворах препарата Циркон (0,025 мг/л, 0,05 мг/л, 0,1 мг/л и 0,2 мг/л) в течение 4 часов. Для изучения влияния препарата Циркон на устойчивость пшеницы к действию низких положительных температур растения выращивали в водной культуре при температуре от +22 до +24°C в течение 7 суток, далее помещали на 20 часов в холодильную камеру (t= +4°C), а затем возвращали в нормальные условия и выращивали в водной культуре при естественном освещении при температуре от +22 до +24°C в течение 21 суток. На 3-и и 7-е сутки определялась, соответственно, энергия прорастания и лабораторная всхожесть семян, а у 14-21-дневных растений устанавливалась величина морфометрических показателей (высота растений, длина корней, масса сырого и сухого вещества, площадь листовой поверхности) по общепринятым в физиологии растений методикам. В результате наших исследований было установлено, что Циркон повышает устойчивость пшеницы сорта Трипольская к действию низких положительных температур на ранних этапах онтогенеза. Использование препарата Циркон приводит к увеличению значений морфометрических показателей растений как в оптимальных температурных условиях (t=+22—+24°C), так и в условиях температурного стресса (t=+4°C). Наиболее выраженный стимулирующий эффект при различных температурных режимах выращивания оказывает концентрация раствора регулятора роста, равная 0,1 мг/л.

### **ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ АДАПТАЦИИ К СТРЕССОРАМ ЛЕТНЕГО ПЕРИОДА РАЗЛИЧНЫХ СОРТО-ПОДВОЙНЫХ КОМБИНАЦИЙ ВИНОГРАДА**

**Сундырева М.А.**

ФГБНУ Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства, Краснодар, Россия

*taurim2012@yandex.ru*

Большинство современных виноградников из-за повсеместного распространения филлоксеры в виноградарских районах мира возделываются в привитой культуре. Сорто-подвойная комбинация представляет собой два различных по биологии растения, объединенных в «химерный организм», внутри которого происходят специфические регуляторные, обменные процессы, результатом которых является адаптивность и продуктивность винограда. Резистентность растений к воздействию стрессоров предполагает перестройку обменных процессов, снижающих отрицательное действие повреждающих факторов. Нами было установлено, что регуляция устойчивости растений к потере воды листьями

происходит в течение всего вегетационного периода и в меньшей степени связана с протеканием отдельных фенологических фаз. У менее устойчивых сорто-подвойных комбинаций проявляется такая зависимость с содержанием пролина и аскорбиновой кислоты. Регуляция стабильности мембран при изменении условий среды происходит за счет накопления антиоксидантных метаболитов. Увеличение содержания пролина в листьях во второй половине вегетации характеризует его участие в процессах стабилизации мембран при более интенсивных стрессовых воздействиях. Зависимость накопления сахаров в соке ягод от большинства показателей проявляется в июле при начале созревания ягод. В августе выражена отрицательная корреляционная зависимость между сахаристостью сока ягод и устойчивостью к потере воды листьями и содержанием хлорофиллов, что подтверждает известный факт о разнонаправленности процессов продукции и адаптации. Положительное действие на сахаристость ягод оказывает содержание аскорбиновой кислоты в листьях, что свидетельствует о важности снижения уровня окислительного вторичного стресса у растений винограда в процессе формирования урожая. Усиление в течение вегетационного периода с июня по август доли влияния сорта и подвоя на физиолого-биохимические параметры, характеризующие устойчивость к стрессам, свидетельствует о большем включении генотипов сорта и подвоя в процессы адаптации при усилении стрессовой нагрузки. Генотип сорта определяет накопление  $Ca^{2+}$  и аскорбиновой кислоты, происходящее при повышении температуры, а подвой – пролина и сахарозы, связанных с формированием устойчивости к потере воды. Доли вклада сорта и подвоя в формирование сахаристости сока ягод приблизительно равны: сорт и подвой влияют на качественный показатель урожая на 32,51% и 32,68% соответственно.

Работа выполнена при поддержке РФФИ и Администрации Краснодарского края, проект № 13-04-96591 p\_юг\_a

### **ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ КУКУРУЗЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЦИНКА**

**Тафий М.Д., Вакерич М.М., Белчгази В.Й., Николайчук В.И.**  
Ужгородский Национальный Университет, Ужгород, Украина

*vanja\_tafij@mail.ru*

Наши исследования демонстрируют влияние растворов солей цинка разных концентраций на физиолого-биохимические реакции в девяти исследуемых гибридах кукурузы.

Кукуруза – одна из основных культур современного мирового земледелия. Это культура разностороннего использования и высокой урожайности. Кукурузу выращивают во всем мире – от тропических широт до Скандинавских стран.

Известно, что при влиянии раствора высокой концентрации соли цинка в растении останавливаются или замедляются процессы развития. В этом случае цинк действует, как тяжелый металл. А низкие концентрации стимулируют все ростовые процессы в растении. Выявлено, что тяжелые металлы при попадании в органы растения, особенно в листья, препятствуют биосинтезу в хлоропластах.

Цинк входит в состав центров активных ферментов, берет участие в синтезе хлорофилла. Симптомы нехватки цинка: хлороз на листьях, отмирание ткани, слабость корневой системы, тонкие стебли, нарушение роста всех органов растения.

Для изучения оптической густоты и коэффициента пропускания мы изготовляли спиртовые вытяжки всех исследуемых гибридов, выращенных на растворе нитрата цинка, сульфата цинка и хлорида цинка в концентрации 0,01%, 0,02%, 0,05%, 0,1%, и 1%. Потом мы вычислили количество хлорофилла в 50 миллилитров вытяжки.

С увеличением концентрации растворов мы наблюдаем снижение энергии роста всех исследуемых гибридов, а при использовании низких концентраций 0,01% и 0,02% улучшение показателей скорости роста. Согласно с результатами исследований, самые стойкие к действию тяжелых металлов гибриды кукурузы ДКС 5143, ДКС 4795, ДКС 4490, ДКС 3705, ДКС 3509, ДКС 2960, а также гибрид Евралис. Что касается гибридов Переяславский 230 СВ и Достаток 300 МВ – то они оказались чувствительными к малейшим колебаниям концентраций цинка. Также мы наблюдаем повышение засухоустойчивости, стойкости к грибковым и бактериальным болезням в растениях, обработанных низкоконцентрированным нитратом цинка растений. Прогнозируемый прирост урожайности от 5 до 30%.

### **ВЛИЯНИЕ БИКАРБОНАТА НА СКОРОСТЬ ФОТОФОСФОРИЛИРОВАНИЯ ТИЛАКОИДОВ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ**

**Федорчук Т.П., Опанасенко В.К., Борисова М.М., Ветюшкина Д.В., Иванов Б.Н.**  
ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пушкино

*fedor4uk.t@gmail.com*

В растительной клетке светозависимый протонный обмен энергетически обеспечивает фотофосфорилирование, формируя трансмембранный протонный градиент на тилакоидной мембране ( $\Delta pH$ ),

который в стационарных условиях конвертируется в химическую энергию АТФ, универсального источника энергии для многих биохимических процессов.

При изучении вклада бикарбонат-ионов в эффективность процесса образования АТФ как изолированными тилакоидами гороха, так и тилакоидами арабидопсиса было показано, что увеличение содержания бикарбоната в среде реакции стимулировало скорость фотофосфорилирования, но только в тех тилакоидах, в которых эта функция была частично нарушена либо в процессе их «старения», либо путем добавления в среду реакции разбавителя ( $\text{NH}_4^+$ ) в «нелетальных» концентрациях. На основании полученных данных, можно предположить, что бикарбонат является универсальным протектирующим агентом, сохраняющим способность тилакоидной мембраны генерировать  $\Delta\text{pH}$ , и тем самым обеспечивать максимально возможный синтез АТФ даже в неблагоприятных условиях.

При непродолжительной (в течение 2 мин) инкубации тилакоидов с экзогенно добавленным бикарбонатом в присутствии ингибиторов карбоангидраз - гидрофильного ацетазоламида или липофильного этоксизоламида, стимуляции скорости фотофосфорилирования не наблюдалась, что может свидетельствовать об участии карбоангидразы, фермента, катализирующего обратимую дегидратацию бикарбоната, в этом процессе. Согласно результатам анализа генома арабидопсиса в хлоропластах обнаружено не менее шести представителей данной группы ферментов, но понимание их функций сводится пока только к гипотезам и предположениям. И, вероятней всего, что функция, по крайней мере, одной из них, состоит в направленном повышении отдачи протонов от бикарбонатного буфера к выделенным путям их подачи АТФ-синтетазным комплексам.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №15-04-03883.

### **ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРА РОСТА РАСТЕНИЙ ЭПИН-ЭКСТРА НА РОСТ И РАЗВИТИЕ ЯЧМЕНЯ**

**Фурсова А.И., Шплихалова А.В., Кучер Е.Н., Чмелева С.И.**

ФГАУ ВО Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского, Симферополь, Россия

*fursova.alenka@yandex.ru*

К современным способам решения проблемы зависимости количественных и качественных характеристик урожая сельскохозяйственных культур от воздействия неблагоприятных погодных условий относится применение регуляторов роста и развития растений. Эпин-экстра - экологически чистый и безопасный для человека и животных комплексный биологически активный препарат. Действующим веществом в нем служит 24-эпибрассинолид, который, активизируя фитогормоны, усиливает их физиологическое действие и способствует повышению устойчивости растений.

В сельском хозяйстве Республики Крым ячмень – одна из наиболее широко возделываемых зерновых культур. Однако, на ранних этапах онтогенеза этот злак в значительной степени чувствителен к перепадам температуры и недостатку влаги.

В связи с вышесказанным, целью нашей работы явилось изучение влияния препарата Эпин-экстра на рост и развитие ячменя сорта Гелиос УА (*Hordeum vulgare* L. CV 'Гелиос УА). Подготовленные семена замачивали в растворах регулятора роста различной концентрации на 4, 8 и 12 часов. Применяли предпосевную обработку растворами препарата в концентрациях: 0,075; 0,05; 0,025 и 0,013 мг/л. Контролем служили семена, предварительно замоченные в отстоянной водопроводной воде. Семена проращивали в термостате типа ТС-80М-2 в темноте при температуре +20°C. Энергия прорастания и всхожесть семян определялись согласно ГОСТ 12038-84. Растения выращивали на водной культуре (среда Кнопа) в вегетационных сосудах емкостью 1 л при естественном освещении и температуре +24 – +25°C. Все морфометрические измерения проводили по общепринятым в физиологии растений методикам в динамике на 7-е, 14-е и 21-е сутки. Определялись линейные размеры побега и корневой системы, площадь листовой поверхности.

Установлено, что предпосевное замачивание семян в растворах Эпин-экстра повышало как энергию прорастания, так и лабораторную всхожесть ячменя сорта Гелиос УА, а также оказывало стимулирующее действие на рост и развитие растений на ранних этапах онтогенеза. Наиболее эффективной по влиянию на изучаемые показатели является предпосевная обработка раствором препарата концентрацией 0,025 мг/л в течение 4 часов. Энергия прорастания под действием препарата увеличилась по сравнению с контролем на 16%, а всхожесть – на 25%. Длина корневой системы опытных растений на 7, 14, 21 сутки превышала контрольные на 36%, 23%, 28,8% соответственно, а высота побега – на 6%, 22,3%, 10,3%. Площадь листовой поверхности увеличилась на 14-е сутки на 23,4%, а на 21 – на 14%.

## ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПЕРСПЕКТИВНЫХ СОРТОВ СОИ

**Сафаров А.К., Хаккулова Н.Б.**

Национальный университет Узбекистана имени М. Улугбека, Ташкент, Узбекистан

*khakkulova@inbox.ru*

В последние годы сотрудниками Института генофонда растительного и животного мира АН РУз, Хорезмской академии Маъмуна, Национального университета Узбекистана, Каракалпакского государственного университета проводятся исследования эколого-биологических и физиолого-биохимических особенностей сои в различных почвенно-климатических условиях Южного Приаралья.

Известно, что бобовые культуры обладают рядом преимуществ по сравнению с другими растениями: они образуют больше белка на единице площади, качество и усвояемость его выше, они дают самый дешевый белок, фиксируя атмосферный азот, недоступный для других растений. При этом повышается плодородие почвы.

На основе проведенных исследований изученные сорта сои различаются по темпам роста и развития, а также продолжительности вегетации. Выявлены различия биохимического состава и урожайности семян изученных сортов сои. Показано, что темпы роста и развития изученных сортов сои изменяются в зависимости от генотипа и условий возделывания. Период вегетации раннеспелых сортов сои Орзу и Генетик составил 85-90 дней, среднеспелых сортов (Узбекская-2, Дустлик) – 110-120 дней, позднеспелого сорта Узбекская-6 – 130-135 дней. Семенная продуктивность сорта сои Орзу составила 20,1-22,2 ц/га, сорта Узбекская-2 – 21,5-24,3 ц/га, сорта Дустлик – 20,7-24,6 ц/га, сорта Узбекская-6 – 19,6-24,6 ц/га. Биохимический состав соевых семян в зависимости от сортовых особенностей и условий произрастания также существенно различается. Содержание сырого протеина варьирует в пределах 38,8–43,8%, сырого жира 20,1–28,6%, сырой клетчатки 4,9–6,8%, сырой золы 5,4–6,3%, БЭВ – 25,9–30,8%. Изучено влияние температуры на всхожесть семян сои. Семена сохраняют свою всхожесть 5-6 лет.

В условиях резко континентального климата Южного Приаралья и ограниченности поливного гектара крайне важно рациональное использование посевных площадей. В этой связи для успешного внедрения в сельскохозяйственное производство перспективных новых и нетрадиционных растений, в том числе и бобовых культур, необходимо всестороннее изучение и подбор интродуцентов, наиболее приспособленных к местным почвенно-климатическим условиям, создание семенного фонда интродуцентов, разработка элементов зональной агротехники их возделывания, разработка современных технологий переработки биомассы интродуцентов и рационального пути их использования, создание коллекционных участков и пополнение генофонда перспективных растений.

## ВЛИЯНИЕ $\gamma$ -ИЗЛУЧЕНИЯ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ

**Чурюкин Р.С., Волкова П.Ю., Казакова Е.А., Гераськин С.А.**

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, Обнинск, Россия

*r.churyukin@mail.ru*

В настоящее время вопрос о механизмах формирования эффекта радиационного гормезиса остается открытым, что определяет актуальность изучения феномена и его модификации условиями проведения эксперимента. Объект исследований: яровой ячмень. Облучение семян проводили на установке «ГУР 120» ( $^{60}\text{Co}$ ) (ВНИИРАЭ, Обнинск). Исследование зависимости доза–эффект (2, 4, 6, 8, 10, 13, 16, 20, 25 и 50 Гр) по показателям длина корня и длина ростка было выполнено в трех независимых экспериментах на двух сортах ячменя (Нур и Грейс). Качественный характер кривых по обоим тестируемым показателям полностью воспроизвелся в трех независимых экспериментах на двух сортах ячменя, а максимальное проявление эффекта гормезиса во всех этих случаях наблюдалось при облучении в дозе 20 Гр. Обнаруженное нами увеличение размеров корня и ростка при облучении в стимулирующих дозах происходит за счет увеличения темпов развития, а не более раннего прорастания. Одно из возможных объяснений данного явления связано с увеличением активности ферментов в проростках (8, 10, 13, 16, 20 и 50 Гр). Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, статистически значимо увеличивает активность при дозах 16 и 20 Гр на 3-й день проращивания. Активность пируваткиназы максимальна на 3-й день после облучения и не зависит от дозы облучения. Активность гваяколовой пероксидазы на 3-й день проращивания статистически значимо возрастает с дозой облучения. На 5-й день проращивания зависимость активности пероксидазы от дозы отсутствует. Активность каталазы не демонстрирует зависимости от дозы на 3-ий, 5-ый и 7-ой дни проращивания облученных семян, и характеризуется широким разбросом значений. Была проведена оценка роста и развития растений, выросших из облученных семян ячменя, в условиях полевого эксперимента (8, 16, 20 и 50 Гр). Отмечается сокращение фазы «всходы» у семян, облученных дозой 16, 20 и 50 Гр. За счет этого преимущества у растений наблюдалось более раннее наступление фаз «кущение» и «выход в трубку». Однако фаза колошения у всех облученных семян наступила одновременно. Полная спелость наступала на 7

и 5 суток раньше при дозах 16 и 20 Гр. Отмечено увеличение урожая до 30% при облучении семян дозами 8, 16 и 20 Гр за счет увеличения числа продуктивных стеблей и увеличения массы зерна. Все исследованные нами биохимические показатели состава зерна и соломы находятся в пределах нормы. Аппроксимация данных моделями «Brain-Cousens» и «Cedergreen-Ritz-Streibig» в среде математического программирования «R», показала, что результаты экспериментов статистически значимо лучше описываются моделями, учитывающими эффект гормезиса.

### МЕТАБОЛОМНОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ У СРЕДНЕВОЛОКНИСТЫХ СОРТОВ ХЛОПЧАТНИКА ВИДА *GOSSYPIUM HIRSUTUM L* ПРИ ВОДНОМ ДЕФИЦИТЕ

**Шавкиев Ж.Ш., Бозоров Т.А., Набиев С.М., Хамдуллаев Ш.А., Усманов Р.М.**

Институт Генетики и Экспериментальной биологии растений Академии наук Республики Узбекистан,  
Ташкент, Узбекистан

*jaloliddin.1992@mail.ru*

Абиотические стрессы, в том числе засуха, отрицательно влияют на объем и качество получаемой сельскохозяйственной продукции. Для засушливых регионов выявление адаптивных к засухе сортов сельскохозяйственных культур является очень важной и наиболее актуальной проблемой генетики и селекции этих культур.

Скрининг с использованием аналитико-химических методов остается мало используемым и плохо изученным подходом селекции. Метаболомика - как новое направление, основанное на качественном и количественном анализе метаболитов, используется для выявления изменений на разных этапах развития растительного организма или изменений в профиле метаболитов при воздействии факторов окружающей среды. В наших исследованиях были использованы два сорта средневолкнистого хлопчатника - Ишонч и Ташкент-6, которые были выращены с применением следующих схем орошения: 1-2-1, которая общепринята для современных сортов хлопчатника (контроль), создание водного дефицита по схемам орошения 1-1-0, 1-0-0 и без орошения в вегетационный период растений, т.е. проведением только подпитывающего полива сразу после посева семян. Для метаболомного анализа были собраны верхние листья растений, которые были опущены в жидкий азот. Собранный материал был гомогенизирован. Затем были выделены общие метаболиты с использованием ацетатного буфера. Для проведения количественного и качественного анализа был использован Agilent Quadropole LC-MS. Первичные данные были обработаны посредством R-программы с использованием скрипта XCMS, которая показала наличие более 340 метаболитных ионов. Далее был проведен статистический анализ нецелевых метаболомных данных на первично-обработанных цифровых данных. Из-за большой вариации 75%-ных перцентиль, для их нормализации, они были отшкалированы по шкале Парето и была проведена логарифмическая трансформация. Нормализованные данные были подвергнуты различным мультивариационным анализам, таким как, анализ главных компонент (АГК), группирование или кластеризование, группирование с использованием дендрограмм. Анализ АГК показал, что профиль метаболитов у сорта Ишонч значительно различался с появлением новых метаболитов при выращивании в условиях водного дефицита, а у сорта Ташкент-6 не наблюдалось профильное разделение. Это указывает, что сорт Ишонч является засухоустойчивым, чем сорт Ташкент-6. Для дальнейшего анализа нами продолжается определение метаболитов, играющих роль в засухоустойчивости растений.

### ИССЛЕДОВАНИЕ КОНФИГУРАЦИИ КАРОТИНОИДОВ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ОТД. *PINOPHYTA* И ОТД. *MAGNOLIOPHYTA* С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА РАМАНОВСКОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

**Шаланов В.В., Порочкин А.В., Шаповалова А.С., Степанова В.А.**

ФГАОУ ВО Самарский национальный исследовательский университет имени Академика С.П. Королёва,  
Самара, Россия

*shalanov95@ya.ru*

Изучение качественного состава каротиноидов в тканях листьев *Picea pungens Engelm*, *Betula pendula Roth*, *Convallaria majalis L.* с помощью спектроскопии комбинационного рассеивания света для исследования конфигурационных различий молекул пигментов. В зависимости от физиологических особенностей растений тех или иных систематических групп и их эволюционных различий, а также от экологических факторов, конфигурация молекул каротиноидов растений может значительно отличаться.

Объектом исследования являются листья. Для исследования конфигурационных изменений молекул пигментов использовался метод спектроскопии комбинационного рассеяния света, конфигурация молекулы каротина анализировалась по полосам спектра КРС:  $960\text{см}^{-1}$ ,  $1004\text{см}^{-1}$ ,  $1153\text{см}^{-1}$ ,  $1188\text{см}^{-1}$  и  $1520\text{см}^{-1}$ .

Измерив средние значения девяти измерений интенсивности излучения в каждом из пиков:  $\nu_1$  ( $960\text{см}^{-1}$ ),  $\nu_2$  ( $1004\text{см}^{-1}$ ),  $\nu_3$  ( $1156\text{см}^{-1}$ ),  $\nu_4$  ( $1188\text{см}^{-1}$ ),  $\nu_5$  ( $1520\text{см}^{-1}$ ), посчитав соотношения  $I_{1520}/I_{1153}$ ,  $I_{960}/I_{1004}$ ,

$I_{1004}/I_{1153}$  и  $I_{1004}/I_{1520}$ , нами в образцах выявлено различие в их величинах. Молекулы в образцах листьев более сжатые, в них увеличено количество двойных связей по сравнению с представителями Цветковых, это показывает соотношения  $I_{1520}/I_{1153}$ . Более растянуты молекулы каротиноидов у *Betula pendula*. Кроме того, молекулы каротиноидов образцов листьев *Betula pendula* и *Convallaria majalis* имеют несколько плоскую конформацию, чем каротиноиды листьев *Picea pungens* (соотношение  $I_{960}/I_{1004}$ ). Вклад валентных колебаний С–С метильного радикала по отношению к валентным колебаниям –С=С–связей более выражен в образцах *Betula pendula* и наименее выражен в образцах листьев *Picea pungens* (соотношения  $I_{1004}/I_{1153}$  и  $I_{1004}/I_{1520}$ ).

Сравнение спектров показало различия в конфигурации молекул каротиноидов листьев всех образцов. Значительно сильнее сжаты молекулы каротиноидов в *Picea pungens* по сравнению с *Betula pendula* и *Convallaria majalis*, у Цветковых более выражен вклад радикала в колебания углеродной цепи, выраженнее этот показатель у *Betula pendula*. Возможно, это связано с сильными эволюционными и физиологическими различиями видов *m. Pinophyta* и *m. Magnoliophyta*, чем различия между представителями классов Однодольных (*Convallaria majalis*) и Двудольных (*Betula pendula*), принадлежащих к одному типу.

### ДЕЙСТВИЕ ТРЕГАЛОЗЫ НА ПЕРЕНОС ЭЛЕКТРОНА В ПРЕПАРАТАХ ФС2

Яныкин Д.В.<sup>1</sup>, Хоробрых А.А.<sup>1,2</sup>, Мамедов М.Д.<sup>2</sup>, Климов В.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО МГУ имени М.В. Ломоносова, Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Москва, Россия

ya-d-ozh@rambler.ru

При добавлении 1 М трегалозы к препаратам ФС2 с разрушенным водоокисляющим комплексом выявлено двукратное увеличение фотопоглощения  $O_2$  как на акцепторной, так и на донорной стороне ФС2. Показано двукратное трегалозо-индуцированное увеличение скорости фотообразования супероксидного анион-радикала на акцепторной стороне ФС2. С использованием метода измерения "переменной" флуоресценции хлорофилла (ДФ) показано, что в присутствии трегалозы наблюдается (i) значительное повышение способности экзогенного  $Mn^{2+}$  донировать электрон на реакционный центр ФС2, (ii) замедление фотонакопления первичного хинонового акцептора электрона ФС2 ( $Q_A^-$ ) в аэробных условиях, (iii) ускорение реокисления  $Q_A^-$  с помощью QB ( $Q_B^-$ ), а также замены  $Q_B^{2-}$  на полностью окисленный пластохинон (PQ) и (iv) восстановление электронного транспорта между хиноновыми переносчиками электрона в так называемых "закрытых РЦ ФС2" (содержание которых в апо-ВОК-ФС2 составляет 41%). Предположено, что индуцируемое трегалозой увеличение эффективности взаимодействия  $O_2$  как с акцепторной, так и с донорной стороной апо-ВОК-ФС2 обусловлено структурными изменениями, приводящими к понижению доли "закрытых РЦ ФС2" и повышению скорости переноса электрона в ФС2.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ 16-34-60023 мол\_а\_дк, гранта РФФИ и Московской области в рамках научного проекта «14-44-03680 р\_центр\_а» и грантом Президента Российской Федерации МК-3890.2015.4.



## **СЕКЦИЯ «ЭКОЛОГИЯ»**

### **ENERGY AND WATER RESOURCES OF A SEASONAL TROPICAL FOREST**

**Kuricheva O.<sup>1,2</sup>, Avilov V.<sup>1,2</sup>, Dinh Ba Duy<sup>3</sup>, Kurbatova J.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, RAS, Moscow, Russia; <sup>2</sup>Joint Russian – Vietnamese Tropical Research and Test Center, Southern Branch, Ho Chi Minh City, Vietnam; <sup>3</sup>Institute of Tropical Ecology/Head Office, Joint Russian – Vietnamese Tropical Research and Test Center, Hanoi, Vietnam

*olga.alek.de@gmail.com*

The ecosystems of equatorial latitudes are known to receive great amount of both energy and water. Generally, with shift from the equator to the tropics the annual water input to ecosystems drops (prolonged dry season), but the energy input increases. In the tropics decrease in solar radiation usually is accompanied by rise in cloudiness and precipitation, so energy and water resources change inversely.

We studied energy and mass exchange in the seasonally dry tropical forest of Southern Vietnam, Cat Tien national park (11°27'N, 107°24'E, 140 m a.s.l.), in 2012-2014, using eddy covariance technique in accordance with methodology of world-wide FLUXNET network. When compared with other FLUXNET sites in tropics, including rainforests, Cat Tien forest had both high radiation balance (annually about 4800 MJ per square meter) and high precipitation input (annually about 2600 mm). How was this possible?

Using 30-min automatic measurements, we found the clear diurnal pattern of rainfall in Cat Tien throughout a year: about half of the 24-hours rain total fell from 16:30 to 20:30, in the evening (sunset at 11°N occurs in 17:30-18:30). Usually in wet tropics (for example, in central Amazonia) rain falls predominantly in the postmeridian time. Probably this shift of rainfall in Cat Tien to the evening is connected with the influence of the ocean on the climate of the region. Due to the shifted peak of cloudiness to the evening forest receives more solar radiation in daytime. Cat Tien showed very high radiation balance totals in wet season, so the forest received not only abundant precipitation, but also enough energy.

Relatively high annual precipitation sums in Cat Tien are caused by local orographic factors: the territory of the park lifts north-eastward, to Central Vietnam Highlands. Monsoon wet air masses, moving from south-west, impinge the hills that border the forest massive and give additional rains to the ecosystem. It's a known effect that the places with the maximal precipitation on the Earth are located in tropical monsoon climate (like in Cat Tien), where wet monsoon air masses strike the appropriate relief.

In conclusion, ecosystems which receive the greatest on Earth resources of both water and energy, have to be found: a) in tropical monsoon climate, b) before the orographic barriers for wet monsoon air masses and c) in places with night-time peak of cloudiness and rainfall.

This study was funded by Russian Science Foundation Project №14–27–00065.

### **INVASIVE TERRESTRIAL SNAIL *STENOMPHALIA RAVERGIERY* (MOLLUSCA, GASTROPODA, PULMONATA): ESTIMATION OF DEMOGRAPHIC AND MORPHOLOGICAL PARAMETERS OF POPULATION IN BELGOROD**

**Adamova V.V.**

FSAEI HPE Belgorod National Research University, Belgorod, Russian Federation

*500838@bsu.edu.ru*

In the last ten years the Caucasian species of the land snail *Stenomphalia ravergiery* (Ferussac, 1821) has been spreading throughout the south of the Central Russian Upland. Our study estimates the current status of the population of *St. ravergiery* in anthropogenic landscapes the south of the Central Russian Upland. Data were collected from isolated 7 plots in Belgorod; sampling took place during summer 2015. Each plot consisted of quadrats (1m×1m) where we estimated the population density and age structure. In each group 100 adult snails were collected for the shell biometric analysis.

We found that the population was established by different age groups and had a high level of density (5-58 of individuals per square meter), this result showed that the invasion process has positive trends. To test differences between studied snail colonies we used analysis of variance (ANOVA) of standard shell biometric parameters, that demonstrated a significant difference between all groups in every conchological parameter.

It should be noted that the samples with the largest shells (height: 10,81±0,09 mm; width: 14,24±0,08 mm) were found in arid habitats with chalk outcrops. Moreover, the highest index of shell volume/aperture square (24,10) was registered here. Snails with smaller shell sizes (height: 9,71±0,06 mm; width: 12,60±0,06 mm) were more commonly in humid habitats. This fact supports hypothesis about the selective advantage of forms which have large shells with small aperture among xerophilic and xero-mesophilic species of terrestrial mollusks. In arid habitats these morphological parameters allow to collect and store water in the body. However, this rule is not absolute for alien population of *St. ravergiery*: despite moisture gradient of the some plots, samples had the same conchological

parameters. This phenomenon may be caused by differences in the age of snail colonies, so in groups formed recently we are observing the formation of phenotypes which are response to habitat conditions.

Our study provides the successful colonization of anthropogenic landscapes in the south of the Central Russian Upland by *St. ravergiery*. High level of population density and prevalence of juveniles in the age structure allow to predict further expansion of this alien species in the present territory. Variability of morphometric shell parameters from different habitats may indicate a wide ecological valence of the invasive species, which may influence to the successful introduction of *St. ravergiery*.

### **РОЛЬ КОРООТВАЛОВ В СОХРАНЕНИИ ЧИСЛЕННОСТИ ОХРАНЯЕМОГО ВИДА ЖУКА - НОСОРОГА**

**Аканаева А.Н.**

ФГБОУ ВПО Поволжский государственный технологический университет, Йошкар-Ола, Россия

*anya.akanaeva@mail.ru*

К числу современных глобальных процессов наряду с ростом численности населения и изменениям климата относится и сокращение биоразнообразия. Сохранение всего разнообразия живой природы необходимо осуществлять не только в особо охраняемых природных территориях, но и там, где природные местообитания претерпели значительные изменения в результате деятельности человека. Одним из составляющих успеха решения проблемы сохранения видового разнообразия является поиск мест естественного восстановления численности редких животных и осуществление мероприятий по созданию условий естественного возобновления.

Жук - носорог - редкий вид, занесенный в Красную книгу многих регионах Российской Федерации. На территории г. Волжска на пустырях имеются короотвалы, где коросодержащие отходы разлагаются естественным путем. Они могут служить местом естественного размножения охраняемого вида - жука-носорога. Целью исследования стало изучение численности и биомассы жука-носорога на территории короотвалов г. Волжска и разработка рекомендаций по восстановлению данного охраняемого вида.

Были определены следующие задачи исследования:

1. Изучить короотвалы города Волжска и определить вероятность использования их как место естественного восстановления численности жука - носорога;

2. Изучить численность и среднюю биомассу личинок и взрослых особей жука-носорога на короотвалах города Волжска;

3. Разработать рекомендаций восстановлению данного охраняемого вида.

Исследования проводились на территории короотвала в микрорайоне «Северный» города Волжска, республики Марий Эл, при этом оценивалась численность и биомасса личинок и взрослых особей жука-носорога. Оценка численности и биомассы производилась методом количественного сбора, в прикопках 50\*50 см, глубина прикопки зависела от толщины слоя коросодержащих отходов и составляла от 20 до 45 см.

При изучении численности и биомассы жука-носорога на территории короотвала нами были встречены только личинки жука в возрасте от 1 до 3 лет.

Средняя биомасса личинок жука-носорога на короотвале микрорайона «Северный» составила 48,32 г/м<sup>2</sup>, средняя численность - 6 экз./м<sup>2</sup>.

В результате исследований были сделаны следующие выводы:

- На территории города Волжска обнаружено место размножения охраняемого вида жука-носорога - короотвал в микрорайоне «Северный».

- Средняя биомасса личинок жука-носорога на короотвале микрорайона «Северный» составила 48,32 г/м<sup>2</sup>, средняя численность - 6 экз./м<sup>2</sup>.

- Короотвалы можно использовать в качестве мест естественного размножения редкого вида жука-носорога для восстановления его численности.

### **МИКРОФРАГМЕНТЫ ДРЕВЕСНОЙ РАСТИТЕЛЬНОСТИ КАК МЕСТООБИТАНИЯ НАПОЧВЕННЫХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ В ГОРОДЕ**

**Алексанов В.В., Галемина И.Е.**

Государственное бюджетное учреждение дополнительного образования Калужской области «Областной эколого-биологический центр», Калуга, Россия

*victor\_alex@list.ru*

При помощи ловушек Барбера в апреле - октябре 2015 г. проведены учеты беспозвоночных в трех фрагментах древесной растительности на сельскохозяйственном участке в центре города Калуги (N54°30'30" E36°15'50"): 1) яблоневый сад с обрабатываемой почвой и скашиванием травы, 2) полоса клена ясенелистного и сирени вдоль границы, 3) дендрарий с различными видами широколиственных и

мелколиственных деревьев Калужской области, с обильным возобновлением клена остролистного. Площадь каждого фрагмента 300-400 м<sup>2</sup>.

Состав напочвенных беспозвоночных в целом типичен для зоны смешанных и широколиственных лесов, 56% численного обилия составляют насекомые, среди которых преобладают имаго жуков (58%). Обилие большинства таксонов оказалось максимальным в дендрарии и минимальным в саду. Так распределены пауки, сенокосцы, мокрицы, землянки *Geophilomorpha*, клопы *Lygaeidae*, имаго и личинки жуков *Staphylinidae*, имаго долгоносиков. В саду были наиболее многочисленны муравьи, имаго жуков *Catopidae*, личинки *Silphidae*. К полосе деревьев была приурочена наивысшая уловистость двупарноногих многоножек *Diplopoda*, личинок и имаго жужелиц *Sarabidae*. Уховертки были равно многочисленны в саду и полосе деревьев, малочисленны в дендрарии. Представлены одним видом *Forficula auricularia*. Весной – в начале лета пик активности уховерток за счет нимф младших возрастов приходится на полосу деревьев, а в середине лета нимфы старших возрастов и имаго более многочисленны в саду.

Среди мокриц аборигенный вид *Trachelipus rathkii* был наиболее многочислен в дендрарии и малочислен в саду, а адвентивный вид *Hyloniscus riparius* тяготел к полосе деревьев. В распределении *T. rathkii* наблюдаются сезонные различия: в саду пик активности пришелся на середину лета, когда в дендрарии был спад активности; а осенью уловистость мокрицы наиболее высока в полосе деревьев. Среди жужелиц к дендрарию приурочен *Platynus assimilis*, к саду – *Asaphidion flavipes* и *Brosicus cephalotes*, к полосе деревьев – *Pterostichus melanarius*.

По сравнению с 2007 и 2011 гг. для большинства таксонов относительный вклад сада в уловистость снизился, а дендрария – возрос. Это можно связать с интенсификацией хозяйственной деятельности в саду и сукцессионными процессами в дендрарии. Для *F. auricularia* и *A. flavipes* относительный вклад сада возрос.

Полученные результаты подтверждают повышенную природоохранную ценность дендрария как фрагмента, воспроизводящего особенности лесов Калужской области. В то же время результаты не позволяют полностью опровергнуть значение двух других типов местообитаний для сохранения беспозвоночных в городской среде.

#### ЯДОВИТЫЕ ГРИБЫ ЗАПОВЕДНИКА «КАЛУЖСКИЕ ЗАСЕКИ»

Алексеев А.С.

ФГБОУ ВПО Калужский государственный университет им. К.Э. Циолковского, Калуга, Россия

*alexei.alex1997@yandex.ru*

В заповеднике «Калужские засеки» в 2014-2015 гг. с апреля по ноябрь проведены повторные учеты ядовитых грибов на постоянных учетных площадках (15x100м<sup>2</sup>) и маршрутах. Выявленные 32 вида (в 2005-2008гг. - 26 видов), с содержанием токсинов в плодовых телах отнесены к 6 группам. 1) Высокотоксичные, поражающие внутренние органы с резко выраженным плазмолитическим эффектом: бледная поганка (*Amanita phalloides*), мухомор весенний (*A. virosa*), строчок обыкновенный (*Gyromitra esculenta*), мицена чистая (*Mycena pura*). 2) Виды, содержащие яды нейотропного и психотропного действия: мухоморы красный (*Amanita muscaria*), порфиновый (*A. porphyria*), поганковидный (*A. citrina*), пантерный (*A. pantherina*), говорушка беловатая (*Clitocybe dealbata*), лепиоты гребенчатая (*Lepiota cristata*) и острочешуйчатая (*L. acutesquamosa*), говорушка восковатая (*Clitocybe cerussata*), волоконницы Патуйяра (*Inocybe erubescens*), земляная (*I. geophylla*), Келе (*I. queletii*) и надорванная (*I. lacera*). 3) Поражающие желудочно-кишечный тракт: шампиньон желтокожий (*Agaricus xanthoderma*), гифоломы серно-желтая (*Hypholoma fasciculare*) и кирпично-красная (*H. sublateritium*), волоконница трещиноватая (*Inocybe rimosa*). 4) Изменяющие состав крови: свинушка тонкая (*Paxillus involutus*), сбор и продажа которой в России запрещены санитарными правилами заготовки грибов (1993). 5) Виды, проявляющие токсичность при совмещении с этанолом, которые нельзя считать безусловно ядовитыми: чешуйчатка обыкновенная (*Pholiota squarosa*), навозники чернильно-серый (*Coprinus atramentarius*), пепельно-серый (*C. cinereus*) и мерцающий (*C. micaceus*), дубовик оливково-бурый (*Boletus luridus*), говорушка булабовидная (*Clitocybe clavipes*). 6) Возможно ядовитые, механизм действия токсинов которых до конца не выяснен: рядовки бело-коричневая (*Tricholoma albobrunneum*) и серная (*T. sulphureum*), энтоломы весенняя (*Entoloma venum*) и шелковистая (*E. sericeum*), млечник серо-розовый (*Lactarius helvus*).

## ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ ВЫБРОСОВ АВТОТРАНСПОРТА НА ВОЗДУШНУЮ СРЕДУ ГОРОДА С ПОМОЩЬЮ АНАЛИЗА СНЕЖНОГО ПОКРОВА

Арефьева А.А.<sup>1</sup>, Панченко А.А.<sup>2</sup>, Курамшина З.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Стерлитамакский филиал ФГБОУ ВО Башкирский государственный университет, Стерлитамак, Россия;

<sup>2</sup>Стерлитамакское территориальное управление Министерства природопользования и экологии Республики Башкортостан, Россия

*arefyeva.anastasia.1993@yandex.ru*

Основным источником загрязнения атмосферного воздуха в городах является автотранспорт. Ежегодно уровень вредного воздействия транспортных средств (ТС) на здоровье человека и окружающую среду в целом существенно возрастает. Поэтому представляется актуальным мониторинг воздушного бассейна в городах с целью выработки мероприятий по снижению этого негативного воздействия. Одним из самых доступных методов оценки состояния атмосферного воздуха является мониторинг снежного покрова.

Целью работы явилась оценка воздействия выбросов автотранспорта на воздушную среду г. Стерлитамак республики Башкортостан.

В зимний период 2015 г. было отобрано 34 пробы снега на участках с наиболее интенсивным движением ТС. Фоновыми точками были выбраны участки в 10 и 40 км от города Стерлитамак, т.к. эти участки испытывали минимальное антропогенное воздействие. Оценка степени загрязнения снежной пробы проводили путем определения его токсичности с помощью биотестирования на тест-объектах: *Lepidium sativum* L. и *Daphnia magna* Straus. Семена кресс-салата стерилизовали 70%-ным этанолом и выращивали в чашках Петри при 25 °С. На 14-е сутки подсчитывали количество проросших семян и измеряли длину и массу растений. При биотестировании на дафниях определяли их смертность при воздействии токсических веществ за 96 ч. Эксперименты проводили в трех биологических повторностях.

В ходе исследований установлено, что наиболее сильное токсическое действие на тест-объекты оказывал снег, отобранный вдоль автодорог с наибольшей интенсивностью движения ТС. Так, количество проросших семян кресс-салата, показатели массы и длины проростков в пробах с талым снегом, отобранным на перекрестках, на участках с интенсивным движением ТС и в непосредственной близости от автодороги, в среднем были ниже по сравнению с фоновыми пробами на 20, 19 и 31%, соответственно. В то же время для проб, взятых на участках кольцевых пересечений автодорог, на дорогах с малой интенсивностью движения и на некотором удалении от проезжей части, данные показатели были снижены относительно фона только на 4, 3 и 6%, соответственно.

Биотестирование на дафниях подтвердило полученные данные. В пробах снега, отобранных на перекрестках, на участках с интенсивным движением и вблизи от дорог, количество дафний в среднем было ниже на 81% по сравнению с фоном. Количество дафний в пробах, взятых на участках кольцевых пересечений автодорог, на участках с небольшой интенсивностью автотранспорта и в отдалении от дорог, снижено только на 18%.

## ИССЛЕДОВАНИЕ СОРБЦИОННЫХ СВОЙСТВ ЛИГНОСУЛЬФОНАТА

Ахлиманова А.С., Хитрин С.В.

ФГБОУ ВО Вятский государственный университет, Киров, Россия

*annaakhlimanova@gmail.com*

За длительный период эволюции природой создана многокомпонентная полимерная система – древесина, представляющая собой наиболее масштабное естественно возобновляемое сырье и источник химических компонентов широкого спектра назначения. Из древесины в процессах сульфатной или сульфитной варок получают целлюлозу и крупнотоннажный отход – лигнин. При сульфитной варке древесины лигнин претерпевает структурные изменения: разрыв лабильных связей, замещение гидроксильных групп на сульфогруппы – в результате, в качестве вторичного продукта, получается лигносульфонат.

В промышленности лигносульфонаты получили широкое применение в качестве связующих и добавок в строительные материалы, реагентов для регулирования параметров буровых растворов, диспергаторов и ингибиторов отложений накипи и загрязняющих частиц в водообработке, агентов для нейтрализации биоцидов и др.

Объект исследования – лигносульфонат ЦБК г.Коряжмы (Архангельская область). Были проведены работы по стабилизации лигносульфоната с применением физических и химических методов.

Предположили, что лигносульфонат может быть использован в качестве адсорбента для очистки сточных вод зверохозяйственных и химических предприятий Кировской области. Нередко сточные воды предприятий после очистных сооружений имеют значения параметров загрязняющих веществ,

превышающие ПДК. В качестве дополнительного способа очистки рассматривается адсорбционная очистка лигносульфонатом от тяжелых металлов, металлов VIII-группы, азот-, серо-, хлорсодержащих ионов.

Анализ модельных смесей показал, что полученные на основе лигносульфоната сорбенты позволяют сорбировать до 30% загрязняющих веществ.

Актуальность работы заключается в том, что в результате ежегодного увеличения количества отходов, требуется разработка новых технологий, направленных на получение новых материалов с высокой адсорбционной способностью и регенерацией без потери сорбционной активности, с безопасными токсикологическими свойствами и низкими экономическими затратами.

Успешное использование лигносульфоната в качестве сорбента позволит повысить утилизацию отхода ЦБК, а также снизить выбросы загрязняющих веществ в стоках предприятий.

## **БРИОМОНИТОРИНГ СОСТОЯНИЯ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА В ТУЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ**

**Бабичева Д.Е.<sup>1</sup>, Горелова С.В.<sup>2</sup>, Игнатова Т.Ю.<sup>1</sup>, Фронгасьева М.В.<sup>3</sup>, Вергель К.Н.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н.Голстого, Тула, Россия;

<sup>2</sup>ГОУ ДПО ТО Институт повышения квалификации и профессиональной переподготовки работников образования Тульской области, Тула, Россия; <sup>3</sup>Объединенный Институт Ядерных Исследований, Дубна, Россия

*Riv132@yandex.ru*

Бриомониторинг состояния атмосферного воздуха используется в скандинавских странах и странах Европы для определения чистоты воздуха и трансграничного переноса элементов в атмосфере с 60 годов XX века. По данным, получаемым через каждые 5 лет, строится Атлас атмосферных загрязнений. С начала 90-х годов в бриомониторинге участвует ряд областей России.

Нами в 2015 году был осуществлен пробоотбор мхов в северной и центральной части области (зона смешанных и широколиственных лесов), а также нескольких районов лесостепной и степной зон региона. Образцы отбирались согласно протоколу пробоотбора, рекомендованному координационным центром ICP Vegetation (Frontasyeva, Harmens, 2015). Анализ образцов (ИНАА) проводился на реакторе ИБР-2 в Лаборатории нейтронной физики им. И.М. Франка ОИЯИ (г. Дубна).

Результаты анализа мхов-биомониторов показали, что уровень загрязнения атмосферного воздуха в Тульской области V, Cr, Fe, Zn, As превышает уровень содержания аналогичных элементов в Московской, Ивановской, Тверской, Костромской областях и республике Удмуртия от 20 % до 3 - 7 раз. Воздух области также загрязнен такими редкоземельными элементами, как: Ce, Sm, Tb, Hf, а также Th и U. По сравнению со странами Европы, воздух региона загрязнен такими элементами, как: As, Cd, Cr, Fe, V, Zn, Al. Перечень элементов-загрязнителей атмосферного воздуха Тульской области свидетельствует об их техногенном происхождении и может объясняться влиянием предприятий металлургической, угледобывающей, перерабатывающей и оборонной промышленности.

Таким образом, в Тульской области, согласно данным бриомониторинга, наблюдается критическая ситуация по состоянию атмосферного воздуха, который загрязнен тяжелыми и редкоземельными металлами, что по данным ВОЗ может приводить к развитию легочных и онкологических заболеваний у населения.

Работа выполнена при поддержке Гранта РФФИ р\_центр\_а 15-45-03252 "Биомониторинг атмосферного загрязнения промышленными выбросами лесных и лесостепных экосистем центральных регионов России (на примере Тульской области)".

## **ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ ДАННЫЕ О МАКРОМИЦЕТАХ УЧАЛИНСКОГО РАЙОНА РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН**

**Балагтдинова Р.Р., Михайлова В.А., Петрова М.В.**

Стерлитамакский филиал ФГБОУ ВО Башкирский государственный университет, Стерлитамак, Россия

*mariya.86.86@yandex.ru*

Учалинский район Республики Башкортостан расположен в пределах четырех физико-географических округов (Учалинского, Ирендыкско-Крыктинского и Уртазымско-Узункульского округов горно-лесостепной провинции, Уралтауского округа горнолесной провинции). Для территории округа характерны лесостепные почвы, среди которых преобладают серые и темно-серые лесные почвы, и выщелоченные черноземы. Флора представлена двумя основными группами: естественной травянистой растительностью и древесными породами. Древесная растительность представлена березой приземистой и пушистой, сосной, ивой, осинкой, ольхой и др. В целом для лесов района характерно преобладание средневозрастных насаждений деревьев, средний возраст 56 лет. Но по основным лесообразующим породам имеет место значительное колебание среднего возраста деревьев.

Классификация приведена в соответствии с новыми правилами классификации царства Настоящие грибы (Mycota) по Hansen L., Knudsen H. «Nordic Macromycetes». Сбор материала проводился в летний сезон года. Были исследованы территории смешанного леса в 5 км от турбазы Ургун, лиственничного леса «Ургунский бор», сосново-березового леса в 6 км от турбазы Ургун и березовой лесопосадки.

По полученным результатам разнообразие биоты грибов Учалинского района определяется в настоящее время 28 видами, представленными 19 родами, 13 семействами и тремя порядками. В районе исследования выделено три порядка: первое место занимает порядок *Fomitopsidales*, насчитывающий 25 видов грибов (25% от общего числа видов); второе место – порядок *Russulales*, насчитывающий два вида грибов (7,14%) и третье место – порядок *Polyporales*, насчитывающий один вид грибов (3,5%).

Всего выявлено 13 семейств, среди которых есть семейства со значительным количеством видов, например, семейство *Tricholomataceae* (7 видов, 25%). Второе место по числу видов занимают семейства *Amanitaceae* и *Gomphidiaceae* (3 вида, 10,7%). Третье место по числу видов занимают пять семейств, которые представлены двумя видами каждый, – *Agaricaceae*, *Fomitopsidaceae*, *Pluteaceae*, *Russulaceae* и *Strophariaceae*. Из перечисленных двувидовых семейств, два семейства *Agaricaceae* и *Strophariaceae* являются двуродовыми. Остальные три семейства *Russulaceae*, *Fomitopsidaceae* и *Pluteaceae* представлены единичными родами. Четвертое место занимают также пять семейств *Cortinariaceae*, *Coprinaceae*, *Crepidotaceae*, *Phaeolaceae* и *Polyporaceae*, представленные соответственно одним видом (3,5%) и одним родом.

## ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ ПРЕДПРИЯТИЯ ОАО «ЦС ДАЛЬЗАВОД» НА АКВАТОРИЮ БУХТЫ ЗОЛОТОЙ РОГ

**Баранова Ю.А.**

ФГБОУ ВПО Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

*Kirsche24@yandex.ru*

В последние годы одной из глобальных экологических проблем является загрязнение морской среды различными ксенобиотиками.

Актуальность темы состоит в том, что антропогенное воздействие на прибрежную зону многообразно. Поэтому, целью исследования является: определить, в каком размере предприятие, деятельность которого связана с судостроением, несет нагрузку на морские экосистемы.

Объектом исследования явилось судоремонтное предприятие г. Владивостока ОАО «ЦС Дальзавод», расположенное на берегу бухты Золотой Рог.

Основной вид деятельности ОАО «ЦС Дальзавод» – судоремонт, производство изделий общего и судового машиностроения, оказание услуг производственно-технического назначения другим предприятиям. На предприятии образуются хозяйственно-бытовые, производственные и поверхностные (ливневые и талые) сточные воды. Их сброс в акваторию производится посредством 11 организованных выпусков.

Для оценки степени негативного воздействия предприятия на акваторию бухты был проведен анализ данных производственного мониторинга ОАО «ЦС Дальзавод» за период с 2011 по 2013 год. Согласно «Программе наблюдений за водным объектом и его водоохраной зоной», контроль качества сбрасываемых сточных вод осуществляется один раз в три месяца по следующим показателям: БПК полн., взвешенные вещества, нефтепродукты, железо общее, нитрат – ион, АПАВ, фосфат – ион, фенолы, медь, цинк.

В результате проведенного анализа было установлено, что концентрация загрязняющих веществ в сточных водах предприятия в течение всего изучаемого периода остается стабильной. Наибольшие превышения ПДК отмечаются для взвешенных веществ и БПК полн. (до 100 ПДК). Такое превышение данных показателей приводит к несвоевременному окислению органических веществ в морских водах и негативно сказывается на биоценозе акватории.

Также превышения ПДК (до 6 ПДК) наблюдались для таких показателей, как содержание фосфора, фенолов, нефтепродуктов, железа общего, АПАВ, что также ведет к нарушению экологического равновесия бухты Золотой Рог. Так, например, увеличение концентрации фосфора вызывает бурное развитие (цветение) сине-зеленых водорослей, что в свою очередь за счёт выделения токсинов и создания аноксидных зон может привести к деградации и гибели всей экосистемы.

Можно сделать вывод: деятельность ОАО «ЦС Дальзавод» оказывает негативное воздействие на акваторию бухты Золотой Рог.

В качестве возможного решения проблемы рекомендуется произвести полную замену существующих очистных сооружений предприятия: септиков, жируловителей, отстойников и нефтеловушек.

## ОЦЕНКА БИОЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПОЧВОГРУНТОВ ПОЛИГОНА ТБО «САЛАРЬЕВО»

**Бекк В.В., Жандарова Ю.А.**

ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет - МСХА имени К.А. Тимирязева,  
Москва, Россия

*tg\_koo@mail.ru*

Сегодня курс на создание общества потребления, неуправляемая урбанизация и близорукость всего человечества приводит нас к очередному глобальному вызову. Образование чрезмерного количества твердых бытовых отходов (ТБО), депонирующихся на полигонах ТБО, является одной из острых экологических проблем, при этом в большинстве стран мира до сих пор остающейся без должного внимания, в том числе и России.

Учитывая актуальность вопроса, интересы всего общества и комплекс проблем вызываемых функционированием полигонов ТБО, среди которых загрязнение почв тяжелыми металлами, заражение ядовитыми веществами поверхностных и грунтовых вод, образование газов, вызывающих парниковый эффект, угнетение почвенной биоты и тд. Объектом нашего исследования был выбран полигон ТБО «Саларьево», на момент закрытия 2008г. являвшийся одним из крупнейших в Московском регионе.

В задачи исследования входило изучение свойств почвогрунтов:

Агрохимические (содержание гумуса, подвижный фосфор и калий, pH);

Физические (плотность, величина объемной массы; фильтрационная способность);

Химические (содержание загрязняющих веществ в почве, в том числе содержание тяжелых металлов (ТМ) – свинец и кадмий в системе «почва – растения»);

Биологические (целлюлозоразрушающая способность почвы и влияние биостимулирующих препаратов на нее («Florovit», «Байкал-ЭМ», «Азотовит + Фосфатовит»);

Изучить растения с наилучшей фиторемедиационной способностью.

Агрохимические свойства соответствовали зональной дерново-подзолистой почве (Содержание гумуса 1,49 %,  $pH_{кел}$  5,2, обменные  $P_2O_5$  и  $K_2O$  (мг/кг) соответственно 80,4 и 32). Физические свойства (Величина объемной массы составила 1,68 г/см<sup>3</sup> для верхнего 10-ти см слоя и 1,84 г/см<sup>3</sup> для слоя 0-50 см., Почвогрунты полигона характеризовались слабой фильтрационной способностью). Содержание ЗВ (Концентрация ТМ превышала ПДК в 2-3 раза (Pb-55мг/кг, Cd-1,11мг/кг, Zn-291мг/кг, Cu-119мг/кг), нефтепродуктов (1150 мг/кг) более, чем в 3 – 4 раза, ПАВ-(1,37 мг/кг). Биологические свойства (почвогрунты полигона характеризовались слабой биологической активностью, внесение препарата «Florovit» показало максимальный эффект и увеличение БА в 6-10раз). Фиторемедиационная способность растений подсолнечника по отношению к металлам Cd и Pb оказалось выше по сравнению с растениями гороха примерно в 10 раз. Таким образом, по результатам исследования можно заключить, что состояние почвогрунтов характеризуется неблагоприятными биоэкологическими свойствами и может быть улучшено рассмотренными способами.

## ХАОТИЧЕСКАЯ ДИНАМИКА СООБЩЕСТВ ЗООПЛАНКТОНА ЭКОТОНОВ МАЛЫХ ПРИТОКОВ РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

**Болотов С.Э.<sup>1,2</sup>, Мухортова О.В.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, Борок, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Сургутский государственный университет ХМАО-Югры, Сургут, Россия; <sup>3</sup>ФГБУН Институт экологии Волжского бассейна РАН, Тольятти, Россия

*alhimikhmu@yandex.ru*

Исследование хаотической динамики планктонных биоценозов малых и средних притоков равнинных водохранилищ, а именно непредсказуемой вариабельности их жизненных показателей, может выступать эффективным вспомогательным инструментом диагностики экологических последствий влияния природных и антропогенных факторов, а также позволяет комплексно охарактеризовать поведение вектора состояния зоопланктоценозов и прогнозировать развитие патогенетических состояний, связанных с нарушениями в системе адаптации сообществ в изменяющихся условиях среды.

Цель работы – анализ хаотической динамики контурных сообществ зоопланктона экотон малых притоков Рыбинского водохранилища и оценка реакции хаотической системы биоценозов в условиях погодных аномалий жарких лет.

Изучали контурные сообщества зоопланктона маргинальных структур переходных зон речные – водохранилищные воды малых притоков Рыбинского водохранилища. Вариабельность жизненных параметров зоопланктона притоков описывали хаотическим квазиаттрактором (КА) – областью  $m$ -мерного фазового пространства, в границах которой по каждой из координат ( $m = 23$ ), соответствующих конкретным синэкологическим параметрам, задается облако состояний – КА сообщества. С использованием авторской программы производили расчет координат граней, соответствующих конкретным синэкологическим

параметрам сообществ, их длины ( $D_i = x_{i(max)} - x_{i(min)}$ ) и объема 23-х мерного параллелепипеда ( $vX = \prod D_i$ ), ограничивающего КА, внутри которого двигался вектор состояния зоопланктоценоза, а также показателя асимметрии между стохастическим и хаотическим центром КА.

Относительно граничащих водных масс контурные сообщества зоопланктона зон слияния вод отличаются повышенным видовым богатством, специфичной биоценотической структурой, увеличением численности, биомассы и продукции животных. Повышенное видовое богатство и развитие краевого эффекта позволяют рассматривать эти зоны как экотоны. Здесь регистрируются максимальные значения параметров КА, указывающие на выраженную хаотическую динамику сообществ. В условиях погодных аномалий жарких лет увеличиваются межаттракторные расстояния, а КА сообществ «разбегаются» друг относительно друга в многомерном фазовом пространстве, что свидетельствует об экологической дифференциации сообществ по-разному реагирующих на аномальные условия. В жаркие годы параметры КА демонстрируют проявление буферных свойств экотона в зонах контакта вод, а при продолжительном термическом эвтрофировании – указывают на нарушения в системе адаптации зоопланктоценозов.

#### МАТЕРИАЛЫ ПО ПАЗАРИТОФАУНЕ ЧЕРНОМОРСКОГО ЛОБАНА (*MUGIL CEPHALUS*)

**Бортников Е.С., Шевкоплясова Н.Н.**

ФГБНУ Азовский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства,

Ростов-на-Дону, Россия

*Bortnikov\_1991@bk.ru*

Лобан является представителем черноморских кефалей, стайная, очень подвижная рыба. Обладает способностью выпрыгивать из воды при испуге, легко перепрыгивает через выставленные ставные сети. Половозрелым становится на 6—8-м годах жизни при длине 30—40 см. Отобран для паразитологических исследований в районе мыса Железный рог в летний и осенний периоды. Орудием лова служил обсыпной невод. Исследованные рыбы были представлены половозрелыми особями.

Паразитофауна лобана в 2015 г. насчитывала 13 видов, включая представителей из классов миксоспоридий (3), кругоресничных (1), моногеней (2), трематод (5), ракообразных и скребней (по 1 виду).

У лобана преобладали инвазии с достаточно низкими показателями экстенсивности – в диапазоне 7–42 % (9 из 13). Однако в данной группе паразитов был зарегистрирован вид, заражавший лобана с высокой интенсивностью, в частности, миксоспоридия *Mухobolus episquamalis*, поражающая чешуйный покров рыб и в дальнейшем вызывающая воспаление прилежащих тканей.

В Черном море в районе мыса Железный рог численность больных особей в летних уловах (июнь) варьировала, согласно промысловой статистике, от 15 до 40 %, осенью – от 0 до 2.5 %. Значительная площадь поражения кожного покрова в области брюшка и боковой поверхности лишает рыбу товарного вида.

К числу наиболее часто встречающихся у лобана паразитических форм относятся 4 вида с показателями экстенсивности 50–100 %, включая моногенею *Ancyrocephalus vanbenedeni* (75–100 %), трематод *Saccocoelium tensum* (100 %) и *Bunocotyle cingulata* (50 %), а также скребня *Neoechinorhynchus agilis* (100 %). *N. agilis*, принадлежащий классу колючеголовых (скребней), может представлять при массовом заражении реальную угрозу для здоровья рыб. Паразит, внедряясь хоботком с крючьями в стенку кишечника, изъязвляет ее, а в некоторых случаях, согласно литературным данным и собственным наблюдениям, приводит к прободению стенки. В летней выборке лобана число рыб с массовым заражением неоэхиноринхусами (интенсивность 178–268 экз.) составляло 15.4 %, с несколько более низкой интенсивностью (40–81 экз.) – 30.8 %. Осенью преобладали особи с интенсивностью до 30 экз. (58.3 %), рыб с числом скребней 40–80 экз. было 41.7 %.

Интенсивность инвазии моногенеей *A. vanbenedeni*, паразитирующей на жабрах, не является угрожающей для взрослого лобана. Информация о патогенности трематод *S. tensum* и *B. cingulata* в доступных источниках не обнаружена.

#### ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ВОДЫ РЕКИ ДЗКНАГЕТ ПО СТРУКТУРЕ СООБЩЕСТВА МАКРОЗООБЕНТОСА

**Бошян Т.В.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Научный центр зоологии и гидроэкологии Национальной Академии наук Республики Армения, Ереван, Армения; <sup>2</sup>Институт гидроэкологии и ихтиологии, Ереван, Армения

*tatevik-b87@mail.ru*

За последние годы нарастающее антропогенное давление оказывает негативное влияние на водные ресурсы Армении. Малые реки и озера в большей степени подвержены такому влиянию, поскольку их способность противостоять внешним воздействиям низкая.

Летом и осенью 2015г проводились исследования реки Дзкнагет - вторая полноводная река впадающая в Малый Севан. Ее длина - 22 км, площадь водосбора - 90.5 км<sup>2</sup>, средний годовой расход реки -



1.11 м<sup>3</sup>/с. Речная долина в верхнем течении V-образная, а в нижнем – корытообразная. Основными составляющими грунта являются гравий, галька, ил в малом количестве. Воды используются для орошения сельскохозяйственных угодий.

По нашим наблюдениям, летом температура воды вниз по течению колебалась в пределах от +13 до +15°С, скорость - 0,45-0,25 м/с, осенью температура воды колебалась в пределах от +9 до +12°С, скорость - 0,3-0,7 м/с. В верхнем течении реки макрофиты отсутствовали. В среднем и нижнем течениях проективное покрытие макрофитов составляло 20%.

Качество воды оценивали индексом ЕРТ, который основан на числе видов трех отрядов водных насекомых: Ephemeroptera, Plecoptera и Trichoptera, представители которых являются высокочувствительными видами к различного рода загрязнениям.

В период исследований в составе макрозообентоса р. Дзкнагет доминировали:

Верхн. теч. – *Ecdyonurus s.str.* (Ephemeropter), *Perla* (Plecoptera), *Rhyacophila s. str.* (Trichoptera).

Средн. теч. – *Baetis s.str.* и *Ecdyonurus s. str.* (Ephemeroptera), *Protonemura*, *Leuctra* и *Perla* (Plecoptera), *Hydropsyche sp.* (Trichoptera).

Нижн. теч. – *Baetis s. str.* и *Caenis sp.* (Ephemeroptera), *Perla* (Plecoptera), *Hydropsyche sp.* (Trichoptera).

По литературным данным величина индекса ЕРТ для эталонных створов находится в пределах от 13 до 15. Значения индекса ЕРТ р. Дзкнагет, летом находились в пределах 10-14, осенью: 7-12.

Процентное соотношение представителей родов ЕРТ летом в верхнем, среднем и нижнем течениях р. Дзкнагет к общему разнообразию макрозообентоса исследованных участков составило - 50%, 77%, 65%, осенью - 26%, 44%, 22%.

Летом значения индекса ЕРТ были высокими: индикаторные виды макрозообентоса составляли более чем половину численности макрозообентоса. Осенью значения индекса ЕРТ во всех станциях сократились примерно на 50%. Вероятно, что снижение процентов индекса ЕРТ связано со стадией развития бентосных организмов.

Исследования показали, что изменение в составе макрозообентоса в нижнем течении значительнее, чем в верхнем и среднем, что обусловлено отсутствием населения.

#### СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СТРАТЕГИЙ ЭНЕРГООБЕСПЕЧЕНИЯ ДВУХ ПОПУЛЯЦИЙ *GAMMARUS LACUSTRIS* SARS В УСЛОВИЯХ ТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕССА

Верещагина К.П.<sup>1</sup>, Шатилина Ж.М.<sup>1</sup>, Задереев Е.С.<sup>2</sup>, Гурков А.Н.<sup>1</sup>, Тимофеев М.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт биологии при ФГБОУ ВО ИГУ, Иркутск, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт биофизики Сибирского отделения РАН, Красноярск, Россия

*k.p.vereshagina@gmail.com*

Вопросы оценки влияния стрессовых факторов на живые организмы привлекают внимание ученых на протяжении всего времени проведения экологических исследований. Одним из важнейших факторов является температура, от которой напрямую зависят все жизненно важные функции. Отклонения от привычных температур ведет к изменению характера метаболических процессов и, в случае критических величин, к развитию стрессовой реакции (Pörtner, Farrell, 2008).

Целью исследования было сравнить стратегии энергообеспечения стресс-реакций в условиях изменения температуры среды у двух отдаленных популяций голарктического вида амфипод *Gammarus lacustris* Sars. Представители первой популяции обитают в солоноводном озере Ши́ра (республика Хакасия), а второй – в пресноводной заводи реки Ангара в черте города Иркутск.

В ходе исследования были проведены эксперименты по экспонированию рачков в условиях острой гипертермии (30°С). Фиксацию образцов производили после 30 мин, 1, 3 и 6 ч экспозиции. Следует отметить, что рачки из популяции оз. Ши́ра прожили на 3 ч дольше (6 ч) по сравнению с Иркутской популяцией (3 ч).

Для оценки влияния изменения температуры среды на процессы энергетического метаболизма определяли изменение концентрации основных энергетических метаболитов - глюкозы, гликогена, аденозинтрифосфата, аденозиндифосфата, аденозинмонофосфата и лактата.

Полученные результаты указывают на то, что повышение температуры окружающей среды приводит к перестройке процессов энергетического метаболизма у обитателей обоих исследуемых популяций амфипод *G. lacustris*. Экспозиция голарктического *G. lacustris* в условиях гипертермии приводила к истощению запасов глюкозы у представителей популяции из оз. Ши́ра, в то время как у популяции из г. Иркутск содержание глюкозы наоборот повышалось к концу экспозиции. У амфипод из оз. Ши́ра отмечали накопление лактата, а у представителей Иркутской популяции - АМФ. Также было зарегистрировано снижение содержания гликогена у обоих исследуемых популяций. Однако, у популяции из оз. Ши́ра это происходило раньше - уже после 30 мин экспозиции, в то время как у Иркутской популяции только по окончании эксперимента (3 ч).

Таким образом, разнонаправленность реакций исследуемых параметров, а также время их наступления обусловлены особенностями эволюции организмов в различных экологических условиях, главную роль из которых, возможно играют довольно контрастные различия минерализации среды.

Исследование проведено при частичной финансовой поддержке проектов Минобрнауки РФ (ГЗ 1354–2014/51, 6.734.2016ДААД), РНФ (14-14-00400), CRDF (FSCX-15-61168-0) и РФФИ (16-34-00687, 15-04-06685).

### **РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ ПРОМЫСЛОВОГО МОЛЛЮСКА *MERCENARIA STIMPSONI* (BIVALVIA, VENERIDAE) У БЕРЕГОВ ПРИМОРСКОГО КРАЯ (ЯПОНСКОЕ МОРЕ)**

**Власенко Р.В.**

ФГБНУ Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр, Владивосток, Россия

*rv\_vlasenko@mail.ru*

У берегов Приморья в 2010 г. начал промысел зарывающегося моллюска мерценарии *Mercenaria stimpsoni* (Gould, 1861). Используются данные водолазных съемок 2002–2015 гг. прибрежных акваторий Приморья до глубины 20 м (более 12 тыс. станций). Состояние гонад изучено на постоянных и временных гистологических препаратах, рост – по меткам (задержкам роста), различимых на продольном спиле раковины.

Мерценария обитает на песчаных и илисто-песчаных грунтах, предпочитая открытые прибойные участки. В зал. Петра Великого береговая линия изрезана множеством островов и бухт. Здесь мерценария обитает на глубине 1,5-15 м, средняя плотность поселений редко превышает 2 экз./м<sup>2</sup>, а величина биомассы – 350 г/м<sup>2</sup>. Вид формирует сообщества с долей не более 60% от общей биомассы.

Материковое побережье от м. Поворотный до м. Золотой более открыто волновому воздействию и подвержено влиянию холодного Приморского течения. В этом районе мерценария встречается на глубине 2-20 м, образуя значительные поселения, иногда со средней плотностью до 5,5-7,4 экз./м<sup>2</sup> и биомассой более 450 г/м<sup>2</sup> (максимальные до 40 экз./м<sup>2</sup> и до 2600 г/м<sup>2</sup>). Вид формирует сообщества на обширных акваториях с доминированием более 70% по биомассе.

В зал. Петра Великого преобладают моллюски с длиной раковины (L) 70-90 мм, а на акваториях от м. Поворотный до м. Золотой с L=55-75 мм. Мерценария растет интенсивно в первые 5-6 лет жизни. Наибольшие приросты в эти годы у моллюсков из южных акваторий, вследствие чего они достигают наибольших предельных размеров, чем в прохладных водах от м. Поворотный до м. Золотой.

В зал. Петра Великого вид может нереститься в течение всего лета, массовый нерест наблюдается в июле при средней t воды – 20°C. Севернее нерест проходит с середины августа до середины сентября при самых высоких годовых значениях t воды – 16-18°C.

В поселениях от м. Поворотный до м. Золотой становление половозрелости происходит при L=40 мм (7-8 лет), при L=50-55 мм (10-11 лет) все особи половозрелые. Среди особей с L=40-44 мм преобладают самцы (1,26:0,74), у основной репродуктивной части популяции (L=45-74) мм соотношение полов равное. У крупноразмерных с L≥75 мм преобладают самки (0,7:1,3).

Общая биомасса мерценарии у берегов Приморья оценена ≈ 25 тыс. т на площади ≈ 10 тыс. га. 92% биомассы и 85% занимаемой площади находятся на акваториях от м. Поворотный до м. Золотой. Вылов осуществляется драгами, ежегодная установленная квота ≈ 600 т осваивается на 32-69%. Моллюски продаются на рынки азиатских стран в живом виде.

### **ИЗУЧЕНИЕ РАЗВИТИЯ ЩИТНЕЙ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ СРЕДЫ**

**Воршева А.В.**

ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет - МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия

*vorsheva.sasha@yandex.ru*

Щитни–древнейшие ракообразные, сохранились до наших времен, ничуть не изменив свой облик. В работе изучалось, какие температурные отклонения от нормы для каждого вида щитней станут губительны, влияние химического состава воды на взрослых особей, так как щитни-стенобионты по отношению к температуре и химическому составу воды. Также были произведены два опыта по скрещиванию разных видов щитней с целью получения нового вида с большей температурной выносливостью на ранних стадиях развития. Эксперименты не дали нужных результатов, потомок от первого скрещивания погиб, не отложив цист. В настоящий момент эксперимент продолжается. В работе изучались следующие виды щитней: *Triops australiensis*, *Triops cancriformis*, *Triops newberryi*.

**Эксперимент №1:** изучение действия температур на развитие щитней на ранних стадиях развития. После вылупления из цист щитни разделялись на 5 групп (в 5 разных аквариумах с различной температурой воды) по 3 особи в каждой. Группа А–20-21°C, группа В–22-23°C, группа С–24-25°C, группа D–26-27°C, группа E–28-29°C.

Для *Triops australiensis* оптимальная температура 26-27°C (группа D), щитни прожили 31 день, достигли полного развития (согласно описанию): полностью сформирован щиток, окрас – желтоватый, размер туловища – 7 см. Для *Triops cancriformis* оптимальная температура 24-25°C (группа C), щитни прожили 41 день, достигли полного развития: сформирован щиток, окрас – коричневый с крупными темными пятнами, размер туловища – 8 см. Для *Triops newberryi* оптимальная температура 26-27°C (группа D), щитни прожили 21 день, достигли полного развития: полностью сформирован щиток, удлиненное светло-коричневое тело с коротким мраморного окраса щитком, размер – 5 см. Для всех видов щитней колебания температур от оптимальных значений на более чем 3°C смертельны.

**Эксперимент №2:** изучение влияния химического состава воды на вид *Triops newberryi*, который сильно подвержен влиянию химического состава воды и может существовать только в дистиллированной воде (в природных условиях в дождевой воде, но срок жизни будет значительно меньше). В эксперименте изучалось влияние на данный вид щитней воды с кондиционером для аквариумов и водопроводной воде. Взрослые особи были пересажены в три аквариума с разной водой по 3 особи. Щитни, помещенные в аквариум с водопроводной водой, погибли в течение часа после пересадки, щитни, помещенные в аквариум с кондиционером для воды, прожили в течение 5-6 дней.

## РОЛЬ ЗООПЛАНКТОНА В САМООЧИЩЕНИИ МАЛОЙ РЕКИ Г. НИЖНЕГО НОВГОРОДА

Гаврилко Д.Е.

ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет  
им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

*dima\_gavrillko@mail.ru*

Малые водотоки городов испытывают многофакторное антропогенное воздействие и в то же время являются резерватами биоразнообразия водных сообществ. Организмы зоопланктона играют особую роль в самоочищении водотоков, действуя как естественный биологический фильтр.

Целью работы была оценка участия зоопланктона биотопов с различной водной растительностью в самоочищении р. Левинка г. Нижнего Новгорода.

Исследования зоопланктона проводили в летний период (в середине июня, июля и августа) на участке среднего течения р. Левинка в 7 биотопах с разным типом водной растительности: тростника обыкновенного, рдеста плавающего, кубышки жёлтой, рдестов + кубышкой жёлтой. В каждом биотопе отбиралось по 3 пробы зоопланктона. Всего было собрано 63 пробы. Отбор и обработка проб проводились общепринятыми в практике гидробиологических исследований методами.

Анализ пространственного размещения зоопланктона позволили выделить кластеры станций со сходной видовой структурой. На протяжении всех трёх месяцев в отдельный кластер группировались биотопы с рдестом плавающим и рдестами + кубышкой жёлтой.

Наибольшим количественным развитием зоопланктона на протяжении летнего сезона характеризовались биотопы рдеста плавающего и рдестов + кубышка жёлтая. Для биотопа рдестов + кубышка жёлтая зафиксировано увеличение численности ( $96,04 \pm 6,5$  тыс. экз/м<sup>3</sup> в июне до  $505,9 \pm 199,8$  тыс. экз/м<sup>3</sup> в августе) и биомассы ( $2,24 \pm 0,96$  г/м<sup>3</sup> в июне до  $10,4 \pm 4,4$  г/м<sup>3</sup> в августе) зоопланктона. Именно в этом биотопе наблюдалось снижение времени фильтрации воды зоопланктоном от июня ( $4,3 \pm 8,2$  сут./м<sup>3</sup>) к августу ( $0,7 \pm 1,6$  сут./м<sup>3</sup>) и класса качества вод (от умеренно загрязненных в июне, до чистых вод в августе). В остальных биотопах реки на протяжении всего лета сохранялся преимущественно III класс качества вод (умеренно загрязненные).

Высокая скорость фильтрации воды в биотопе рдесты + кубышка жёлтая связана с массовым развитием фитофильных ракообразных – фильтраторов: *Ceriodaphnia megops* (Sars, 1862), *Sida crystallina* (Straus, 1820), *Simocephalus vetulus* (O.F. Muller, 1776).

На участках реки лишенных водной растительности на протяжении лета наблюдалось низкое количественное развитие зоопланктона и большое время фильтрации воды.

Таким образом, благодаря деятельности зоопланктона в зарослях макрофитов р. Левинка имеет значительный потенциал к самоочищению. Полученные результаты могут лечь в основу разработки мероприятий по оздоровлению и восстановлению экологического состояния р. Левинки.

## БИОЦЕНОТИЧЕСКИЕ СВЯЗИ ТЕРМИТОВ РОДА *ANACANTHOTERMES*

Ганиева З.А., Хамраев А.Ш.

Институт генофонда растительного и животного мира АН Республики Узбекистан, Ташкент, Узбекистан

*zoologiya\_zumrat@mail.ru*

Термиты, являются серьёзными вредителями сооружений. Для разработки стратегии борьбы с термитами нами проводится исследование по изучению биологии, экологии и биоценологических связей термитов.

В условиях пустынного биоценоза Хорезма, где немалую часть занимают холмики термитов, гнездо термита также выступает в роли сообщества членистоногих. В безводной пустыне в термитнике созданы более благоприятные условия. Термитник защищает животных, обитающих в нём, от неблагоприятных условий и врагов. Поэтому фауна термитника разнообразна и довольно богата. На основании собственных данных, критического анализа литературных сведений в Узбекистане нами установлено обитание в гнезде термитов 124 вида членистоногих из 69 родов, относящихся к 45 семействам и к 4 классам (ракообразные, паукообразные, многоножки, насекомые). Особенно разнообразно и богато представлены насекомые, среди которых доминируют жесткокрылые (2 семейства, 49 видов). Довольно многообразны и паукообразные (7 отрядов). Нами были зарегистрированы в качестве постоянных сожителей, или индикаторных видов муравьи *Diplorhoprurum deserticolum* и муравьи рода *Monomorium*. А также было зарегистрировано, что обычным сожителем термитника является сороконожка, которая, питается не живыми, а только что погибшими термитами. В тугайных песках Хорезма мы наблюдали, с каким жаждающим аппетитом питалась живыми термитами Закаспийская сольпуга (*Galeodes caspius*).

Многочисленные полевые наблюдения свидетельствуют о том, что основными естественными врагами термитов являются муравьи. В термитниках, или около термитников в полевых условиях всегда находились гнезда различных видов муравьёв, которые очень ловко и быстро осуществляли массовые нападения на термитов при вскрытии их гнезд. Это 4 вида муравьёв: *Cataglyphis Foreli*, *Cataglyphis Setipes*, *Cataglyphis nenescens* и *Camponotus turkestanicus*.

Таким образом, в Узбекистане, несмотря на скрытый образ жизни, в гнездах термитов обитает богатая фауна специфических спутников этих насекомых, а также основными естественными врагами термитов являются муравьи.

#### ТЕМПЕРАТУРНЫЕ НОРМЫ РАЗВИТИЯ КЛОПА *PALOMENA PRASINA* (HETEROPTERA; PENTATOMIDAE) В ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

Гусев И.А., Лопатина Е.Б.

ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*ilyagusev92@inbox.ru*

Одной из форм зависимости насекомых от термических условий среды является влияние температуры на скорость развития особей. Эта форма фенотипической пластичности характеризуется температурными нормами развития организма. Под температурными нормами развития понимают коэффициент регрессии уравнения линейной регрессии скорости развития по температуре (иначе коэффициент термолабильности развития) (b), температурный порог развития, при котором скорость развития условно равна 0, и сумму градусо-дней (1/b).

*P. prasina* относится к видам с облигатной имагинальной диапаузой. Имаго размножаются в течение июня - июля, а последние личинки заканчивают развитие в первой половине сентября. Следовательно, самые первые личинки развиваются при длинном дне, а особи, появившиеся из последних яиц, завершают онтогенез уже в короткодневных условиях. В этих случаях можно ожидать проявление той или иной формы фотопериодической модификации температурных норм развития.

Целью данной работы было изучение влияния температурных и фотопериодических условий на развитие клопа *P. prasina* в Ленинградской области, и выявление характера изменения нормы реакции на температуру в зависимости от фотопериодических условий. Эксперименты проводили при 5 температурах (20, 22, 24, 26, 28 °C) и 2 фотопериодах - 12 ч (короткий день, КД) и 22 ч света в сутки (длинный день, ДД). КД вызывал более быстрое развитие личинок при всех использованных температурах. Средняя продолжительность развития личинок при 12 ч и 22 ч составила соответственно 36±0,4 сут. и 43±0,5 сут. для самок и 35±0,4 сут. и 42±0,5 сут. для самцов. Более быстрое развитие сопровождалось снижением среднего веса особей, который составил при КД и ДД, соответственно, 110.7±0.96 и 128.9±1.11 мг для самок, и 94.2±0.74 и 109.2±0.76 мг для самцов.

При КД наблюдалось замедление развития клопов при 26 и 28°C по сравнению с 24°C, и зависимость скорости развития от температуры отклонялась от линейной. Поэтому уравнение линейной регрессии скорости развития личинок по температуре мы рассчитывали без учета двух верхних температур (и для КД, и для ДД). Развитие личинок клопов при КД отличалось большей термолабильностью, т.е. большим углом наклона линий регрессии к оси абсцисс, и более высоким порогом (11.3±0.31°C), по сравнению с ДД (2.3±1.34 °C). Таким образом, КД не просто ускоряет развития личинок, а изменяет норму реакции на температуру.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ № 14-04-01156-а.

## ДРЕВЕСНО-КУСТАРНИКОВЫЕ РАСТЕНИЯ В ПИТАНИИ РЕЧНОГО БОБРА (*CASTOR FIBER*) В КАЛУЖСКОЙ ОБЛАСТИ

Девятов А.И.<sup>1</sup>, Карпухин С.Е.<sup>1</sup>, Алексеев А.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Экологический клуб «Stenus», Калуга, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Калужский государственный университет им. К.Э. Циолковского, Калуга, Россия

79106017988@yandex.ru

Начиная с 1999 г., экологическим клубом «Stenus» изучался рацион речного бобра в Березическом лесничестве национального парка «Угра» (Козельский р-н Калужской обл.), в бассейнах малых рек Трошенка и Ямная, ручья Чепчик и средней части реки Жиздра (от д.Кричина, до с.Березичи), с её правобережными пойменными озерами и низинными болотами.

Полоса кормовых угодий вдоль поселений бобра составляет около 30-50 м. Здесь бобром заготавливается на зиму или поедается поздней осенью не менее 25 видов деревьев и кустарников. По частоте встречаемости погрызов (в порядке убывания) шли: ивы (*Salix* spp.) – 5-7 видов; березы (*Betula pubescens*, *B.pendula*); осина (*Populus tremula*), черемуха (*Prunus padus*), ольха черная (*Alnus glutinosa*), клён остролистный (*Acer platanoides*); клён ясенелистный (*A.negundo*); дуб черешчатый (*Quercus robur*); вязы (*Ulmus glabra*, *U.laevis*); бересклет европейский (*Euonymus europaea*); липа (*Tilia cordata*); яблони (*Malus sylvestris*, *M.domestica*); рябина (*Sorbus aucuparia*); сосна (*Pinus sylvestris*); клен полевой (*A.campestre*); ель (*Picea abies*); бересклет бородавчатый (*Euonymus verrucosus*); смородина черная (*Ribes nigrum*); крушина ломкая (*Frangula alnus*); лещина (*Corylus avellana*); ольха серая (*Alnus incana*); тополь серебристый (*Populus alba*).

В начале 2000-х среди погрызов бобра доминировала осина, но с 2005 г. доля её в корме снижалась. С 2008 г осина стала по частоте встречаемости в погрызах вторым, а затем третьим видом деревьев, что связано с резким сокращением её доступных запасов в долинах рек. В веточном корме стали доминировать ивы и березы. На речных и озерных поселениях р.Жиздра среди веточного корма преобладали ивы, растущие в ее долине и по берегам. Березы, черемуха и ольха черная в долинах малых рек, скорее вынужденный корм, на который бобры переходят при отсутствии доступных осин и ив. Как правило, у них объедаются молодые, тонкие ветви и кора, в то время как у осины и средневозрастных ив съедается вся кора.

Прочие виды деревьев и кустарников (8,5% погрызов бобра) объединяются в три группы: обильно встречающиеся, но редко поедаемые: сосна, ель, вязы, крушина ломкая, липа и лещина; не часто или редко встречающиеся, но хорошо поедаемые: тополь серебристый, клены, яблони, бересклеты бородавчатый и европейский, смородина черная; редко встречающиеся и редко поедаемые: ольха серая, клен полевой, боярышник. Рационы могут быть разные, они определяются доступностью предпочитаемых видов веточного корма и его обилием вблизи поселений.

## ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ РЕКУЛЬТИВАЦИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ЭЙХОРНИИ (*EICHORNIA CRASIPES*)

Живалина Ю.А.

ФГБОУ ВО Тюменский государственный университет, Тюмень, Россия

uliyajivalina@yandex.ru

Самым главным отходом, получаемым при бурении, является буровой шлам. Частым способом его хранения являются огромные накопительные ямы - шламовые амбары. Методы очистки буровых отходов являются актуальными для экологии, так как затрагивают вопрос безопасности как самого шламонакопителя, так и методов обезвреживания хранящихся в них отходов. В связи с тем, что буровых отходов становится все больше и больше, для сохранения окружающей среды более подходящим выбором является выбор в пользу обезвреживания и вторичной переработки буровых отходов.

Основной целью работы являлась оценка современных способов переработки бурового шлама как на техническом, так и на биологическом (с применением высшей водной растительности) этапах. Для этого были проанализированы буровые шламы с объектов, располагающихся в Тюменской области. Физические и химические способы обезвреживания и переработки в разной степени показали свою результативность. Наилучший результат был получен комплексным применением этих методов.

Для биологической рекультивации была применена Эйхорния (*Eichornia crasipes*). Растение благополучно приспособилось к климатическим особенностям. Эйхорния известна тем, что успешно применяется во многих исследованиях очистки сточных вод. Для Тюменской области данный вид применен впервые для обезвреживания бурового шлама.

Кроме этого были сравнены между собой технологии рекультивации нарушенных земель в разных климато-географических областях - район Сахалина, ХМАО-Югры и ЯНАО. Анализ позволил сделать

выводы о целесообразности и эффективности применения определенных методик в соответствии с расположением объектов рекультивации в исследуемых районах.

В результате работы разработаны рекомендации по ведению биологической рекультивации в условиях с ограниченной инфраструктурой.

### **НАХОДКИ ВИДОВ-ВСЕЛЕНЦЕВ ЗООПЛАНКТОНА НА РЕЧНОЙ ЧАСТИ ЧЕБОКСАРСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА И В УСТЬЕВОМ УЧАСТКЕ РЕКИ ОКИ (НИЖЕГОРОДСКАЯ ОБЛАСТЬ) В 2015 ГОДУ**

**Жихарев В.С., Кудрин И.А.**

ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского, Институт биологии и биомедицины ННГУ, Нижний Новгород, Россия

*slava.ziharev@ro.ru*

На современном этапе существования Чебоксарского водохранилища происходит активное проникновение в него чужеродных видов зоопланктона, таких как: *Kellicottia bostoniensis* (Rousselet, 1908) – вид североамериканского происхождения, *Synchaeta kitina* (Rousselet, 1902) – представитель северного комплекса видов, *Diaphanosoma orghidani* (Negrea, 1982) – вид южного происхождения и *Eurytemora velox* (Lilljeborg, 1853) – эвригалинный вид, относящийся по происхождению к понтокаспийской фауне.

Цель работы – сообщить о первых находках видов-вселенцев в речной части Чебоксарского водохранилища и устьевом участке реки Оки, а также оценить их роль в формировании видовой структуры зоопланктонных сообществ изученных акваторий.

Материалом для работы послужили 53 пробы зоопланктона, отобранные на обследованных акваториях за вегетационный сезон 2015 года. Обработка материала осуществлялась общепринятыми в практике гидробиологических исследований методами.

Анализ видовой структуры проб зоопланктона позволил выделить на исследованной акватории речной части Чебоксарского водохранилища и устьевого участка р. Оки две области, названные волжским и окским потоками, которые заняты соответственно волжским и окским зоопланктоценозами.

Коловратка *K. bostoniensis* была зарегистрирована лишь во второй декаде сентября. Среднее значение численности вида в волжском зоопланктоценозе составляло  $0,43 \pm 0,30$  тыс. экз./м<sup>3</sup> (1,5% от общей численности зоопланктона волжского зоопланктоценоза), в окском зоопланктоценозе –  $0,39$  тыс. экз./м<sup>3</sup> (2,6% от общей численности зоопланктона окского зоопланктоценоза). Коловратка *S. kitina* регистрировалась на протяжении всего вегетационного сезона на всех станциях отбора проб. Средние значения численности вида на акватории волжского зоопланктоценоза составило  $0,39 \pm 0,06$  тыс. экз./м<sup>3</sup> (1,4%), на акватории окского зоопланктоценоза –  $0,75 \pm 0,15$  тыс. экз./м<sup>3</sup> (5,0%). Рачок *D. orghidani* за период сезонного наблюдения был обнаружен как волжском, так и окском зоопланктоценозе. Средняя численность вида была на порядок выше в окском зоопланктоценозе по сравнению с волжским зоопланктонным сообществом –  $0,41$  тыс. экз./м<sup>3</sup> (8,8%). Рачок *E. velox* был зарегистрирован в обоих зоопланктоценозах лишь в конце вегетационного периода 2015 года. Обилие и встречаемость этого вида в планктоне было крайне низким. Абсолютная численность вида не превышала  $10$  экз./м<sup>3</sup> (0,05%).

### **ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ СТИМУЛЯТОРА РОСТА «РАФИТУР» (РФУ) НА РЯДЕ ТЕСТ-ОБЪЕКТОВ**

**Зайцева О.В.**

ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушино, Россия

*lutralutra1992@mail.ru*

Быстрый рост и развитие растений - приоритетная задача сельскохозяйственной отрасли. В связи с этим возникает потребность в создании дешевых, но эффективных препаратов, помогающих в быстрые сроки получить как можно больше биомассы необходимых растительных культур. Стимуляторы роста, созданные на основе отходов растительного происхождения, являются примером таких препаратов. Однако для того чтобы внести их в окружающую среду, необходимо изучить их токсичность в целях сохранения экосистем. Для этого широко используется биотестирование как наиболее простой, доступный и оперативный способ.

Под биотестированием (bioassay) обычно понимают процедуру установления токсичности среды с помощью тест-объектов, сигнализирующих об опасности независимо от того, какие вещества и в каком сочетании вызывают изменения жизненно важных функций у тест-объектов. Тест-объект (test organism) - организм, используемый при оценке токсичности химических веществ, природных и сточных вод, почв, донных отложений, кормов и др.

Целью работы является определение токсичности препарата «Рафитур» (РФУ) на ряде тест-объектов.

Объекты исследования: образцы (РФУ - экстракт растительного фиторегулятора урожайности), которые представляют собой порошки, полученные лиофильной сушкой водного экстракта клеточного сока картофеля после механохимической переработки и баромембранного разделения исходного растительного сырья на две фракции: концентрат - ретант  $\geq 30$  kDa, фильтрат - пермиат  $< 30$  kDa.

Токсичность препарата (при разных концентрациях) определялась на тест-объектах: дождевые черви (*Eisenia foetida*), дафнии (*Daphnia magna*), почвенные микроорганизмы, кресс-салат (*Lepidium sativum*).

Действие препарата на тест-объекты проявляются по разному, общей безопасной концентрации нет, для червей от 100 мг/кг, для дафний в условиях острого опыта 10 мг/л, в условиях хронического 1 мг/л.

Рекомендуемые производителем концентрации для использования препаратов  $10^{-3}$  –  $10^{-9}$ , что значительно меньше концентраций, оказавших негативное воздействие на тест-объекты в опытах. После разведения препараты со временем теряют свои свойства, поэтому данные образцы препаратов, при их использовании не должны оказывать негативного воздействия на окружающую среду.

### **СТРУКТУРА НАСЕЛЕНИЯ ПТИЦ БЕРЕЗОВЫХ ЛЕСОВ В ДОЛИНАХ РЕК СЕВЕРО-ЗАПАДА ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ**

**Зацаринный И.В., Варюхин В.С., Ефремова Е.С.**

ФГБОУ ВО Рязанский государственный университет имени С.А. Есенина, Рязань, Россия

*zatsarinny@mail.ru*

В процессе освоения территорий людьми неизбежно трансформируется природная среда, что существенно меняет естественную структуру населения животных. На северо-западе Мурманской области значительные изменения природной среды происходили с середины XX века. Выбросы предприятий цветной металлургии, поступавшие в те годы в атмосферу, оказали воздействие на различные экосистемы и, в частности, привели к изменениям в структуре березовых лесов. Усыхание растительности создало предпосылки для возникновения лесных пожаров на обширных площадях, что позволило процессам водной и ветровой эрозии превратить некоторые участки березовых лесов в безлесные территории. Последствия произошедшей ранее трансформации структуры растительности до сих пор хорошо заметны на отдельных участках, в том числе в долинах рек.

Цель работы: описать роль трансформации структуры березовых лесов в долинах рек в формировании населения птиц.

Полевые исследования выполнены в 2015 году. Обследованы долины рек: Колосйоки, Намайоки, Кувернериййоки, Шуониййоки, Мениккайоки.

Долинные березовые леса имеют самую сложную структуру населения птиц среди всех типов березняков района. Фоновые здесь пеночка-весничка, юрок, обыкновенная чечетка и белобровик, а также обыкновенная горихвостка и рябинник. В число видов птиц обычно встречаемых в березовых лесах по долинам рек входят: белая куропатка, ворона серая, ворон, свиристель, лесной конек, певчий дрозд, чиж и большая синица. В непосредственной близости от водотоков обычно встречаются варакушка и камышовая овсянка.

Состав орнитофауны долинных березовых лесов дифференцирован в зависимости от степени трансформации. В трансформированных лесах сохраняется фоновый видовой состав, но снижается количественное обилие птиц, и ниже видовое разнообразие в целом, что связано с особенностями структуры этих лесных экосистем. Березовые леса, находящиеся в 10-20 км от промышленных предприятий и менее пострадавшие от различного рода воздействий, обладают более разнообразной орнитофауной. Различия в структуре населения птиц выражены в зависимости от степени трансформации типичной структуры березовых лесов, а также от структуры самих лесных стадий, меняющейся в зависимости от ландшафтных особенностей речных долин.

### **НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕПРОДУКТИВНОЙ БИОЛОГИИ *HORDEUM L.***

**Имирсинова А.А., Эрматова Г.З., Миржалолова М.З.**

Андижанский государственный университет, Андижан, Узбекистан

*aziza1975@mail.ru*

Флора Узбекистана богата различными полезными видами, среди которых особое место занимают дикие сородичи культурных растений. К числу которых можно отнести видов родов *Hordeum L.*

Известно, что в настоящее время одной из важнейших мировых проблем является проблема сохранения биоразнообразия, в том числе и фиторазнообразия. К таким ценным растениям с полным

основанием могут быть отнесены представители семейства Poaceae, в том числе виды рода *Hordeum* L., многие из которых часто используются и как лекарственные и как кормовые. Целью данной работы было выявление особенностей процессов формирования генеративных структур, цветения, опыления и способности данного вида к семяобразованию и размножению в условиях его природного ареала.

Наблюдения проводили в условиях естественного произрастания *H.spontaneum* С.Koch. и *H. bulbosum* L. в горном Ангрёну.

*H.spontaneum* С.Koch., согласно данным литературы (Цвелев, 1976) и нашим наблюдениям, однолетний злак. Стебли 70-100 см высоты, толстоватые, прямые. Нижняя цветковая чешуя среднего плодущего цветка широко эллиптическая, голая, с остью длиной 7-15 см. Цветет в Ангрёну с апреле-июне. Анемофил.

*H.bulbosum* L., согласно данным литературы (Цвелев, 1976) и нашим наблюдениям, многолетний злак. Стебли 60-110 см высоты, у основания клубневидно утолщенные. Колосковые чешуи среднего колоска узколанцетные, с остью 1,2-1,8 см длины; нижняя цветковая чешуя среднего колоска с остью 2-3,6 см длины, у боковых колосков - безостые или коротко остистые. Цветет в мае-июне. Анемофил. Цветение колоса проходило в акробазипетальном типе.

Продолжительность цветения колоса в опытах варьировало от 4 до 5 дней с наибольшей интенсивностью во второй день. Цветение начинается в 6 часов, достигая своего пика в основном в утренние (8.00-8.30) и вечерние (18.30-19.30) часы. Так, в утренние часы при температуре 10-19<sup>0</sup>С и относительной влажности воздуха 80-90% в колосе *H.spontaneum* С.Koch.обычно распускается 43,1% цветка. В 14-16 часов у всех изученных видов распускается сравнительно мало цветков, так как в это время отмечаются самая высокая температура (24<sup>0</sup>С) и самая низкая относительная влажность воздуха 70-80% . В это время в колосе изученных видов наблюдается соответствует 11,2; 16,0; 17,2; 15,6; 5,0; 16,7% распутившихся цветков.

Таким образом, видов родов *Hordeum* L. хотя цветут в течение суток, однако подтверждают более высокую адаптивность к изменяющимся факторам: температуре и влажности. Это свидетельствует менее приспособленности к перекрестному опылению.

## ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА ИЗОФЕРМЕНТНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ В ПОПУЛЯЦИЯХ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ

Казакова Е.А., Волкова П.Ю., Гераськин С.А.

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, Обнинск, Россия

*elisabethafeb19@gmail.com*

На сегодняшний день существует дефицит данных об отдалённых эффектах хронического низкодозового облучения в природных популяциях. В частности, не до конца известно, как происходит адаптация популяций сосны обыкновенной, произрастающих в зоне радиоактивного следа аварии на ЧАЭС, к изменившимся условиям среды. Работы по изучению изоферментного полиморфизма позволяют прояснить, как изменяется генетическая структура облучаемых популяций. В сочетании с оценкой биохимической активности ферментов и антиоксидантного статуса составляющих популяцию организмов, они вносят вклад в разработку новых научно обоснованных принципов оценки влияния низкодозового техногенного воздействия на наземные экосистемы.

С помощью электрофоретических методов анализа был исследован полиморфизм ферментов глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, малатдегидрогеназы и лейцинаминопептидазы в популяциях сосны обыкновенной, населяющих участки Брянской области, загрязнённые радионуклидами в результате Чернобыльской аварии. Установлено, что с ростом мощности дозы хронического облучения (от 7.0 до 129.9 мГр/год) статистически значимо возрастает общая частота мутаций в изоферментных локусах изученных ферментов. Оценены показатели, характеризующие генетическую структуру исследуемых популяций. Не обнаружено статистически значимой корреляции доли редких аллелей с уровнем радиоактивного загрязнения. На самом загрязненном участке (129.9 мГр/год) хроническое радиационное воздействие приводит к увеличению эффективного числа аллелей по сравнению с контрольными участками. Внутривидовое разнообразие характеризуется высоким и средним уровнем изменчивости.

Активность изучаемых ферментов в семенах сосны обыкновенной с ростом уровня радиоактивного загрязнения не изменяется.

Таким образом, хроническое радиационное воздействие увеличивает общую частоту мутационных событий в локусах изучаемых ферментов. Наблюдаемые мощности дозы могут рассматриваться как фактор, способный модифицировать генетическую структуру популяций. Но, так как мутационные события в семенах сосны обыкновенной относительно редки, они не вносят значительного вклада в наблюдаемую активность фермента. Следовательно, происходящие под влиянием хронического облучения мутационные события не приводят к изменениям на более высоких уровнях биологической организации.



Для обоснования окончательных выводов о влиянии хронического облучения на популяции сосны обыкновенной ведется работа по анализу содержания низкомолекулярных антиоксидантов в тканях сосны.

### СЕМЕННАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ И МАССА СЕМЯН МАЛОЛЕТНИКОВ И ИХ СРАВНЕНИЕ С МНОГОЛЕТНИМИ РАСТЕНИЯМИ

Казанцева Е.С., Богатырев В.А., Лидер Е.Н.

ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, кафедра геоботаники,  
Москва, Россия

*biolenok@mail.ru*

Роль семени в жизни цветковых растений чрезвычайно велика. Если даже многолетники, возобновляющиеся преимущественно вегетативным путем, время от времени прибегают к семенному размножению, то у малолетних растений семя незаменимое звено в цепи поколений (Марков, 2012).

Исследования проведены в Карачаево-Черкесской Республике на территории Тебердинского государственного природного биосферного заповедника на горе Малая Хатипара, в.н.м. 2800 м. Изучение параметров семенного возобновления альпийских малолетников проводили по общепринятым методикам (Полевая геоботаника, 1960; Злобин, 2000).

Малолетние альпийские растения продуцируют различное число семян на побег в разные годы. Самая высокая семенная продуктивность, численность побегов и урожай семян были отмечены для *Sedum tenellum*, эти показатели также были высокими для *Draba hispida* и *Murbeckiella huetii*, низкими для *Androsace albana*, *Anthyllus vulneraria*, *Eritrichium caucasicum*, *Minuartia recurva* и *Trifolium badium*. У *Carum meifolium* отмечена высокая семенная продуктивность –  $125 \pm 7$  семян на побег, высокий урожай семян –  $721 \pm 246$  семян на квадратный метр, но численность генеративных побегов была не высокая –  $6 \pm 2$  побегов на квадратный метр. Самые крупные семена среди изученных малолетних видов отмечены у *A. vulneraria* – воздушно-сухая масса одного семени составила 3.39 мг. К растениям с семенами среднего размера (более 0.5 мг, но менее 2 мг) мы отнесли *A. albana*, *E. caucasicum*, *T. badium*. К мелкосемянным растениям, с массой семени менее 0.5 мг – *D. hispida*, *M. recurva*, *M. huetii*, *S. tenellum*.

При сопоставлении семенной продуктивности и массы семян между малолетними и многолетними растениями высокогорий Тебердинского заповедника, значимых отличий выявлено не было, но при этом у малолетников наблюдается тенденция снижения массы семян по сравнению с многолетниками.

Благодарности: работы выполнены при финансовой поддержке РФФИ - проекты № 11-04-01215, 14-04-00214 и РНФ – проект 14-50-00029.

### ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ РАЗЛИЧИЙ ПО ПРИСПОСОБЛЕННОСТИ НА ИСХОД КОНКУРЕНЦИИ ДВУХ ВИДОВ (КЛЕТОЧНО-АВТОМАТНАЯ МОДЕЛЬ)

Калмыков Л.В.<sup>1</sup>, Калмыков А.В.<sup>2</sup>, Калмыков В.Л.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия; <sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Российский университет дружбы народов, Москва, Россия; <sup>3</sup>ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Москва, Россия

*lev.kalmykov@gmail.com*

Наблюдаемое разнообразие трофически близких видов является одним из наиболее обсуждаемых вопросов в экологии, поскольку оно противоречит классическому принципу конкурентного исключения. Отсутствие общей индивидуально-ориентированной модели ресурсной конкуренции затрудняет объяснение этого противоречия. Для решения данной проблемы мы использовали нашу клеточно-автоматную модель экосистемы с двумя конкурирующими видами, которая позволяет исследовать индивидуально-ориентированные механизмы конкурентного сосуществования. Модель основана на физическом формализме активной среды и позволяет визуально наблюдать распространение и взаимодействие популяционных волн двух видов. Биологическим аналогом являются газонные травы, вегетативно размножающиеся с помощью ризом. Мы исследовали роль различий по приспособленности в механизмах ресурсной конкуренции на модели экосистемы с двумя трофически идентичными видами, конкурирующими за один ресурс. Степень приспособленности вида выражается вероятностью занятия свободного микроместообитания потомком особи данного вида в условии прямого конфликта интересов с особью конкурирующего вида. Виды различаются только по приспособленности. Модельную ситуацию, в которой приспособленность у видов одинакова при прочих равных условиях, мы рассматриваем как индивидуально-ориентированную нулевую модель конкуренции. Данная модель является альтернативой немеханистической нулевой модели Стивена Хаббела, которая не учитывает локальные взаимодействия между индивидами конкурирующих видов. Нулевая модель – это скорее исключительный случай, так как трудно ожидать, что реальные виды никак не различаются по приспособленности. Мы показали, что, несмотря на 10% различие

по приспособленности, два агрессивно размножающихся трофически идентичных вида могут устойчиво сосуществовать в одном гомогенном местообитании без компромиссов (trade-offs) и коопераций. Конкурентное исключение происходило лишь при значительных различиях по приспособленности (более 30%). В случае нашей нулевой модели виды устойчиво сосуществовали. Изменяя степень приспособленности вида, мы получили как случаи конкурентного исключения, так и случаи конкурентного сосуществования полных конкурентов. Наша модель позволяет понять механизмы возникновения наблюдаемого биоразнообразия.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 16-31-00516 мол\_а).

### **ИЗМЕНЕНИЕ ЧИСЛЕННОСТИ ПОСЕЛЕНИЙ РЕЧНОГО БОБРА (*CASTOR FIBER*) В БЕРЕЗИЧЕСКОМ ЛЕСНИЧЕСТВЕ НАЦИОНАЛЬНО ПАРКА «УГРА»**

**Карпухин С.Е.<sup>1,2</sup>, Девятков А.И.<sup>2</sup>, Алексеев А.С.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Государственное образовательное учреждение дополнительного образования Калужской области "Областной эколого - биологический центр", Калуга, Россия; <sup>2</sup>Экологический клуб "Stenus", Калуга, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВПО Калужский государственный университет им. К.Э. Циолковского, Калуга, Россия

*karpuhin88@gmail.com*

На территории Березического лесничества национального парка «Угра» (Козельский район Калужской области), начиная с 1999 года, экологическим клубом «Stenus» проводились учеты поселений бобра в бассейнах малых рек Трошенка и Ямная, ручья Чепчик и средней части реки Жиздра (от деревни Кричина, до села Березичи), включая её правобережные пойменные озера и низинные болота. К 2008-2009 гг. число поселений здесь достигло своего максимума (40-41 поселение). Условная численность бобра (в соответствии с пересчетом по коэффициенту В.К. Хлебовича) составила 184-187 особей. Череда засушливых лет и снижение запасов зимних кормов на малых реках к 2015 году уменьшило число поселений на этом участке до 26 (примерно 120 особей). Максимальное число озерных поселений (8) на этом участке пришлось на 2008 год. К концу 2015 года их число сократилось до четырех, что связано со значительным уменьшением водности водоемов. Число русловых поселений с плотинами на малых реках и ручьях сократилось в три раза (до трёх). Прудово-болотных поселений стало меньше в четыре раза (осталось два). Этому послужило значительное пересыхание большинства пойменных низинных болот. В 2008-2009 гг. было отмечено всего два прудово-русловых поселения, но к 2015 году их число увеличилось втрое. Все они приурочены к выходам ключей на малых реках Трошенка, Ямная и ручье Чепчик. Вероятно, на эти участки перекочевала часть семейных пар с поселений на высохших водотоках.

Установлено, что наибольшей стабильностью отличаются бобровые поселения на реке Жиздра, где, начиная с 2008 г. и по настоящее время (2015 г.) их число колеблется от 13 до 10-11. Стабильная кормовая база береговых пойменных лесов, ивняков и лугов, а так же достаточная водность реки Жиздры даже в самые сухие годы – идеальные условия для обитания бобра на территории национального парка "Угра".

### **ДОБАВЛЕНИЕ МИНЕРАЛЬНЫХ ФОРМ АЗОТА ВЛИЯЕТ НА МИНЕРАЛИЗАЦИЮ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОПАДОВ И ЛЕСНЫХ ПОДСТИЛОК**

**Квиткина А.К., Ларионова А.А.**

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

*aqvia@mail.ru*

Минерализация органического вещества в лесной подстилке – ключевой процесс биологического круговорота углерода. В нашей работе рассматривалось, как снижение C/N в опадах повлияло на скорости минерализации лабильных и стабильных пулов углерода и состав продуктов трансформации на примере 5 растительных опадов (некромасса цианобактерий, C/N=9; лиственный опад смешанного леса, C/N=32; опад хвои сосны, C/N=66, кора сосны, C/N=84 и ветки липы C/N=206). Опады инкубировали 403 сут в смеси песка с иллитом, 22°C, 80% ППВ, проветривали после каждого измерения CO<sub>2</sub> на газовом хроматографе. К исходным опадом добавляли раствор NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, регулируя C/N. Самый широкий диапазон значений C/N в варианте с ветками липы: C/N 190, 170, 150, 130 и 100, 50, 20, 10 и 5. Самый узкий: в некромассе цианобактерий до величины C/N 5 и 2.

Наиболее интенсивно разлагался лиственный опад с C/N=32, за 403 сут минерализовалось 48,5% углерода. Только 2,3% древесного опада (ветки липы) минерализовалось (C/N=206). Чем меньше C/N, тем интенсивней идёт разложение и потеря углерода биомассой (за исключением цианобактерий). Внесение минерального азота стимулировало минерализацию бедных азотом субстратов: древесного опада и хвои. Внесение азота привело к тому, что ветки стали разлагаться со скоростью листьев. Добавление минерального азота ингибировало разложение богатого азотом опада листьев и цианобактериальной массы.

Азот не оказывал влияния на разложение коры сосны В листовом опаде с C/N 32 после разложения C/N снизился до 21, в коре с C/N 84,4 до C/N 66. Однако по окончании эксперимента C/N в большинстве вариантов не менялся. Это объясняется тем, что скорость эмиссии углерода и азота была одинаковой. Интересно, что при разложении веток без внесения минерального азота отмечено увеличение C/N с 205 до 274. По результатам <sup>13</sup>C-ЯМР, внесение азота изменяло состав продуктов трансформации хвои сосны: увеличилось содержание алкилов и арилов (35,6% алкилов и 16,8% арилов при C/N=5 против 23,7% алкилов и 12,4% арилов без добавления азота).

Поступление минерального азота в лесные экосистемы может ускорить минерализацию веток лиственных деревьев в 6-10 раз, увеличивая эмиссию углекислого газа из экосистемы.

Работа выполнена при поддержке РФФИ № 14-04-01738, РФФИ № 14-04-01884.

### **ЭНЕРГИЯ ПРОРАСТАНИЯ ПОЛБЫ-ДВУЗЕРНЯНКИ ПРИ УСЛОВИИ ПРЕДПОСЕВНОЙ ОБРАБОТКИ СЕМЯН СЕРНОКИСЛЫМ КУПРУМОМ**

**Киш Ю.Ю., Вакерич М.М., Николайчук В.И.**

Ужгородский национальный университет, Ужгород, Украина

*vakerich@yandex.ru*

Изучение адаптивных реакций растений к антропогенной нагрузке, действие которой постоянно усиливается, в том числе и к загрязнению тяжелыми металлами, исключительно актуальное. Для поиска способов защиты растений от негативного влияния тяжелых металлов и уменьшения уровня их аккумуляции в сельхоз продукции, необходимо изучение механизмов поступления последних в организм растения, их фитотоксического влияния, способов повышения устойчивости к нему, которые выработались растениями в процессе эволюционного развития.

Полба (*Triticum dicoccum* L.) – это тетраплоидная пшеница-двухзернянка, образованная путем гибридизации двух диплоидных диких пшениц – *Triticum uratru* L., а также пока неидентифицированного *Aegilops*. Современный интерес к полбе обусловлен тем, что она неприхотлива к почвам, засухоустойчива, устойчива к низким температурам и болезням, хорошо переносит весенние заморозки. По ряду показателей она лучше, чем обычная мягкая пшеница. Полба характеризуется быстрым созреванием, хорошо растет на черноземах и глинистых почвах.

Производительность полбы, как и других зерновых культур, во многом зависит от энергии прорастания семян, она влияет на формирование дружных всходов. Учитывая это, мы исследовали энергию прорастания семян полбы при условии их предпосевной обработки различными концентрациями CuSO<sub>4</sub>. Исследования проводились в лабораторных условиях. В опытах использовались следующие концентрации CuSO<sub>4</sub>: 175, 350, 1050, 1750, 3500, 35000 мкм. В качестве контроля использовалась дистиллированная вода.

Полученные нами результаты показали, что низкая концентрация CuSO<sub>4</sub> стимулировала энергию прорастания семян по сравнению с контролем почти на 10%. В рамках концентраций от 350 до 35000 мкм, сернокислый купрум проявлял уже ингибирующий эффект на энергию прорастания семян, свидетельством чего является более низкий, в сравнении с контролем, данный показатель, а при использовании концентрации 35000 мкм CuSO<sub>4</sub> семена вообще не прорастали.

Таким образом, действие CuSO<sub>4</sub> на процесс прорастания семян полбы обратно пропорционально зависел от действующих концентраций CuSO<sub>4</sub>. При использовании низкой концентрации (175 мкм) наблюдалась стимуляция энергии прорастания. При использовании более высоких концентраций сернокислого купрума, для предпосевной обработки семян, наблюдался противоположный ингибирующий эффект.

### **ВЛИЯНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОЛЕННОСТИ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ НА НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ СТРЕСС-РЕАКЦИИ ГОЛАРКТИЧЕСКОГО ВИДА АМФИПОД *GAMMARUS LACUSTRIS SARS***

**Кондратьева Е.С., Верещагина К.П., Гурков А.Н., Бедулина Д.С., Тимофеев М.А.**

Научно-исследовательский институт биологии при ФГБОУ ВО ИГУ, Иркутск, Россия

*lizzarium@gmail.com*

В данной работе было исследовано влияние двух абиотических факторов среды – температуры и солености на механизмы стресс-резистентности голарктических амфипод *G. lacustris*. Для оценки влияния изменения вышеназванных факторов на активность механизмов терморезистентности, определяли изменение содержания продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) (диеновых конъюгатов (ДК), триеновых конъюгатов (ТК) и оснований Шиффа (ОШ)), белков теплового шока (БТШ70), а также изменение активности ферментов антиоксидантной системы (пероксидазы, каталазы и глутатион S-трансферазы).

Для определения влияния длительного воздействия повышенной солености среды обитание на неспецифические механизмы стресс-ответа амфипод *G. lacustris* использовали следующую схему

эксперимента: экспонировали 2 группы животных, одну группу содержали в контрольных условиях, вторую в воде с соленостью 15 г/л. Выбор концентрации 15 г/л был обусловлен тем, что в оз. Шира (республика Хакасия) *G. lacustris* свободно обитает и размножается при данной концентрации соли. Акклимацию амфипод проводили в течение одного месяца при температуре 6°C. В ходе акклимации производили периодическую смену воды и кормление. Затем экспонировали обе группы амфипод в условиях острой гипертермии 30°C.

Показано, что у амфипод, предварительно акклимированных в пресной воде в течение месяца, происходило снижение содержания ДК, ТК и ОШ в составе нейтральных липидов и фосфолипидов при воздействии температуры 30°C. Воздействие температуры 30°C на амфипод, предварительно акклимированных в воде с соленостью 15‰ в течение месяца, приводило к статистически значимому снижению содержания только ОШ в составе нейтральных липидов после 3 ч экспонирования, в то время как в составе фракции фосфолипидов при данных условиях изменений в содержании продуктов ПОЛ не наблюдали. Воздействие температуры 30°C как отдельно, так и совместно с повышенным содержанием солености 15‰ на амфипод *G. lacustris* не приводило к изменениям активности антиоксидантных ферментов и содержания БТШ70. *G. lacustris* является голарктическим видом и способен обитать в широком диапазоне окружающей среды, что может являться причиной его высокой резистентности по отношению к температурному и соленостному стрессовым воздействиям.

Настоящее исследование проведено при частичной финансовой поддержке проектов МИНОБРНАУКИ РФ (ГЗ 1354–2014/51), РНФ (14-14-00400), CRDF (FSCX-15-61168-0), РФФИ (14-04-00501; 15-04-06685; 15-54-04062 (110-15-408); 15-29-01003).

## ОЦЕНКА АЛЛЕЛОПАТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СЕМЯН ИНВАЗИОННЫХ РАСТЕНИЙ

**Коростелева Т.П., Дербуш О.Г., Романенкова А.А.**

ФГБОУ ВПО Брянский государственный университет им. И. Г. Петровского, Брянск, Россия

*tatyana.crex1995@yandex.ru*

Инвазионные виды эффективно внедряются в растительные сообщества и конкурируют с аборигенными видами. Одна из гипотез успешности инвазионных видов основывается на аллелопатических взаимодействиях растений.

Цель работы – определение аллелопатической активности семян инвазионных растений *Acer negundo*, *Heracleum sosnowskyi* и *Xanthium albinum*. *Acer negundo* – североамериканский лесной вид, эргазофит, агро-эпикофит, растение-трансформер. *Heracleum sosnowskyi* – кавказский горнолесной вид, эргазофит, агро-эпикофит, растение-трансформер. *Xanthium albinum* – центрально-американский вид, ксенофит, агро-эпикофит.

Для проведения работы использовался метод (I) сэндвич-тест и метод (II) проращивания на фильтровальной бумаге.

I. Чашку Петри диаметром 90 мм заливали 5 мм 2% агара. После застывания агара на поверхность равномерно распределили измельченный растительный материал массой 10 и 50 мг (семена растений), а затем наносили второй слой агара (5 мм), на поверхности которого раскладывали 5 семян салата.

II. Измельченный растительный материал массой 10 и 50 мг распределяли на фильтровальной бумаге диаметром 85 мм вместе с 5 семенами салата и добавляли 7 мл дистиллированной воды.

Семена салата предварительно промывали в слабом растворе  $KMnO_4$  2 мин. Чашки помещали в термостат при температуре 22°C на 72 часа, после чего определяли длину корня. Повторность опыта трехкратная. Для обработки результатов применялся однофакторный дисперсионный анализ.

Достоверно установлено, что биологические активные вещества семян оказали ингибирующее влияние на рост проростков салата; увеличение концентрации усиливает замедление роста корня. Наиболее эффективные результаты показал II метод. Навески 10 и 50 мг вызвали подавление роста корней тест-объекта соответственно на 15,0 и 32,4 % (*Acer negundo*), 59,8 и 71,0 % (*Heracleum sosnowskyi*), 41,7 и 43,0 % (*Xanthium albinum*).

## ВЫЯВЛЕНИЕ СВЯЗИ МЕЖДУ АКТИВНОСТЬЮ ТИРОЗИНАЗЫ ГЕМОЛИМФЫ И ЭКОЛОГИЧЕСКИМ СТАТУСОМ МЕДИ У ПРЕСНОВОДНЫХ ЛЕГОЧНЫХ МОЛЛЮСКОВ *PLANORBARIUS CORNEUS*

**Кудрявцева П.С.**

ГБОУ ВО Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена,  
Санкт-Петербург, Россия

*silin753@mail.ru*

Среди гуморальных факторов иммунного ответа беспозвоночных выделяют два купроэнзима: тирозиназу гемолимфы, которая индуцирует образование активных метаболитов кислорода (АМК), и СОД1, защищающую ткани от действия АМК. Однако данные о экологических факторах, влияющих на активность

этих ферментов, механизме их синтеза и транспорта, как и о метаболизме меди у беспозвоночных в целом, носят фрагментарный характер. Общепринято, что тирозиназа гемолимфы синтезируется гемоцитами, однако, имеется ряд исследований, подтверждающих ее наличие в других тканях беспозвоночных животных. При этом отсутствуют данные о родстве секретируемого и тканевого ферментов, не изучено влияние статуса меди на их активность.

Целью настоящего исследования является анализ распределения тирозиназы в тканях моллюска *Planorbarius corneus* (Gastropoda, Pulmonata), ее активности и влияния на содержание фермента и его активность экологического статуса меди.

По данным FAAS удельное атомное содержание меди снижается в ряду гонада > гепатопанкреас > голова > нога > гемолимфа. Концентрация меди в гемолимфе не зависит от концентрации меди в воде и поддерживается на постоянном низком уровне вне зависимости от заражения. По данным биохимического и гистохимического анализов тканеспецифическое распределение тирозиназы соответствует профилю распределения меди в теле моллюска. Активность тирозиназы гемолимфы не зависит от концентрации меди в воде, но достоверно выше у зараженных моллюсков. Показано, что искусственное повышение концентрации свободных ионов меди в среде обитания моллюска приводит к его гибели, при этом атомное содержание меди в органах не меняется. В работе для изучения круговорота меди в теле моллюска использован  $Ag(I)$ , который является изoelektronным близнецом  $Cu(I)$ .  $Ag(I)$  связывается с медь-связывающими мотивами белков метаболической системы меди и переносится ими. Показано, что серебро, по сравнению с медью, обладает меньшим токсическим эффектом и накапливается в органах в обменной форме. В условиях искусственного дефицита меди тирозиназа гемолимфы теряет активность. Высокий уровень тирозиназы, чувствительной к тиомочевине, обнаружен в платформе и клетках кладки. В работе обсуждаются подходы к изучению метаболизма меди у моллюсков, его филогенетические особенности и роль в реализации защитных реакций.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 12-04-32177 мол\_а и гранта Министерства образования и науки РФ № 6.1278.2014/К

## **ВРЕМЕННАЯ ДИНАМИКА ЧАСТОТЫ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ В ПОПУЛЯЦИЯХ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ, ПОДВЕРЖЕННЫХ ХРОНИЧЕСКОМУ ОБЛУЧЕНИЮ**

**Кузьменков А.Г., Васильев. Д.В.**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский Научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, Обнинск, Россия

*hakker@mail.ru*

Важно иметь представление о процессах, происходящих в популяциях основных лесобразующих пород произрастающих на пострадавших территориях, знать о том, как происходит их адаптация к новым условиям, снижается ли число негативных эффектов облучения с ходом естественной дезактивации территории. Особый интерес представляют исследования на территориях пострадавших в результате радиационных катастроф, таких как авария на ЧАЭС.

В связи с этим нами проведено комплексное многолетнее исследование, позволившее проследить временную динамику мутационного процесса в природных хронически облучаемых популяциях сосны в отдаленный период после аварии на Чернобыльской АЭС.

Для аппроксимации изменения цитогенетических нарушений во времени использовали регрессионный анализ. Для регрессионного анализа описания зависимости средних значений частоты АК в корневой меристеме проростков от времени наблюдения применялись девять моделей. После получения аппроксимирующих уравнений проводили сравнение качества их аппроксимационных свойств. Во-первых, оценивали, насколько хорошо выбранная функция описывает экспериментальные данные, для чего использовали основные критерии дисперсионного анализа: остаточная сумма квадратов  $SSR$ ; статистика Фишера  $F$ ; и множественный коэффициент корреляции  $R^2$ . Во-вторых, при помощи критерия структурной идентификации  $T$ , а так же при помощи информационного критерия Акаике, учитывали ухудшение прогностических свойств моделей при увеличении числа свободных параметров  $n$ , требующих верификации. И, наконец, проверяли значимость достигнутого с помощью выбранной модели улучшения качества аппроксимации, для чего использовали критерий Хайека.

Изучение временной динамики частоты цитогенетических нарушений в корневой меристеме проростков семян сосны обыкновенной в течение 11 лет показало, что в интактных популяциях частота АК может быть описана математическими моделями, которые отражают циклический характер изменения биологических параметров во времени, а так же замечена тенденция увеличения частоты АК, что скорее всего связано с ростом антропогенного воздействия. В произрастающих в условиях хронического радиационного воздействия популяциях преимущества циклических функций пропадает. Полученные результаты позволяют сделать вывод, что длительное обитание в условиях хронического радиационного воздействия приводит к нарушению естественных закономерностей популяционных показателей. Так же на

импактных участках, в отличие от контрольных, наблюдается снижение частоты АК, что скорее всего связано с естественной дезактивацией территорий.

### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОСОРБЦИОННОЙ ВОЗМОЖНОСТИ ИММОБИЛИЗОВАННОЙ МИКРОФЛОРЫ ДЛЯ ОЧИСТКИ СТОЧНЫХ ВОД

**Кулишов С.А., Лыков И.Н.**

ФГБОУ ВПО Калужский государственный университет им. К.Э. Циолковского, Калуга, Россия

*botanxim@ya.ru*

Для нормальной жизнедеятельности организмов, в клетки постоянно должны поступать биогенные элементы – азот, фосфор, калий и т.д. Накопление соединений азота и фосфора в высоких концентрациях – эвтрофикация - вызывает угнетающие условия для гидробионтов. В результате в водоемах происходит нарушение процессов саморегуляции в биоценозах, в них начинают доминировать виды, наиболее приспособленные к таким условиям (хлорококковые водоросли, цианобактерии), вызывая цветение воды, что также негативно сказывается на жизни гидробионтов. Для снижения эвтрофикации водоемов, требуется совершенствование технологической цепи очистки сточных вод. Значительную эффективность показывает биосорбционная технология очистки с использованием иммобилизованной на полимерных носителях микрофлоры.

Исследование физико-химических параметров эффективности биосорбционной очистки хозяйственно-бытовых сточных вод проводилось с использованием полимерных модулей фирмы «СОТЕЛ».

Результаты физико-химического исследования сточной воды до и после очистки с использованием модульных биопленок (температура воды 15-20 °С.)

Показатели	Ед. изм.	Значение показателя		Эффективность очистки, %
		до очистки	после очистки	
Азот аммонийный	мг/л	40 ± 10	0,5 ± 0,3	99,8
Азот нитратный	мг/л	20 ± 3	0,04 ± 0,001	99,9
Фосфаты	мг/л	8,5 ± 1,5	0,1 ± 0,05	99,9

После окончания цикла очистки сточной воды, наблюдаемые значения контролируемых показателей значительно снижались. Микробиологические исследования показывают, что в состав биопленок входят бактерии, простейшие и грибки. В составе биопленок в настоящей работе идентифицированы простейшие (амебы, корненожки и инфузории), нитрифицирующие бактерии (*Nitrosomonas*, *Nitrobacter*), зооглеи, дрожжи и плесневые грибы. В большом количестве в составе микробной ассоциации биопленок присутствуют бактерии рода *Pseudomonas*. Высокая эффективность очистки стоков с помощью биопленок, позволяет значительно снижать степень эвтрофикации водоема, тем самым сохраняя его биоценоз. Исследования в этой области с учетом новых видов загрязняющих веществ продолжаются.

### ИЗМЕНЯЕТСЯ ЛИ УРОЖАЙ СЕМЯН АЛЬПИЙСКИХ РАСТЕНИЙ ПРИ ДОЛГОВРЕМЕННОМ ВНЕСЕНИИ ФОСФАТОВ?

**Лавренов Н.Г., Олимпченко В.Г.**

ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, кафедра геоботаники, Москва, Россия

*nikitamailkemer@yandex.ru*

Продукция растений в естественных сообществах зачастую лимитирована доступностью минерального питания в почве. Устойчивость популяций многих видов растений напрямую зависит от успешности их семенного размножения, которая во многом определяется урожаем семян (числом семян, продуцируемых особями одного вида в пересчете на единицу площади сообщества). Эта величина напрямую зависит от числа генеративных побегов и их семенной продуктивности (число созревших семян на одном генеративном побеге).

В связи с большим содержанием фосфора в генеративных органах растений, мы предположили, что увеличение его доступности должно вызвать значимое увеличение урожая семян растений альпийского пояса, где фосфор находится в дефиците. Экспериментальные площадки по изучению реакции растений на внесение элементов минерального питания были заложены в альпийском поясе Северо-Западного Кавказа (Тебердинский заповедник, отрог г. Малая Хатипара) в 1998 году. Эксперимент состоял из 6 вариантов: контроль, полив при количестве осадков ниже нормы эвапотранспирации – H<sub>2</sub>O, ежегодное внесение азота – N, фосфора – P и совместно азота и фосфора – NP, известкование – Ca (для снижения почвенной

кислотности, раз в три года). Для учета семенной продукции и численности генеративных побегов мы выбрали по 3 вида в четырех сообществах: *Anemone speciosa*, *Carum caucasicum* и *Campanula tridentata* — на альпийских пустошах; *Festuca varia*, *Leontodon hispidus* и *Nardus stricta* — на пестроовсянищевых лугах; *Geranium gymnocaulon*, *Hedysarum caucasicum* и *Anthoxanthum odoratum* — на гераниево-копеечниковых лугах; *Sibbaldia procumbens*, *Pedicularis nordmanniana* и *Taraxacum stevenii* — на альпийских коврах. При сравнении данных по вариантам с внесением фосфора (Р и NP) и без него (все остальные) мы выявили, что лишь у двух видов урожай семян значительно изменяется: у *Carum caucasicum* — уменьшается (без Р —  $278 \pm 23$  семян/м<sup>2</sup>, здесь и далее, с Р —  $100 \pm 17$ ,  $t_{st}=6.1$ ), у *Festuca varia* — увеличивается (без Р —  $3021 \pm 309$ , с Р —  $7348 \pm 668$ ,  $t_{st}=5.9$ ).

Таким образом, наша гипотеза о значимом влиянии фосфора на развитие генеративной сферы оказалась справедлива лишь для одного из 12 изученных видов альпийских растений.

## ГУМИНОВЫЕ ВЕЩЕСТВА ТОРФОВ РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ТУЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ И ИХ ДЕТОКСИЦИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА ПО ОТНОШЕНИЮ К ИОНАМ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Леонтьева М.М., Богатырев Ю.В.

ФГБОУ ВО Тульский государственный университет, Тула, Россия

*mani.leontyeva@gmail.com*

Гуминовые вещества (ГВ) – важная составная часть органической массы каустобиолитов. Они контролируют геохимические потоки тяжелых металлов в окружающей среде, поэтому создание моделей биогеохимических циклов тяжелых металлов невозможно без учета взаимодействия с ГВ.

Цель работы - определить сорбционные и детоксицирующие свойства гуминовых веществ по отношению к ионам Pb(II), Zn(II).

Объекты исследования – ГВ, выделенные из черноольхового низинного и сфагнового переходного торфа. Содержание ионов тяжелых металлов в растворе над гуминовыми веществами в процессе сорбции определяли атомно-абсорбционной спектрометрией.

Изотермы сорбции ионов Pb(II), Zn(II) на ГВ аппроксимировали уравнениями Фрейндлиха и Ленгмюра, ионов Zn(II) – уравнением Генри, при этом предельной адсорбции не наблюдалось. Максимальная сорбируемость ионов Pb(II) на гуминовых веществах:  $0,4 \pm 0,05$  мг/г;  $K_{\text{сорб.}} = 1$ ;  $\Delta G = -16$  кДж/моль; константы скорости сорбции  $K_v = 0,01$  с<sup>-1</sup>.

Методом конкурентного комплексообразования рассчитаны константы устойчивости нерастворимых комплексов:  $K_{\text{уст. (ГВ-Pb(II))}_{\text{чнт.}} = 3 \cdot 10^6$ ,  $(\text{ГВ-Pb(II)})_{\text{спт.}} = 1 \cdot 10^6$ .

Методом биотестирования определяли детоксицирующую способность ГВ по отношению к ионам Pb(II), Zn(II).

По скринингу наиболее чувствительны к Pb(II), Zn(II) оказались микроорганизмы *Debaryomyces hansenii* J-158, *E.Coli*. Концентрация металлов, при которой наблюдается незначительный рост микроорганизмов: 4 ПДК Pb(II) (120 мг/л), 3 ПДК Zn(II) (150 мг/л). Биологическое действие ГВ на рост микроорганизмов изучалось в диапазоне концентраций 25 мг/л – 100 мг/л.

Рассчитывали коэффициенты детоксикации (D) и константы детоксикации ( $K_{\text{дет.}}$ );  $D(\text{ГВ-Pb(II)-D.Hansenii})_{\text{чнт.}}$ : от 0,218 до 0,598,  $K_{\text{дет.}} = 0,008$ ;  $D(\text{ГВ-Pb(II)-D.Hansenii})_{\text{спт.}}$  от 0,308 до 0,912,  $K_{\text{дет.}} = 0,012$ .  $D(\text{ГВ-Zn(II)-E.Coli})_{\text{чнт.}}$ : от 0,607 до 0,623,  $D(\text{ГВ-Zn(II)-D.Hansenii})_{\text{чнт.}}$  от 158 от 0,574 до 0,616.  $D(\text{ГВ-Zn(II)-E.Coli})_{\text{спт.}}$  от 0,629 до 0,682;  $D(\text{ГВ-Zn(II)-D.Hansenii})_{\text{спт.}}$  от 0,592 до 0,609. При минимальном значении D происходит связывание Pb(II) с ГВ только в растворе за счет образования комплексов Pb(II) - ГВ. При максимальном значении - помимо образования гуматов свинца в растворе, происходит связывание ионов Pb(II) с ГВ, адсорбированными на поверхности клеток дрожжей, следовательно детоксицирующий эффект проявляется эффективнее. Для ионов Zn(II) детоксицирующий эффект всех ГВ наблюдается при концентрации 25 мг/л и 100 мг/л. Что связано со связыванием ионов Zn(II) с ГВ, сорбированными на поверхности клеток микроорганизмов.

## ИНВАЗИВНЫЕ ВИДЫ РАСТЕНИЙ И ИХ РАСПРОСТРАНЕНИЕ, НА ПРИМЕРЕ БОРЩЕВИКА СОСНОВСКОГО

Лизунова И.Е.

ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет - МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия

*iralira@yandex.ru*

Занос чужеродных видов и их распространение могут вызвать необратимые экологические катастрофы. Соответственно, проблема инвазий в начале XXI века становится важнейшей в плане обеспечения экологической безопасности биоценозов.

Количество инвазивных видов в Европейской части России стремительно растёт. К ним относят:

недотрога железистая (*Impatiens glandulifera* Royle), эхиноцистис лопастной (*Echinocystis lobata* Michx.) Torr. et. Gray), череда облиственная (*Bidens frondosa* L.), мелкопестник канадский (*Conyza canadensis* L.) Cronq, люпин многолистный (*Lupinus polyphyllus*), циклахена (*Cyclachaena*) и множество др. Особым случаем инвазивности является борщевик Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden.), на борьбу с которым тратится в европейских странах в среднем 650 долларов/га. Борщевик опасен не только вытеснением других видов из биоценозов, но и фотосенсибилизирующим эффектом, т.е. свойством усиливать чувствительность кожи человека на свету, после соприкосновения с борщевиком ожоги проходят очень болезненно и долго не заживают. Такие ожоги объясняются содержанием фуранокумаринов в борщевике.

Объектом нашего исследования стал борщевик Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden.), а предметом аллелопатические свойства борщевика в механизме распространения растений и отношений между растениями.

Наши исследования проводились в три этапа: полевые наблюдения, лабораторные исследования и вегетационные опыты.

Мы выявили, что в течение первых 5-7 лет растительное сообщество «дичающих» агроэкосистем было представлено разнотравно-бурьянистой растительностью, куда входили пырей ползучий, тимopheевка луговая, лисохвост луговой, щавель конский, полынь горькая, чертополох курчавый, тысячелистник обыкновенный, а в микропонижениях – осока, вейник и другие виды.

Для выявления устойчивости борщевика к некоторым видам антропогенного воздействия, было проведено исследование реакции молодых растений борщевика на резкое повышение концентрации солей в почве и изменение её pH. После обработки, по истечении пяти суток, опытные растения полностью погибали, причём действие щелочного раствора было более агрессивным, но по истечении 10 дней борщевик в местах обработки NaOH возобновлял рост и развитие. Растения борщевика, обработанные 5-ти молярным раствором NaCl, погибали окончательно. При этом даже корневая система полностью погибала под действием резкой концентрации соли. Из этого следует, что борщевик Сосновского не способен заселять территории, загрязнённые отходами химических производств.

Полученные результаты можно использовать при борьбе с распространением борщевика, как минимум вдоль автотрасс и железных дорог.

Лабораторные и вегетационные исследования показали инвазивные стороны борщевика, а также его ингибирующее влияние на окружающие растения, вызванное в ряде случаев содержанием фуранокумаринов: ксантотоксина, изопимпинеллина, сфондина, бергаптена и др.

### ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ У БАЙКАЛЬСКИХ ЭНДЕМИЧНЫХ АМФИПОД *Gmelinoides fasciatus* В УСЛОВИЯХ ГРАДИЕНТНОГО ПОВЫШЕНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ

Лубяга Ю.А.<sup>1</sup>, Емшанова В.А.<sup>2</sup>, Мадьярова Е.В.<sup>2</sup>, Аксенов-Грибанов Д.В.<sup>2</sup>, Тимофеев М.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия; <sup>2</sup>Научно-исследовательский институт биологии при ФГБОУ ВО ИГУ, Иркутск, Россия

yuliya.a.lubyaga@gmail.com

Реликтовый байкальский вид амфипод *Gmelinoides fasciatus* (Amphipoda, Crustacea) представляет собой уникальный объект для исследований адаптивных способностей гидробионтов в аспекте проблемы биологических инвазий и изменений климатических условий. В естественном ареале распространение вида ограничено литоралью Байкала. В середине XX века *G. fasciatus* был интродуцирован в европейские водоемы, где, вид приспособился к обитанию в новых условиях и в дальнейшем широко распространился в водоемах европейской части России, став массовым видом-вселенцем.

Целью настоящего исследования являлась оценка влияния градиентного повышения температуры среды на активности ферментов антиоксидантной защиты байкальского вида амфипод *G. fasciatus*.

В ходе исследования были проведены эксперименты по экспонированию рачков в условиях постепенного повышения температуры среды с 6°C (средняя температура среды обитания, температура акклимации) до температуры 31°C (температура, при которой отмечали смертность 100% особей). Скорость изменения температуры составила 1°C в час.

Результаты показывают, что при градиентном повышении температуры у *G. fasciatus* происходит увеличение активности каталазы. Так, при достижении температур 19 и 29°C можно наблюдать статистически достоверное повышение активности каталазы относительно контрольных значений. В то же время, статистически достоверных изменений активности пероксидазы и глутатион S-трансферазы при экспозиции в условиях изменения температуры среды, отмечено не было.

Увеличение активности ферментов антиоксидантной системы связано с повышением образования эндогенных активных форм кислорода при повышении температуры среды. Таким образом, повышение активности каталазы к окончанию экспозиции указывает на то, что такие температуры являются стрессовыми для данного вида. Однако, отсутствие изменений в активности пероксидазы и глутатион



S-трансферазы, в свою очередь, подтверждает ранее полученные данные о том, что вид *G. fasciatus* является термоустойчивым видом.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке грантов ГЗ 1354–2014/51, РФФ 14-14-00400, CRDF FSCX-15-61168-0, РФФИ 16-34-60060, 14-04-00501, 15-04-06685, 16-34-00687.

### МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭКОЛОГИЯ И ФИЛОГЕНИЯ СИНАНТРОПНЫХ ФОРМ ДОМОВЫХ МЫШЕЙ *MUS MUSCULUS*

Мальцев А.Н.

ФГБУН Институт проблем экологии и эволюции им.А.Н.Северцова РАН, Москва, Россия

*aleks.maltcev@gmail.com*

На территории России и ближнего Зарубежья авторы выделяют несколько морфологически отличающихся подвидов *M.musculus* (*M.m.musculus*, *M.m.wagneri*, *M.m.gansuensis*) (Коробицина, Якименко, 2004). Задача настоящего исследования состояла в изучении молекулярной экологии и генетической изменчивости разных подвидов и форм *M. musculus*. Материал (96 домовых мышей, относящихся к виду *M. musculus*) собран на территории России, Молдовы, Армении, Азербайджана, Казахстана и Туркменистана.

В 96 последовательностях длиной 989 пн обнаружено 50 полиморфных сайтов и два консервативных участка в позициях 371-679 и 681-732. Следует отметить крупную делецию, встречающуюся в 65 образцах всех популяций, длиной 88 пн. В 7 образцах из 4 популяций (Цимлянские пески, Московская область, Кишинёв, Забайкальский край), характеризующихся к тому же большим количеством переменных сайтов, идентифицирована вставка длиной 89 пн. Максимальные значения гаплотипического и нуклеотидного разнообразия отмечены в популяциях *M.m.musculus* из Цимлянских песков и г.Кишинёва. Высокие значения этих характеристик, по-видимому, свидетельствуют в пользу того, что в их состав входят особи из нескольких ранее изолированных популяций (Avice, 2000). Ряд фактов указывают на их гибридное происхождение. В выборках домовых мышей *M.m.musculus* (г.Ишим), *M.m.gansuensis* (Ю.Забайкалье), *M.m.wagneri* (Казахстан, озеро Зайсан) и выборке из естественной зоны гибридизации (Закавказье, Армения) зарегистрировано высокое генное разнообразие (H) и низкая нуклеотидная изменчивость (π). В остальных популяциях *M.m.wagneri* (Астрахань), и *M.m.musculus* (Москва и Московская область) генное разнообразие и нуклеотидная изменчивость характеризовались средними значениями. Результаты изучения генетических дистанций показали существование трёх филогенетических групп *M. musculus*, населяющих территорию России и Ближнего Зарубежья. Первую из них составляют домовые мыши из зоны гибридизации Закавказья. Они характеризовались наибольшей генетической дивергенцией от других гаплогрупп по данным r-дистанции, высоким генным разнообразием и относительно большим количеством трансверсий. Полученные нами данные подтверждают заселение Закавказья линией *M.musculus* (или предковой формой), родственной домовым мышам Восточной Европы. Во вторую филогенетическую линию вошли домовые мыши, обитающие на юге Западной Сибири (г.Ишим). Работа выполнена при поддержке гранта президента РФ № МК-3909.2015.4.

### ВЫСОТНО-ПОЯСНОЕ РАСПРОСТРАНЕНИЕ ЖУЖЕЛИЦ РОДА *CARABUS* L., 1758 (COLEOPTERA: CARABIDAE) В СЕВЕРНОЙ ОСЕТИИ-АЛАНИИ

Марютин Д.В.

Экологический клуб "Stenus", Калуга, Россия

*amid0002@yandex.ru*

Материалом являлись коллекции клуба «Stenus» и сборы авторов за 2012-2015 гг. с территории Северной Осетии-Алании, охватывающие все высотно-растительные пояса. Всего обработано более 6,5 тыс. экз. 27 видов из 16 подродов рода *Carabus*.

В субнивальном поясе отмечен три подвида одного вида - *Carabus boeberi* M.Ad. из порода *Cechenochilus*. В альпийском поясе кроме него были учтены: *C. (Pachycarabus) staehlini* M.Ad., *C. (Microplectes) riedeli* Men. и *C. (Sphodristocarabus) armeniacus* Mnh.

В субальпийском поясе, к видам, отмеченным в альпике, прибавилось еще девять: *C. (Trachycarabus) bosporanus* Fisch. ssp. *tscherkessicus* Heinz & Korge, *C. (Tomocarabus) decolor* Fisch., *C. (Procrustes) clypeatus* M.Ad., *C. (Pachycarabus) koenigi* Ganglb., *C. (Tribax) kasbekianus* Kr., *C. (T.)fossiger* Chaud., *C. (T.) osseticus* M.Ad., *C. (Microtribax) georgiensis* Gottw. и *C. (Megodontus) exaratus* Quens.

В верхнегорном лесном поясе учтено 17 видов. Кроме перечисленных выше: *C. (Eucarabus) cumanus* Fisch., *C. (Oreocarabus) cribratus* Quens., *C. (Tomocarabus) convexus* F. ssp. *convexus* F. и *C. (Sphodristocarabus) adamsi* M.Ad. ssp. *subcyaneus* (Kr.) и *C. (Tribax) steveni* Men. ssp. *schamyli* Hampe. Здесь не встречаются высокогорные виды - *C. riedeli* и *C. boeberi*.

Среднегорный лесной пояс самый богатый видами рода *Carabus*. Перестают встречаться *C.staehlini* и *C.armeniaceus*, но прибавляются редкие виды: *C. (Procerus) caucasicus* M.Ad., *C. (Tomocarabus) bessarabicus*

Fisch. ssp. *concretus* Fisch., *C. (Pachystus) hungaricus* F. ssp. *mingens* Quens. Только в аридной Чмийской котловине единожды был отмечен ксеробионтный «закавказский» вид *C. (Mimocarabus) maurus* M.Ad. Здесь же отмечен низкогорный, гигрофильный *C. (Carabus) granulatus* L. ssp. *leander* Kt. На сохранившихся участках широколиственных лесов появляются низкогорные *C. (Microtribax) kasakorum* Sem. и *C. (M.) nothus* M.Ad. ssp. *planipennis* Chaud. Далее вниз разнообразие этих жужелиц постепенно снижается за счет исчезновения высокогорных и горных видов.

В нижнегорном лесном поясе обычны - *C.cumanus*, *C. gr. leander*, *C.exaratus*, *C.adamsi* ssp. *adamsi* M.Ad. Из *Tribax* - *C.fossiger*, *C.steveni schamyli*, *C.osseticus*, а из *Microtribax* - *C.nothus planipennis*, *C.kasakorum*. Всего 12 видов.

В лесолугово-степном поясе отмечены 9 видов. Исчезают горные виды. Прибавляются *C.planus* (= *perrini planus* Gehin; = *campestris* var. *planus* Gehin).

В степном поясе отмечено 8 видов. Не встречаются все горные виды, прибавляется околородный *C. (Limnocarabus) clathratus* L.

## ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПРИДОРОЖНЫХ ТЕРРИТОРИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ ПАЛИНОИНДИКАЦИИ

Машихина Ю.В.

ФГБОУ ВО Вологодский государственный университет, Вологда, Россия

*mashihina1991@mail.ru*

Одним из основных источников загрязнения окружающей среды является автотранспорт. В выхлопных газах автомобилей содержатся вещества, обладающие канцерогенной активностью: фенентрен, антрацен, бенз(а)пирен и другие. Существует сложность контроля таких соединений в отработанных газах, так как выброс в атмосферу большинства из них не нормирован, а их совместное воздействие на живые организмы не изучено. В связи с этим, является актуальным применение методов биомониторинга, которые позволяют оценить синергизм действия загрязняющих компонентов на живые организмы. Одним из методов биомониторинга является палиноиндикация, которая заключается в изучении реакции пыльцы высших растений на загрязнение окружающей среды.

Целью настоящей работы является изучение влияния выбросов автотранспорта на экологическое состояние придорожных территорий методами палиноиндикации на примере Федеральной трассы М-8 «Холмогоры».

Исследование экологического состояния придорожных территорий проводилось на участке трассы от деревни Барское (489 км) до перекрестка на село Верховажье (685 км). Объектом для палиноиндикационных исследований являлась пыльца *Tussilago farfara*. Образцы пыльцы собирались весной 2013 года методом «конверта» на расстояниях 1, 50, 100, 150, 200, 250 и 300 метров от полотна дороги в восьми пунктах отбора: Барское, до и после моста через реку Сухона около деревни Литега, Чекшино, Филинская, Сямжа, Великий двор, Верховажье.

Определение фертильности пыльцы проводилось ацетокарминовым методом, жизнеспособность пыльцы определялась методом Ван-Тигема и методом В.С. Шардакова.

Критерием для определения степени токсичности выбросов автотранспорта служил индекс токсичности фактора (ИТФ). ИТФ рассчитывались по жизнеспособности и фертильности пыльцы *Tussilago Farfara*, затем выводился средний ИТФ для каждого пункта отбора проб.

В результате исследований было установлено:

1. Экологическое состояние придорожных территорий изменяется при удалении от дорожного полотна. При этом степень токсичности меняется от сверхвысокой и высокой (на расстоянии 1 м) до низкой и нормальной (дальше 100 м).

2. Уровень загрязненности придорожных территорий зависит от интенсивности движения и скоростного режима. На участках с высокой интенсивностью движения наблюдается большая степень токсичности, чем на участках с низкой интенсивностью. Наибольшая степень токсичности характерна для придорожных территорий, где скорость движения автотранспорта ниже 60 км/ч.

3. Метод палиноиндикации с использованием *Tussilago Farfara* может быть рекомендован для оценки экологического состояния придорожных территорий.

## ГИБРИДНЫЕ ЗОНЫ МЛЕКОПИТАЮЩИХ. СТРУКТУРА, ЛОКАЛИЗАЦИЯ, РАЗВИТИЕ

Миронова Т.А.

ФГБУН Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова, Москва, Россия

*talmir84@mail.ru*

Гибридные зоны представляют собой участки скрещивания популяций, различимых по одному или более наследственным признакам. Несмотря на более чем 80-летнее изучение процессов гибридизации животных, вопросы выявления основных закономерностей существования гибридных зон до сих пор

остаются открытыми. Долгое время считалось, что процессы гибридизации весьма недолговечны и неизбежно должны закончиться или слиянием гибридизирующих форм или усовершенствованием репродуктивной изоляции между ними. Однако имеющиеся данные по различным группам животных показывают, что гибридные зоны могут быть стабильными и существовать длительное время. Возникновение многих из них связано с событиями послеледникового периода, происхождение более молодых зон может быть связано с деятельностью человека. Существует ряд гипотез, описывающих механизмы образования и поддержания гибридной зоны, наиболее популярной является модель динамического равновесия (зоны напряжения), в которой стабильность гибридной зоны объясняется балансом между иммиграцией родительских видов в гибридную зону и отбором против гибридов. Помимо стабильности во времени, не менее интересна проблема пространственного постоянства или подвижности гибридных зон. Сдвиг гибридной зоны в сторону одного из родительских видов может вызываться асимметричной гибридизацией, асимметричным расселением родительских видов, конкуренцией, гибридной приспособленностью, климатическим изменением границ видов, изменением ландшафта человеком. Часто изменчивость по разным системам признаков скоррелирована. Однако есть и противоположные примеры, когда маркеры распределяются независимо. Применение современных молекулярно-генетических методов позволяет получать качественно новую информацию о структуре гибридных зон, интенсивности потоков генов, а также прогнозировать дальнейшее развитие и судьбу гибридных популяций. Подходящей моделью для подобных исследований являются обыкновенные полевки надвидового комплекса *Microtus arvalis*. Для северного участка их гибридной зоны характерен дефицит обеих родительских форм и преобладание особей с рекомбинантным генотипом. На южном участке отмечается преобладание одной из родительских форм, при этом рекомбинантные особи в разных популяциях распределены неравномерно, в одних популяциях отмечается их дефицит, тогда как в других их количество сопоставимо с родительской формой. Для всей гибридной зоны отмечается ассиметричная интрогрессия цитогенетических и молекулярно-генетических маркеров.

## ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ГОРОДСКИХ ПОЧВ

**Митракова Н.В.**

ФГБОУ ВПО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

*Mitrakovanatalya@mail.ru*

Урбанизированные территории характеризуются глубокой трансформацией почвенного покрова, появлением новых почв и почвоподобных образований, зачастую низкоплодородных и токсичных. Оценка их токсичности и биологической активности является трудоемким процессом. Известны основные свойства плодородных почв, обеспечивающие максимальную продуктивность природных фитоценозов и культурных растений: реакция среды близкая к нейтральной, высокое содержание и благоприятный состав гумуса, доступность питательных элементов, водопрочная зернистая или комковатая структура, высокая микробиологическая и биохимическая активность и т.д. Ранее проведенные нами исследования показали перспективность использования кресс-салата *Lepidium sativum* L. для тестирования почв Пермского края. Данная культура показала положительную реакцию на содержание гумуса и питательных веществ, насыщенность основаниями, отрицательную реакцию — на загрязнение тяжелыми металлами, кислую и щелочную реакцию, засоление. Дано обоснование разрабатываемого метода фитотестирования трансформированных почв и почвоподобных образований в техногенных и урбанизированных ландшафтах. Проведен отбор эталона сравнения по реакции тест-культуры, выращенной на природных почвах Пермского края, а также на вермикулите с питательным раствором. Объектами исследования являлись урбостратоземы и квазиземы города Перми. Кресс-салат на вермикулите показал наибольшую высоту, массу и наименьшую редокс-активность, на плодородных почвах высота и масса были снижены на 30-40%. Редокс-активность повышалась при выращивании на пробе из оподзоленного горизонта серой почвы. Урбостратоземы и квазиземы селитебного района г. Перми показали удовлетворительный уровень биологической активности по сравнению с тест-контролем. Усиление редокс-активности растительных экстрактов следует рассматривать, по-видимому, как проявление токсичности городских почв, связанное с аккумуляцией в них загрязнителей разной природы. В целом показали перспективность использования кресс-салата для тестирования почв и ТПО урбанизированных территорий, при этом в качестве тест-контроля рекомендуется применять растения, выращенные на вермикулите с питательным раствором Кнопа. При тестировании снижение высоты и массы растений на 30% относительно тест-контроля считать допустимой величиной, т.к. подобные показатели имели растения, выращенные на пробах из чернозема глинисто-иллювиального, характеризующегося высоким содержанием гумуса, высокой емкостью поглощения и слабокислой реакцией среды.

## БИОЛОГИЯ И ЭКОЛОГИЯ ЦЕНОПОПУЛЯЦИЙ *ACONITUM EXCELSUM* В РАЗЛИЧНЫХ СООБЩЕСТВАХ ДЕРЕВНИ ИРГИЗЛА БУРЗЯНСКОГО РАЙОНА

Насырова Р.Р., Карпов Д.Н.

Стерлитамакский филиал ФГБОУ ВПО Башкирский государственный университет, Стерлитамак, Россия

*nrre93@mail.ru*

В род *Aconitum* входят примерно 300 видов, растущих преимущественно в Северном полушарии. Все акониты ядовиты, многие виды из которых находят применение в медицине, а примерно 25 видов разводятся как декоративные. Ядовиты все части растения, но особенно – корневища и зрелые плоды. Целью работы было выявление морфометрических особенностей Аконита высокого в различных сообществах в окрестностях деревни Иргизла Бурзянского района республики Башкортостан. Было проведено семь геоботанических описаний. Величина каждых площадок составляла 25м<sup>2</sup>. В геоботанических описаниях, для каждого вида путем глазомерной оценки указывалось его количественное участие. Был проведен анализ морфометрических показателей особей *Aconitum excelsum* Rehb в различных экотопах. Высокие морфометрические показатели имеют особи, произрастающие на исследуемых участках в широколиственном лесу, вдоль реки Иргизлинка и на опушке широколиственного леса. При этом из 7 описанных площадок примечательной является площадка вдоль реки Иргизлинка. На данном участке, по сравнению с остальными, особи *Aconitum excelsum* Rehb достигают в высоту в среднем 162,2 см с количеством цветков 20 шт. Особи *Aconitum excelsum* Rehb имеют примерно 20 листьев, при этом длина прикорневого листа достигает 34,2 см в длину, а ширина – 32,4 см. По сравнению с остальными площадками здесь высокая степень увлажнения почвы и меньше количество видов растений, чем на остальных участках. А так как встречаемость Аконита высокого зависит от количества увлажнения, то скорее всего, это и объясняет полученные биоморфологические данные этой площадки. Анализ геоботанических описаний, проведенных на 7 учетных площадках, показал, что на исследованных территориях произрастает 77 вида сосудистых растений, принадлежащих к 28 семействам. Наиболее богатыми по количеству видов являются семейства Fabaceae (15%, 12 видов), Lamiaceae (8%, 6 видов), Rosaceae (6%, 5 видов), Rosaceae (6%, 5 видов), Asteraceae (6%, 5 видов). Таким образом в сравнительном аспекте наиболее высокие морфометрические показатели (высота растения; количество листьев, цветков; длина и ширина листьев) имеют особи *Aconitum excelsum* Rehb, произрастающие в наиболее увлажненных местах. На лугу отмечены наибольшая плотность популяции (46 видов на 25м<sup>2</sup>). Так же было выявлено, что в Бурзянском районе преобладают сообщества класса Molinio-Arrhenatheretea Tx. 1937 и класса Querco-Fagetea Br.-Bl. 1937.

## МЕЖПОПУЛЯЦИОННОЕ СРАВНЕНИЕ ЛЕЙКОГРАММ ЗЕЛЁНЫХ ЛЯГУШЕК ВОДОЁМОВ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕТИЧЕСКОГО ТИПА НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ ЗА 2011-2015 ГГ.

Николаев В.Ю.

ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского, Институт биологии и биомедицины ННГУ, Нижний Новгород, Россия

*DarthTiger@yandex.ru*

Оценка периферической крови живых организмов позволяет получить большой объём иммунологических показателей, требующих определённого обобщения. Одним из способов такого обобщения является множественное сравнение независимых групп по критерию Крускала-Уоллеса, позволяющее сопоставить различные исследуемые выборки и дать им сравнительную оценку.

Целью настоящей работы явилось составление сравнительной оценки популяций зелёных лягушек водоёмов различного генетического типа Нижегородской области за пять лет по показателям их лейкограмм, включая лейкоцитарные индексы.

Зелёные лягушки (озёрные – 223 особи; прудовые – 210 особей) были собраны в тринадцати водоёмах Нижегородской области, в полевые сезоны 2011 – 2015 гг. Качественный анализ состава лейкоцитов периферической крови выявил чувствительность всех субпопуляций к изменению среды обитания: как гранулоцитов, так и агранулоцитов. Результаты непараметрического метода сравнения экспериментальных данных по критерию Крускала-Уоллеса и медианному тесту позволили отклонить нулевую гипотезу об отсутствии различий и принять альтернативную гипотезу о различии между популяциями, обитающими в искусственных бессточных водоёмах, и популяциями, обитающими в естественных проточных водоёмах. Также в искусственных бессточных водоёмах выборки дают большое количество различий даже относительно одного и того же места отлова, но в разные года – что в естественных проточных водоёмах наблюдается в значительно меньшей степени. При сравнении озёрных и прудовых лягушек у вторых наблюдается меньшее количество различий как по общему объёму наблюдаемых случаев различия между выборками, так и по количеству различий в показателях

лейкограммы в случае наличия различия между выборками. В целом, сравнение основных показателей амфибий водоёмов различного генетического типа выявило значимые изменения качественного состава периферической крови животных в условиях возрастания антропогенной нагрузки между выборками разных лет, водоёмов и видов.

Таким образом, с помощью статистического анализа установлено, что лейкограммы периферической крови зелёных лягушек показывают большое количество межпопуляционных различий, связанных с годом отлова, генезисом водоёма и конкретным видом лягушек. Отмечено наибольшее различие между выборками из искусственных бессточных водоёмов и выборками из естественных проточных водоёмов, а также меньшее по сравнению с количеством различий между выборками озёрных лягушек количество различий между выборками прудовых лягушек.

### **АЛЬГОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ ЗАТОПЛЕННЫХ УЧАСТКОВ ОЗЕРА СЕВАН**

**Овсепян А.А.**

Научный центр зоологии и гидроэкологии Национальной Академии наук Республики Армения, Ереван,  
Армения

*asterionella@rambler.ru, tkhachikyan@mail.ru*

С целью изучения вопросов о влиянии затопленных территорий, образованных в результате повышения уровня воды оз. Севан на ценозическую структуру фитопланктона озера, в 2013–2014 гг. в рамках Российско - Армянского проекта “Планктонная трофическая сеть оз. Севан в условиях повышения уровня воды” было проведено исследование биоценозов некоторых прибрежных участков Большого (Сари-Кая, Бабаджан, Цовинар) и Малого Севана (Шоржа, Гюней), “Затопленного участка” — территории затопленного гостиничного комплекса в районе Малого Севана и “Нового озера” — ветланда-спутника, который отделяется от “Затопленного участка” дорогой, проложенной на искусственно созданном земляном валу.

Исследования показали, что по количественным и структурным показателям фитопланктона наибольшей трофностью характеризовалось “Новое озеро”, которое можно рассматривать как самостоятельную (в основном обособленную от озера) экосистему. Здесь наблюдались самые высокие численность и биомасса, а также видовое разнообразие сообщества, колоссальным образом отличающиеся от аналогичных характеристик прибрежных районов и пелагиали оз. Севан. Значительно, но в меньшей степени, чем в “Новом озере”, отличался от озера по своим качественным и количественным характеристикам фитопланктон образованного в результате повышения уровня воды биотопа “Затопленный участок”, что можно объяснить его местонахождением вблизи “Нового озера” и возможной связью между ними. “Затопленный участок” можно рассматривать как промежуточное звено между высокоэвтрофным биотопом “Новое озеро” и лимносистемой оз. Севан. На прибрежных участках Малого Севана вблизи затопленного гостиничного комплекса и в остальных прибрежных пунктах, где были проведены наблюдения, качественное и количественное развитие фитопланктона было бедным, что может быть связано с особенностями распределения рыбного населения, в частности, рыб - альгофагов. В пользу данного предположения говорят комплексные исследования трофической цепи, которые выявили наибольшее скопление рыб за счет альгофага карася в прибрежных районах озера. Кроме того, значительную роль могло оказывать волновое перемешивание на исследованных мелководьях Севана.

Сравнительный анализ качественных характеристик фитопланктона пунктов “Новое озеро” и “Затопленный участок” с видовым составом оз. Севан выявил значительную степень сходства между ними. Это говорит о возможном влиянии биоценозов этих территорий на качественный состав фитопланктона пелагиали озера.

### **ХАРАКТЕРИСТИКА ПУЛОВ И ПОТОКОВ ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА В СРЕДНЕТАЕЖНОМ СОСНЯКЕ ЧЕРНИЧНОМ НА ЭТАПЕ ПРИСПЕВАНИЯ**

**Осипов А.Ф.**

ФГБУН Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, Сыктывкар, Россия

*osipovandrey1985@gmail.com*

Стадия приспевания древостоя, т.е. переход насаждения из средневозрастного в спелый, является одним из важнейших этапов развития насаждения. В этот период развития в сосняках наблюдается стабилизация запасов и потоков органического вещества (ОВ) в экосистеме, что является определяющим для ее дальнейшего функционирования. Цель — оценка 30-летней динамики запасов и потоков органического вещества в среднетаежном спелом сосняке черничном на этапе приспевания.

Исследования проведены на постоянной пробной площади сосняка черничного, заложенного в 1978 г. на Чернамском лесном стационаре Института биологии Коми НЦ УрО РАН. С 1978 г. по 2011 г.

наблюдается относительное постоянство состава древостоя, который образован сосной с незначительной примесью березы и ели. При переходе древостоя из среднего возраста в состояние спелости уменьшается густота деревьев на  $535 \text{ экз. га}^{-1}$ , с увеличением запаса стволовой древесины (на 7 %) и возрастанием суммы площадей сечения (на 10 %). Выявлено снижение класса бонитета с III на IV. В процессе развития сосняка в период перехода его с этапа средневозрастного в приспевающий и спелый отмечен довольно интенсивный отпад деревьев, сопровождающийся ростом числа сухостоя в 2 раза, а запасов древесины в них в 3 раза.

С изменением структуры древостоя в процессе его развития связана динамика запасов ОБ. Так, в фитоценозе отмечено увеличение запасов от 122 до  $144 \text{ т га}^{-1}$ , масса ОБ в почве незначительно сократилась, а в крупных древесных остатках отмечено значительный рост от 1.4 до  $11.1 \text{ т га}^{-1}$ .

По мере развития насаждения от средневозрастного к спелому снижается активность ростовых процессов древесных растений. Так, интенсивность прироста ОБ снизилась от 8.1. до  $5.2 \text{ т га}^{-1} \text{ год}^{-1}$ . Одновременно происходит перераспределение участия отдельных компонентов в нетто-продукции: снижается доля древесины ствола, возрастает роль хвои и ветвей, что связано с активным освоением окружающего пространства для более эффективного улавливания солнечной радиации. На этапе приспевания отмечается снижение интенсивности поступления ОБ с опадом от  $4.6 \text{ т га}^{-1} \text{ год}^{-1}$  до  $3.3 \text{ т га}^{-1} \text{ год}^{-1}$ .

Таким образом, на этапе приспевания отмечается увеличение запасов ОБ за счет накопления его фитомассе древостоя. Одновременно снижается интенсивность потоков ОБ в экосистеме, что проявляется в сокращении нетто-продукции и поступления ОБ с опадом.

Автор благодарит д.б.н., проф. К.С. Бобкову за предоставленные данные по средневозрастному сосняку черничному и помощь в работе.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ для молодых кандидатов наук МК-6670.2016.5

#### **ИЗМЕНЧИВОСТЬ СЕЯНЫХ БОБОВО-ЗЛАКОВЫХ СЕНОКОСОВ В РЕЗУЛЬТАТЕ ПОСЛЕДЕЙСТВИЯ ЭКСТРЕМАЛЬНОЙ ЗАСУХИ В ПОСЛЕДУЮЩИЕ ГОДЫ**

**Охлопкова Ю.Ф.**

ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет - МСХА имени К.А. Тимирязева,  
Москва, Россия

*oxlopkova1994@mail.ru*

Кормовые экосистемы выполняют важнейшие продукционные, средообразующие и природоохранные функции в агроландшафтах, оказывают значительное влияние на экологию, способствуют сохранению и накоплению органического вещества в биосфере (Авдеев С.М., 2007). Исследования проводились в 2015 году в полевых опытах, заложенных в 2009, 2010 гг. на территории Полевой опытной и селекционной станции РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Опыты были заложены с целью изучения эффекта инокуляции и калийных удобрений на бобово-злаковые травосмеси, и одновидовые травостой. Максимальная урожайность сухой массы в опыте с бобово-злаковыми травосмесями составила  $4,05 \text{ т/га}$ , минимальная -  $1,23 \text{ т/га}$ . А в опыте с одновидовыми травостоями максимальная –  $6,35 \text{ т/га}$ , минимальная –  $1,84 \text{ т/га}$ . Выяснилась сильная зависимость ботанического состава и урожайности сеяных сенокосов от погодных условий. В условиях экстремальной засухи преимущество получают виды со стратегиями эксплерентов из хозяйственно-ботанической группы «разнотравье». А при нормализации условий увлажнения наиболее активно восстанавливает своё участие в травостоях люцерна, из злаков – ежа. Гипотеза о повышении устойчивости как злаковых, так и бобовых многолетних трав к абиотическим стрессам путём инокуляции заводскими штаммами в условиях засухи не подтвердилось.

#### **ОЦЕНКА ГЕОЭКОЛОГИЧЕСКИХ РИСКОВ СТРОИТЕЛЬСТВА И ЭКСПЛУАТАЦИИ ЛИНИЙ ЭЛЕКТРОПЕРЕДАЧ**

**Пайметова В.Э., Бульгина Н.А., Краева Е.М.**

ФГБОУ ВПО Поволжский государственный технологический университет, Йошкар-Ола, Россия

*veronika29.03.1995@gmail.com*

Геоэкологические риски были оценены для уже введенных в эксплуатацию воздушных линий, подчиненных ОАО «МРСК Центра и Приволжья» Филиал «Мариэнерго» Производственное отделение «Йошкар-Олинские электрические сети», обслуживающие шесть районов республики: Волжский, Звениговский, Моркинский, Оршанский, Медведевский и Советский. При оценке геоэкологических рисков были использованы следующие методы: метод ландшафтного планирования, картографический метод, методы математического анализа и статистики с использованием программы Mathcad 14, метод причинно-следственных связей, метод «ключей». Рассмотрено влияние высоковольтных линий электропередач

напряжением 35 кВ и 110кВ.

В связи с поставленной целью и выделенными задачами был проведен ряд исследований в результате которых можно сделать следующие выводы:

1. риск от гидрометеорологических явлений заключается в сносе несущих конструкций и обрыве проводов линий электропередач;

2. наиболее подверженными риску от экзогенных процессов являются участки Марийско-Вятского увала, первой надпойменной террасы реки Волга, наименее – Оршано-Кокшагская равнина и центральная низменность. Привязываясь к административно-территориальному делению - это линии электропередач, проходящие по следующим районам: наиболее подвержены риску – Моркинский, Волжский, Звениговский, наименее – Медведевский, Оршанский и Советский;

3. в проанализированных образцах почвы распределительных подстанций линий электропередач содержание меди не превышает ПДК, цинка незначительно превышает ПДК, железа не превышает уровень фоновой пробы, нефтепродуктов не превышает допустимый уровень содержания нефтепродуктов в почве – 1000мг/кг. Это говорит о том, что возможен риск загрязнения грунтовых вод ионами цинка;

4. геэкологическими рисками от строительства линий электропередач являются: развитие склоновых процессов, в результате подрезки склонов, в результате которых происходит снос несущих конструкций ЛЭП; воздействие на миграцию животных; изменение водного режима, что приводит к усилению экзогенных геологических процессов, в результате которых происходит снос несущих конструкций ЛЭП, обрыв проводов и потери земельных и лесных ресурсов; водная, ветровая эрозия, повышение уровня грунтовых вод, распространение болезней лесных насаждений при вырубке лесных массивов.

5. с помощью метода ландшафтного планирования была проведена оценка размещения ЛЭП с учетом экзогенных геологических рисков и расположением с ООПТ.

Данное исследование может быть использована при строительстве любых линейных объектов, в том числе линий электропередач, на предпроектной стадии.

#### **ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРЫ ЖЕНСКОГО ГАМЕТОФИТА *NICOTIANA TABACUM L.*, ИНДУЦИРОВАННЫЕ ЭКСТРЕМАЛЬНЫМИ ТЕМПЕРАТУРАМИ**

**Парфирова И.В., Лобанова Л.П., Колесова А.Ю.**

ФГБОУ ВО Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия

*emi-world@yandex.ru*

Исследование реакции растений на различные факторы внешней среды являются одной из центральных проблем растениеводства и мониторинга природных популяций. Особый интерес представляет реакция генеративных структур на колебания температуры. В настоящей работе исследован эффект температуры на формирование женского гаметофита у трех линий табака: контрольной БГ-6 и двух мутантных. Действию постоянно низких (10-13°C) и высоких (37°C) температур подвергались изолированные на стадии одноядерного ЗМ завязи в условиях *in vitro*.

У контрольной линии при оптимальной температуре (25°C) 98 % ЗМ развиваются нормально и образуют 8-ядерный 7-клеточный гаметофит. Низкая температура приводит к подавлению митозов и цитокинеза. В итоге у линии БГ-6 формируется 11 % малоядерных ценоцитных ЗМ. Высокая температура, напротив, индуцирует дополнительные митозы в гаметогенезе. Количество ЗМ аномального строения возрастает до 60 %, среди которых доминируют клеточные многоядерные. При нормальных температурных условиях мутантная линия М-3 образует 80-90 % аномальных ЗМ с уменьшенным числом ядер (менее 8) среди которых преобладают ценоцитные, а мутантная линия М-2 характеризуется содержанием до 60 % аномальных ЗМ, большая часть которых клеточные с числом ядер более 8. Экстремальные температуры у обеих мутантных линий вызывают увеличение количества аномальных гаметофитов и изменения в их структуре. У мутанта М-3 экстремальные температуры подавляют заложение клеточных перегородок и повышают число ценоцитных ЗМ. Высокая температура у мутанта М-3 вызывает дополнительные аномальные митозы или эндомитозы, в результате которых повышается число малоядерные ЗМ с увеличенными, вероятно, полиплоидными ядрами и дополнительными ядрышками. У мутанта М-2 развитие ЗМ при низкой температуре привело к полному исчезновению многоядерных и клеточных гаметофитов. Это указывает, что низкая температура, подавляя цитокинез и митозы, изменила фенотипическое проявление гаметофитной мутации. Действие высокой температуры у мутанта М-2 также проявилось в угнетении митотических делений и цитокинеза и вызвало уменьшение числа многоядерных клеточных ЗМ более чем в три раза.

Таким образом, полученные факты позволили выделить некоторые цитологические механизмы изменения женского гаметофита под влиянием различных температур. Использование в эксперименте двух мутантных линий показало, что характер изменений ЗМ, индуцированных температурными воздействиями,

у не мутантной линии имитирует гаметофитные мутации. Однако и развитие мутантных гаметофитов в значительной мере модифицируется экстремальными температурами.

### **ВЗАИМОСВЯЗЬ РАДИАЛЬНОГО ПРИРОСТА СТВОЛОВ И ВОССТАНОВЛЕНИЯ КРОН ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО В ПОЙМЕННОЙ ДУБРАВЕ ЮЖНОЙ ЛЕСОСТЕПИ**

**Поляков А.С., Каплина Н.Ф.**

ФГБУН Институт лесоведения РАН, с. Успенское Московской области, Россия

*doox911@yandex.ru, kaplina@inbox.ru*

Информация о радиальном приросте ствола дерева широко используется в дендрохронологии и дендроклиматологии. Её успешное применение в дендроиндикации и дендрозологии требует изучения экологических механизмов динамики прироста. Более изучено влияние повреждения листьев на радиальный прирост стволов. Значительно менее - влияние повреждения осевой системы кроны и её восстановления, поскольку для этого необходимы многолетние наблюдения.

Наш доклад посвящен исследованию взаимосвязи радиального прироста стволов и восстановления кроны, утраченных полностью или частично в период массового усыхания дуба. Изучена пойменная ландышево-ежевичная дубрава в южной лесостепи (Теллермановское опытное л-во ИЛАН РАН, 51°19'28"с. ш., 41°58'23"в. д.), возраст 120 лет, полнота 0,6. Начиная с 1983 г. сотрудниками института периодически проводится обмер диаметров стволов, описание состояния кроны, в т.ч. характера их облиственности. Дополнительно оценивается тип развития кроны (раскидистый, зонтиковидный, узкокронный), отражающий жизнеспособность дерева. Керны отобраны на высоте 1,3 м (на высоте 0,2-0,5 м - для уточнения возраста и происхождения дерева). Получены ряды радиальных приростов ранней и поздней древесины (керны шлифовали, сканировали, обрабатывали изображения в программе GetData Graph Digitizer). В период 1983-1995 гг. половина деревьев улучшила облиственность. На большинстве деревьев имелись обильные водяные побеги, из которых около 17% восстановили крону из узкокронной в зонтиковидную. В период 1996-2009 гг. облиственность стабилизировалась, а развитие кроны усилилось - четверть деревьев перешло из узкокронного в зонтиковидный тип кроны и 7% - из зонтиковидного в раскидистый тип. Известно, что в распределении пластических углеводов крона имеет приоритет по сравнению со стволом, а прирост ранней древесины, содержащей сосуды, у дуба приоритетней, чем поздней древесины. Так, изученные деревья не улучшившие тип кроны характеризуются более равномерными и узкими годовыми приростами ствола, в т.ч. ранней древесины, содержащей 1, реже 2 слоя сосудов. У деревьев улучшивших тип кроны чередуются периоды хорошего и пониженного прироста и формируется 1-3 слоя сосудов.

Полученные данные будут использованы в исследовании механизмов адаптации дуба черешчатого к повреждению кроны в различных неблагоприятных экологических условиях. Поддержано РФФИ 15-04-05592.

### **ИССЛЕДОВАНИЕ КОНФОРМАЦИИ КАРОТИНОИДОВ В ЛИСТЬЯХ ДЕРЕВЬЕВ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ РАЗЛИЧНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ЗОН Г.САРАНСКА С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА КОМБИНИРОВАННОГО РАССЕЯНИЯ СВЕТА**

**Порочкин А.В., Шаланов В.В., Шаповалова А.С., Степанова В.А.**

ФГАОУ ВО Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П.Королёва,  
Самара, Россия

*avporochkin@ya.ru*

Известно, как широко хозяйственная деятельность человека влияет на окружающую среду, всё чаще негативно. Некоторые факторы хорошо изучены, другие хуже. Но актуальной проблемой остается исследование состояния растительных организмов в условиях стресса. Так как каротиноиды являются одним из звеньев защиты от окислительного стресса, то было бы логично определить их состояние и изменение конфигурации.

Для изучения данной проблемы были отобраны образцы листьев высшего сосудистого растения *Betula pendula* Roth, и поделены на три группы: 1) контрольная – в лесопарковой зоне г. Саранска вдали от объектов хозяйственной деятельности человека; 2) 1-ая опытная группа – образцы, произрастающие в возле автомобильной трассы в Юго-западном районе г.Саранска; 3) 2-ая опытная группа – образцы с территории парка на ул.Полежаева и парка им.Пушкина г. Саранск. Изучение влияния экологических условий на качественный состав каротиноидов в тканях листьев проводилось с помощью спектроскопии комбинационного рассеивания света (КР) для исследования конфигурационных изменений молекул пигментов.



Конфигурация каротиноидов анализировалась по следующим соотношениям полос спектра КР:  $I_{1520}/I_{1153}$ ,  $I_{960}/I_{1004}$ ,  $I_{1004}/I_{1153}$ ,  $I_{1004}/I_{1520}$ . На опыте установлено отсутствие сдвигов полос спектра. По результатам нашего эксперимента было установлено отсутствие сдвигов полос спектра КР и недостоверное изменение значений соотношений полос. То есть достоверной разницы между контрольными и опытными пробами не установлено.

Полученные в исследовании данные характеризуют фотосинтетические пигменты (каротиноиды) как стабильную систему, не поддающуюся конформационным изменениям под влиянием незначительных неблагоприятных антропогенных факторов. Возможно, для того чтобы повлиять на конформацию каротиноидов, нужны более жесткие условия среды, значительный стресс.

## ОБ ЭПИДЕМИОЛОГИИ ОПИСТОРХОЗА В РЕЧИЦКОМ РАЙОНЕ

Протасовицкая Я.В., Протасовицкая Р.Н.

Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь

*protasovitskiy@tut.by*

Описторхоз – тяжёлое заболевание из группы гельминтозов, поражающих печень и поджелудочную железу. В Республике Беларусь поражённость населения кошачьим сосальщиком за последние 12 лет, по данным Республиканского центра гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, находится в пределах от 3 до 52 случаев в год. На Гомельщине отмечается осложнение эпидемиологической ситуации по описторхозу. В группе риска – любители сырой, плохо провяленной либо слабо прожаренной рыбы, зараженной личинками гельминта.

Цель работы – установить источники распространения и заражения описторхозом населения на территории Речицкого района и определить основные этапы профилактики данного заболевания.

Согласно данным из учетно-отчетной документации Гомельского областного и Речицкого зонального центров гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья за период 1995-2014 гг. инвазирование описторхозом выявляли в Гомельской области, ежегодно начиная с 1995 года (1 случай). С 2006 года эпидемиологами установлены факты местного заражения на территории Гомельского, Жлобинского районов, что подтверждается результатами паразитологических исследований рыбы семейства карповых, отловленной на территории области в бассейне рек Сож, Припять, Днепр.

В период с 1995 по 2009 годы более 6 случаев описторхоза зарегистрировано в Речицком районе. С 2005 по 2012 год случаи заболевания, в основном, были завозными, т.е. люди заражались этой инвазией на территории других стран. В 2013 году зарегистрированы 2 случая заболевания описторхозом среди населения района, в 2014 году – 6. В последние годы возникает все больше случаев заражения описторхами при употреблении в пищу рыбы, выловленной на участке реки Днепр Речицкого района.

При обследовании прибрежной территории определили, отсутствие или недостаточное количество туалетов в местах отдыха, на пляже, набережной реки Днепр. Поэтому фекалии с яйцами этого гельминта могут попадать в водоемы со сточными водами, из выгребных ям, с судов, с прибрежных уборных частного сектора.

В связи с тем, что эпизоотическая ситуация по описторхозу в Гомельской области оценивается, как неблагополучная, нами было проведено гельминтокопроскопическое исследование бродячих собак и частного сектора, проживающих на берегу реки Днепр в Речицком районе. Всего проведено исследований 17. В результате проведенных исследований были определены показатели поражённости плотоядных – 17,65% (трое из 17), при интенсивности выделения яиц –  $31,05 \pm 3,79$  ( $P < 0,05$ ) в 1 г фекалий. У одной собаки отмечены клинические проявления – желтушность слизистых оболочек, истощение, извращение аппетита. Выгул собак осуществляется вдоль набережной реки Днепр, что приводит к загрязнению почвы яйцами описторхов и смыву фекалий в реку с талыми и дождевыми водами. При исследовании песка собранного на пляже определили яйца *O. felineus*.

При исследовании рыбы семейства карповых (язь, карась, лещ, плотва, густера), отловленной на территории района в бассейне реки Днепр, личинки описторхиса были обнаружены у четырех образцов из 50. При этом у густеры, леща и язя внешних патологических изменений у рыб не отмечено. Уровень инвазии был относительно невысок: интенсивность инвазии (ИИ) составляла 2-4 паразита на рыбу, экстенсивность инвазии (ЭИ) – 13,33%.

Все это подтверждает факт существования природного очага описторхоза, который поддерживается за счет бродячих плотоядных, а личинки описторхиса в образцах рыбы – местного заражения плотоядных животных и человека описторхозом. Источником инвазирования водоемов яйцами гельминта являются человек и плотоядные животные, посещающие водоемы.

## МЕХАНИЗМЫ ВЫЖИВАНИЯ ДОЖДЕВЫХ ЧЕРВЕЙ (СЕМ. LUMBRICIDAE) В ГРАДИЕНТЕ ЗАГРЯЗНЕНИЯ МЕДЕПЛАВИЛЬНЫМ ПРОИЗВОДСТВОМ

Резниченко И.С.

ФГБОУ ВО Омский государственный педагогический университет, Омск, Россия

vane4ka38@mail.ru

На территории влияния выбросов Среднеуральского медеплавильного завода (Свердловская область) на окружающую среду, сотрудниками Института экологии растений и животных УРО РАН под руководством Е.Л. Воробейчика была изучена трансформация населения почвенной мезофауны, большую часть из которой составляют дождевые черви. Наше исследование затрагивает проблему приспособления люмбрицид к комплексу ингредиентов загрязнения почв (Cu, Cd, Zn, Pb) на фоне подкисления SO<sub>2</sub> на этой же территории. Нами проведена серия полевых и лабораторных исследований, которая включала изучение популяционных характеристик, измерения тяжелых металлов в тканях червей, измерение плодовитости червей с фоновых территорий на загрязненных почвах в условиях эксперимента. Для экспериментов использовались виды, характерные для данной местности *Lumbricus rubellus* (Hoffmeister, 1843) – космополитный вид, *Perelia diplotetratheca* (Perel, 1976) – эндемик Среднего Урала и *Eisenia fetida* (Savigny, 1826) – лабораторный вид. Под плодовитостью, в данной работе, нами понимается продукция (откладка) коконов за определенный промежуток времени, приходящаяся на всю популяцию (общая плодовитость). Для всех видов, в лабораторных условиях нами отмечены пики плодовитости, которые могут свидетельствовать о проявлении механизма «омоложения» популяции. Подобные механизмы наблюдались как у животных, так и у растений, а именно повышении семенной продуктивности в условиях загрязнения среды *Taraxacum officinale* или в увеличении плодовитости мышевидных в условиях повышенного загрязнения среды тяжелыми металлами. Изучение накопления меди, цинка и кадмия показало прямое накопление в тканях люмбрицид, то есть чем выше концентрация в почве, тем выше концентрация в тканях. Для накопления цинка, показатель силы влияния оказался низким и не достоверным. С приближением к источнику эмиссии, однофакторный дисперсионный анализ показал снижение силы влияния концентрации поллютантов на накопление, возможно, это говорит о границе накопления, за которой следует летальный исход червей. Таким образом, нами было установлено две защитные реакции, дающие населению червей возможность выжить в неблагоприятных условиях: первый – поведенческий, заключающийся в повышении плодовитости, второй – физиологический, который определяет границу накопления тяжелых металлов в организме дождевых червей.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России, задание № 6.1957.2014/К

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ ВОДНЫХ РЕСУРСОВ РЕК ГОРОДА СТЕРЛИТАМАКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИНFUЗОРИИ *PARAMECIUM CAUDATUM*

Романова А.Р., Тихонова С.В., Атнагулова Р.Р.

Стерлитамакский филиал ФГБОУ ВО Башкирский государственный университет, Стерлитамак, Россия

sveta\_tikh93@mail.ru

Город Стерлитамак является одним из крупнейших промышленных центров в Республике Башкортостан, где развита химическая промышленность, транспортные сети, что вызывает загрязнение проточных водоемов, которые находятся на территории города. Это делает актуальным проведение биотестирования водных ресурсов рек города Стерлитамака.

В нашей работе была использована методика определения токсичности воды по выживаемости инфузорий, основанная на установлении количества погибших или обездвиженных особей после экспозиции в тестируемой воде.

Метод позволяет оперативно определять острую токсичность водных проб и предназначен для контроля токсичности природных, сточных, питьевых вод, водных вытяжек из различных материалов.

Исследования проведены в ноябре 2015 года. Пробы воды были отобраны из пяти рек города Стерлитамака Республики Башкортостан: Ашкадар, Белая, Стерля, Ольховка, Селеук.

Был проведен химический анализ исследуемых проб воды из рек на наличие ионов Fe<sup>+2</sup>, Pb<sup>+5</sup>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>-2</sup>, Zn<sup>+2</sup>, Mg<sup>+</sup>, Cu<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>. В пробах реки Белой обнаружены соединения Zn и Cu, превышающие пределы ПДК, в пробе реки Ашкадар выявлено содержание нефтепродуктов до 2 ПДК. Содержание ионов Fe<sup>+2</sup>, SO<sub>4</sub><sup>-2</sup>, Cl<sup>-</sup>, Mg<sup>+</sup>, Pb<sup>+5</sup> в исследуемых пробах воды было выявлено в пределах ПДК.

Согласно данным анализа, индекс токсичности воды, отобранной из реки Ольховка, равен 0.35, что говорит об умеренном уровне токсичности. Такой результат может быть связан с тем, что данная река является приемником сточных вод крупных промышленных предприятий. Индекс токсичности в остальных вариантах опыта, входит в пределы 0-0.25, что говорит о том, что исследуемые пробы воды рек имеют допустимый уровень токсичности.

Наименьший показатель выживаемости *Paramecium caudatum* отмечен в пробах рек Ольховка и Стерля. Это может быть обусловлено тем, что через Стерлю построено четыре автодорожных моста и один

железнодорожный мост, также в нее сбрасываются стоки с предприятий, сбросы с частного сектора. Относительная высокая концентрация соединений цинка и меди в реке Белой могла оказать угнетающее действие на продолжительность жизни инфузорий.

Таким образом, использование данного метода позволяет проводить анализ токсичности, затрачивая при этом минимальные материальные и временные ресурсы, но при этом, получать достоверный и надежный результат о комплексной токсичности водной среды.

### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ ВОДНЫХ РЕСУРСОВ ГОРОДА СТЕРЛИТАМАК

Романова А.Р., Тихонова С.В., Буляккулова Л.У.

Стерлитамакский филиал ФГБОУ ВО Башкирский государственный университет, Стерлитамак, Россия

lyiska\_fantasy@mail.ru

Для оценки степени загрязнения окружающей среды в настоящее время широко применяют метод биотестирования, позволяющий выявить реакции генетической системы организмов на антропогенное воздействие.

Цель данной работы состояла в изучении генотоксического воздействия загрязнения водных ресурсов города Стерлитамака Республики Башкортостан с использованием тест-объекта *Allium cepa*.

Для исследований нами были отобраны пробы воды из пяти рек города Стерлитамака: Ашкадар, Белая, Стерля, Ольховка и Селеук. Пробы отбирались в ноябре 2015 года. Проведение *Allium-testa* выполняли на основе методики G. Fiskesj.

Был проведен химический анализ исследуемых проб воды из рек на наличие ионов  $Fe^{+2}$ ,  $HCO_3^-$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $Mg^+$ ,  $Cu^+$ ,  $Cl^-$ . В пробах реки Белой обнаружены соединения Zn и Cu, превышающие ПДК, в пробе реки Ашкадар выявлено содержание нефтепродуктов до 2 ПДК. Содержание ионов  $Fe^{+2}$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $Cl^-$ ,  $Mg^+$  в исследуемых пробах воды было выявлено в пределах ПДК.

Максимальное значение митотического индекса выявлено в варианте с пробой воды, отобранной из реки Стерля (52,11%) и Ольховка (48,40%). Повышение митотического индекса может быть связано с небольшим стрессовым воздействием, обуславливающим стимулирующий эффект.

Максимальная частота хромосомных аберраций наблюдалась в пробах реки Ольховка (3,55%) и Ашкадар (2,19%), что статистически значимо превышает спонтанный уровень. Это свидетельствует о том, что воды данных рек были подвергнуты действию факторов, имеющих мутагенную природу. Уровень аберрантных хромосом в контроле составил лишь 1,07 %. Уровень аберрантных хромосом в реке Белой составил 1,36 %, в пробе реки Стерля-1,65%, Селеук-1,52%. Результаты хромосомных нарушений в данных пробах соответствуют уровню, отмеченному для спонтанного мутагенеза (менее 2%).

Таким образом, использование цитогенетического метода показало, что данный метод мониторинга окружающей среды отличается простотой, доступностью и чувствительностью для определения цитотоксических и мутагенных факторов.

### СЕЗОННЫЕ ЦИКЛЫ РАЗВИТИЯ И ИХ РЕГУЛЯЦИЯ У БАБОЧЕК-НИМФАЛИД (NYMPHALIDAE)

Рыжкова М.В., Лопатина Е.Б.

ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

mariya29ru@yandex.ru

Семейство Nymphalidae является одним из крупнейших в отряде Lepidoptera. По литературным данным в этом семействе встречаются следующие типы диапаузы: эмбриональная – *Argynnis adippe*, *Brenthis daphne*; гусеничная – *Lasiommata maera*, *Maniola jurtina*; куколочная – *Araschnia levana*, *Lasiommata petropolitana*; имагинальная – *Inachis io*, *Aglais urticae*, *Danaus plexippus*. Куколочная и имагинальная диапауза формируются, когда гусеницы развиваются при коротком дне. Влияние длины дня на формирование диапаузы на стадии имаго показано для *Danaus plexippus*, *Hypolimnas bolina* и *Polygonia c-aureum*; на стадии куколки – для *Lasiommata petropolitana* и *Araschnia levana*. По имеющимся в литературе сведениям формирование диапаузы у одного и того же вида может происходить на разных стадиях онтогенеза в зависимости от условий. *Pararge aegeria* способна развиваться с гусеничной или куколочной зимней диапаузой, а также без диапаузы, что приводит к появлению второй генерации. У *Clossiana selene* также могут зимовать и гусеницы, и куколки.

О регуляции сезонных циклов у видов семейства Nymphalidae известно немного. Исследования преддиапаузного развития бархатниц *Lasiommata maera* и *Lopinga achine* при нескольких фотопериодических режимах показали, что с сокращением длины дня скорость роста гусениц возрастает (Gotthard et al., 1999). При исследовании стокгольмской и готландской популяций *Lasiommata petropolitana* ускорение развития гусениц в коротком дне было обнаружено только у готландской, более северной популяции (Nylin et al., 1996).

Под действием разных фотопериодических условий может происходить изменение нормы реакции на температуру. Мы показали, что у брянской популяции *Inachis io* в короткодневных условиях развитие особей происходит быстрее, чем в длиннодневных, при температурах выше 17°C, и медленнее – при более низких, т. е. при сокращении длины дня наблюдается возрастание термолабильности развития и температурного порога. У австралийских нимфалид *Vanessa kershavi* и *Junonia villida* в коротком дне гусеницы развиваются быстрее при 20°C и медленнее – при 30°C, по сравнению с длинным днем (James, 1987), поэтому мы можем ожидать здесь изменение температурных норм развития – термолабильности и температурного порога, при сокращении длины дня. У исследованной нами бабочки *Aphantopus hyperantus* с гусеничной диапаузой обнаружено влияние фотопериодических условий на преддиапаузное и постдиапаузное развитие гусениц: короткий день ускоряет развитие гусениц в конце лета, а длинный день – перезимовавших гусениц.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ № 14-04-01156-а.

### **ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ И ЭКОНОМИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ МЕТОДА СОРБЦИОННОЙ БИОРЕМЕДИАЦИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЁННЫХ ПОЧВ**

**Слюсаревский А.В.<sup>1</sup>, Зиннатшина Л.В.<sup>2</sup>**

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

*sandroslu@gmail.com*

По данным Ростехнадзора с 2011 по 2014гг. на территории РФ произошло более 53 тыс. порывов промысловых нефтепроводов. В результате аварийных утечек ежегодно нефтью и нефтепродуктами загрязняется около 600 га земель. Отсюда возникает необходимость определить экономически выгодный и эффективный метод рекультивации нефтезагрязненных земель.

Целью работы было изучить влияние различных натуральных сорбентов на скорость биоремедиации нефтезагрязненных почв и сравнить экономическую эффективность сорбционной биоремедиации почв *in situ* с другими наиболее часто используемыми в РФ методами рекультивации. Для сравнительного анализа были выбраны технологии рекультивации почв: 1- физический метод (замена загрязненного слоя чистым грунтом с последующей утилизацией экскавированной почвы); 2- биорекультивация *in situ* (проводится на загрязненном участке, основана на способности почвенных микроорганизмов разлагать углеводороды нефти (УВ)).

Изучали влияние различных натуральных сорбентов на скорость биоремедиации поверхностно загрязненной серой лесной почвы с исходным суммарным содержанием УВ 5-7%. Исследования проводили в лабораторных и микрополевых условиях. Определяли динамику изменения концентрации УВ и их метаболитов в почве, фитотоксичность почв, водно-физические свойства. Для экономических расчетов проводили на основании Государственных элементарных сметных нормативов.

Определили, что применение сорбционно-биологического метода создает более благоприятные условия для развития нефтеструктуров, обеспечивает более быстрое развитие растительного покрова на очищаемом участке, что в конечном итоге обеспечивает более быстрое восстановление его почвенного плодородия.

Расчеты показали, что стоимость рекультивации физическим методом варьирует от 10 до 62 млн.р/га, причем основной вклад вносит стоимость услуг по утилизации загрязненной почвы. Стоимость биорекультивации *in situ* методом биоаугментации и сорбционно-биологическим довольно близка (17-31 и 18-35 млн.р/га соответственно), при этом основная стоимость очистки складывается из стоимости вносимых материалов (биопрепарата или сорбента), и сильно зависит от дозы их внесения.

Можно сделать следующие выводы. При аварийном и хроническом загрязнении небольших участков, расположенных в районах с развитой дорожной сетью и инфраструктурой, применение физического метода может быть вполне обосновано. Однако в случае аварийного загрязнения больших территорий (от 0,5 га) с высоким уровнем загрязнения, целесообразно после сбора нефти с поверхности земли, осуществить биорекультивацию *in situ* с помощью сорбционно-биологического метода.

### **МЕЖГОДОВАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ВЗАИМОСВЯЗИ NDVI С КОМПОНЕНТАМИ ДЫХАНИЯ ПОЧВЫ В ГРАДИЕНТЕ ПРОМЫШЛЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ**

**Сморкалов И.А.**

ФГБУН Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург, Россия

*ivan.a.smorkalov@gmail.com*

Дыхание почвы зависит от разных биотических и абиотических факторов. Одним из важных биотических факторов является надземная фитомасса. Для определения показателей растительности широко используют данные дистанционного зондирования Земли, в частности, нормализованный относительный индекс растительности (NDVI) - простой показатель количества фотосинтетически активной биомассы.

Цель работы - определить значения NDVI и его связь с компонентами дыхания почвы в градиенте загрязнения.

Работы проведены в июне-августе 2011-2013 годов возле Среднеуральского (СУМЗ) и Карабашского (КМЗ) медеплавильных заводов. Для каждого градиента выбрали по 10 участков на расстоянии 1-33 км от источника выбросов. На каждом участке было заложено по 3 пробные площади (ПП) (25x25 м<sup>2</sup>). Измерения общей эмиссии CO<sub>2</sub> и дыхания подстилки проводили в 10-15 точках на каждой ПП. Всего проведено 4165 измерений.

Скорость потока CO<sub>2</sub> измеряли полевыми респирометрами SR1LP (Qubit Systems, Канада) и Li-8100A (Li-Cor biosciences, США).

Для определения NDVI использовали снимки высокого разрешения (30м) со спутника Landsat 7/ETM+, наиболее близкие по времени к срокам измерений дыхания. NDVI рассчитывали по формуле:  $NDVI = (NIR - RED) / (NIR + RED)$ , где NIR и RED - измеряемые яркости ближнего инфракрасного и красного каналов сканера спутника, соответственно. Поиск и обработку снимка проводили в спутниковом сервисе Vega-science (<http://sci-vega.ru/>). Значение индекса на снимке определяли по GPS-координатам центра каждой ПП в программе QGIS v. 2.6.0. Всего получено 180 значений NDVI.

Для статистической обработки использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Учетная единица - ПП.

NDVI показал тесную связь с уровнем загрязнения в обоих районах во все годы исследования ( $R = (-0.61) - (-0.83)$ ,  $p < 0.01$ ). Это согласуется с уменьшением фитомассы при увеличении загрязнения. Корреляция индекса с величиной общей эмиссии CO<sub>2</sub> из почвы была значима ( $p < 0.05$ ) в 2011 и 2013 гг. ( $R = 0.42 - 0.54$ ). Связь NDVI с дыханием минеральных горизонтов была значима в районе СУМЗ в 2012 и 2013 гг. ( $R = 0.61$  и  $0.56$ , соответственно), в районе КМЗ - в 2011 и 2013 гг. ( $R = 0.45$  и  $0.53$ , соответственно). Не выявлено значимой корреляции NDVI с дыханием подстилки ( $R = (-0.20) - 0.20$ ), что согласуется с выводами о преимущественно микробном её дыхании в связи с очень незначительным содержанием в ней корней.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных исследований УрО РАН (проект №15-12-4-27).

## **ИЗУЧЕНИЕ И ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ВОДЫ ВОДОХРАНИЛИЩ АХПАРА И ЕРЕВАНСКОЕ ОЗЕРО ПО МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМ И ФИТОПЛАНКТОННЫМ ПОКАЗАТЕЛЯМ**

**Степанян Л.Г.<sup>1,2</sup>, Кобелян Р.О.<sup>1,2</sup>, Гамбарян Л.Р.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Научный центр зоологии и гидроэкологии Национальной Академии наук Республики Армения, Ереван, Армения; <sup>2</sup>Институт гидроэкологии и ихтиологии, Ереван, Армения

*listeus@yahoo.com*

На реке Раздан (длина 141 км), являющейся одной из крупнейших рек Армении, находятся два искусственных водохранилища: Ахпара, находящееся вблизи города Раздан, и Ереванское озеро - на территории города Ереван (столица Армении). Водохранилище Ахпара, является необходимым резервуаром запасов воды для нужд энергетики и сельского хозяйства Котайского марза. Ереванское водохранилище расположено на юго-востоке столицы и используются для рекреации, рыболовства, орошения. Главными критериями для водоемов являются показатели качества вод.

Целью данного исследования явилось изучение фитопланктонных и микробиологических эколого-санитарных показателей водохранилищ и их трофо-сапробиологическая оценка.

Изучения фитопланктона и микробиологических показателей водохранилищ проводились в весенне-осенний период 2015 года. По показателям фитопланктона в водохранилище Ахпара, наблюдалось увеличение уровня загрязнения с  $\beta$ - олигосапробного (весной) до  $\beta$ - мезосапробного (лето, осень). По эколого-санитарной классификации воды водохранилища в весенний период соответствовали разряду чистой, а в летне-осенний период - разряду достаточно чистая.

Уровень загрязнения по показателям коли-индекса и сапрофитных бактерий в течении изучаемого периода не менялся. Уровень сапробности в водохранилище Ахпара соответствовал  $\beta$ -мезосапробному, а качество воды – разряду достаточно чистая.

В весенне-осенний период, в Ереванском озере также наблюдалось увеличение уровня загрязнения. По показателям фитопланктонного сообщества уровень сапробности возрос с  $\alpha$ -олигосапробного (весна) до  $\beta$ - мезосапробного (лето, осень). По показателям эколого-санитарной классификации воды Ереванского озера имели разряд вполне чистая, а летом и осенью соответствовали разряду достаточно чистая. По показателям численности сапрофитных бактерий изменения уровня сапробности в Ереванском озере были в пределах от  $\beta$ - мезосапробного (весна, лето) до  $\alpha$ - мезосапробного (осень). Воды Ереванского озера весной соответствовали разряду достаточно чистой, летом - слабо загрязненной, осенью - умеренно загрязненной. По показателям коли-индекса воды Ереванского озера были  $\alpha$ - мезосапробными и классифицировались летом как разряд умеренно загрязненная. Осенью кишечной палочки в водах не было обнаружено.

Таким образом выявлено, что антропогенное загрязнение Ереванского озера больше, чем в водохранилище Ахпара.

### МОРФОЛОГИЯ И АНАТОМИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ СЕМЯН РОДОВ *DRYPIS* MICH. EX.L.I *ACANTHOPHYLLUM* C.A. MEY. УСЛОВИЙ В ФЕРГАНСКОЙ ДОЛИНЕ

Мадумаров Т.А., Рузматов Э.Ю., Низомова Б.Б.

Андижанский государственный университет, Андижан, Узбекистан

*eergashali@mail.ru*

М исследовали семена 25 видов, относящихся к 4 секциям рода *Acanthophyllum*, двух видов *Kughitangia*, двух – р. *Allochruza* и двух подвидов монотипного рода *Drypis*.

При изучении семени нами учитывались размеры, форма, цвет, скульптура поверхности, особенности формы, размеры клеток эпидермы семени, толщина спермодермы, ее наружной эпидермы и пигментного слоя, характер наружной стенки наружной эпидермы.

По количеству клеток эпидермы на 1 мм<sup>2</sup> спермодермы, мы также условно разделили ее на 3 группы: 1-очень мелкоклеточная (400-500); 2- мелкоклеточная (250-399); 3-крупноклеточная (110-249). Следует отметить, что анатомическое строение семенной кожуры видов рассматриваемых родов, до сих пор еще недостаточно изучено и почти не освещались в научной литературе. Лишь Б.Н. Ниязов (1965) отмечает что у видов *Allochruza* кожура семени состоит из 3-х слоев - наружной и внутренней эпидермы и пигментного слоя между ними. Основные структуры их семени-зародыш, перисперм и спермодерма развиты нормально. Однако перисперм сильнее развит по сравнению с зародышем-объем последнего составляет 1/3 перисперма.

Поверхность семян всех представителей изучаемых таксонов сравнительно гладкая, за исключением двух видов рода *Acanthophyllum* - *A. mucronatum* и *A. microcephalum* из сек. *Turbinaria*, у которых она мелко бугорчатая.

Отмечена, что, с продвижением от Средиземноморья с мягким, менее сухим климатом к горно-долинным зонам Центральной Азии с жарким, сухим и засушливым континентальным климатом, толщина наружной стенки наружной эпидермы спермодермы и ее кутикулярного слоя увеличиваются. Сопоставление географического распространения изучаемых таксонов показывает, что существует определенная связь между степенью извилистости и распространением в горах и адырах. Например, у типичных горных видов Копетдага – *A. mucronatum* и *A. microcephalum* сек. *Turbinaria*, *A. glandulosum* и других видов сек. *Pleiosperma*, а также *A. pungens*, *A. lilacinum*, *A. pulchrum*, *A. Leiostegium* из сек. *Oligosperma*, распространенных, в основном, в предгорьях и низкогорьях, очертания внешних стенок наружной эпидермы от извилистых до крупноволнистых, а у средиземноморского *Drypis*, как отмечалось, стенки клеток почти прямые или извилистые. Однако извилистые, волнистые или извилисто-волнистые очертания стенок клеток характерны и видам, произрастающим в долине.

### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ-ДЕСТРУКТОРОВ УГЛЕВОДОРОДОВ (НА ОСНОВЕ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ РАЗРАБОТОК) ДЛЯ БИОРЕМЕДИАЦИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ ТЕРРИТОРИИ ОБЪЕКТА ШЫМКЕНТСКОГО НЕФТЕПРОВОДНОГО УПРАВЛЕНИЯ (ШНУ)

Тастамбек К.Т.<sup>1</sup>, Косалбаев Б.Д.<sup>1</sup>, Ерназарова А.К.<sup>1,2</sup>, Акимбеков Н.Ш.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан; <sup>2</sup>НИИ проблем экологии, Алматы, Казахстан

*tastambeku@gmail.com*

Главные потенциальные источники загрязнения природной среды нефтью и нефтепродуктами-это работа автотранспорта, предприятий нефтеперерабатывающей и нефтехимической промышленности, многочисленные разливы нефти и НП в результате аварий трубопроводов и танкеров, нефтехранилищ и нефтеперегонных заводов.

Угроза массивованного загрязнения стимулировала разработку методов борьбы с нефтяными загрязнениями. Разработка мероприятий по биоремедиации загрязненных почв требует выяснения механизмов реакций, лежащих в основе очистительного действия различных групп микроорганизмов.

Объекты исследования – нефтезагрязненная почва территории объекта Шымкентского нефтепроводного управления.

Целью проекта является применение эффективных штаммов нефтеокисляющих бактерий для восстановления биологической активности нефтезагрязненных грунтов.

В результате выполнения НИР получены следующие результаты: Установлено, что количество микрофлоры в пробах незагрязненной и нефтезагрязненной почвы различно, так ОМЧ проб составило 210x10<sup>6</sup> кл/г и 130x10<sup>6</sup> кл/г, соответственно. В исследуемых пробах выявлены следующие группы

микроорганизмов: актиномицеты, спороносные микроорганизмы, грибы, нитрификаторы, денитрификаторы, азотфиксаторы. Выделены, штаммы A5, A6 и P15 отнесены к роду *Bacillus spp.*, штаммы A1, P16 и P12 отнесены к роду *Ps. spp.*, штамм A8 отнесен к роду *Alcaligenes sp.* A8, штамм A2 отнесен к роду *Micrococcus spp.* Выявлены, активные по деструкции углеводов культуры *Ps.sp.* P16, *Ps.sp.* P12 и *Alcaligenes sp.* A8. Следует отметить, активное размножение коллекционной культуры клеток *Alcaligenes sp.* A8 с первых суток, пик наибольшего показателя количества клеток в среде составил 490x10<sup>6</sup>кл/мл на 5-ые сутки, аборигенные культуры *Ps. sp.* P16 и *Ps.sp.* P12 показали более низкие результаты - 330x10<sup>6</sup> кл/мл 298x10<sup>6</sup> кл/мл, соответственно. Установлено, что в ассоциации штаммы *Ps.sp.* P16, *Ps.sp.* P12 и *Alcaligenes sp.* A8 показали лучший рост на среде с углеводородами по сравнению с монокультурами.

Таким образом, выбраны критерии масштабирования, включающие перемешивание, время полного перемешивания и число аэрации, дозы инокулята и времени и оптимального pH. Установлено, что количество нефтепродукта за 120 суток, в варианте с внесением микроорганизмов снизилось до 34 г/кг, в варианте с минеральными удобрениями до 25 г/кг.

## ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ ЛОКАЛЬНОЙ ВИБРАЦИИ НА ОРГАНИЗМ ГОРНОРАБОЧИХ НА ОСНОВЕ МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

Темиргалиева Г.Н.

Учебно-исследовательский экобиоцентр акимата города Усть-Каменогорска,  
Усть-Каменогорск, Казахстан

*gauhar\_sagittarius@mail.ru*

В основе системы оценки риска здоровье человека от воздействия факторов производственной среды лежат зависимости «доза – время – эффект». Закономерности «доза – время – эффект» мало изучены. В основе этих закономерностей лежат принципы пороговости и гигиенических критериев. Наличие подобных закономерностей позволяет проводить ориентировочную оценку рисков. Эффект действия производственных факторов на здоровье работающих обычно выражают в показателях заболеваемости с временной утратой трудоспособности и профессиональной хронической заболеваемости, а в нашем случае это будет возникновение вибрационной болезни. Гигиеническое нормирование устанавливается отдельно для общей и локальной вибрации. Локальная вибрация нормируется в диапазонах частот 16, 31,5, 63, 125, 250, 500, 1000 Гц. Нормы установлены для продолжительности рабочей смены в 8 часов. В условиях Усть-Каменогорской профпатологической клиники проанализировано состояние здоровья у 84 горнорабочих Риддерского горно-обогатительного комбината с вибрационной болезнью различной степени выраженности. Горнорабочие виброопасных профессий представлены проходчиками и бурильщиками, работающих в комплексных бригадах. Для выявления риска возникновения вибрационной болезни среди рабочих Риддерского ГОКа была использована математическая модель, изучены и проанализированы закономерности в системе «доза – время – эффект». В связи с этим, была построена математическая модель по следующим критериям: дозная нагрузка вибрации (уровень) и время контакта с вибрацией (стаж). Полученные данные отражают следующую картину: с ростом полученных доз вибрации человеком время возникновения эффекта от воздействия физического фактора сокращается. При частоте вибрации до 250 Гц, соответствующей ПДУ локальной вибрации 109 дБ при стаже работы 5 лет возникает адекватная ответная реакция организма рабочего. При дозе вибрации с частотой 300 Гц (130 дБ) возможна ответная реакция при стаже 3,5 года и развитие вибрационной болезни. При воздействии физического фактора частотой 400 Гц (174 дБ) организм человека реагирует при контакте с ним уже через 2 года. Следовательно, с одной стороны с увеличением дозной нагрузки вибрации, сокращается время для возникновения негативных ответных реакций организма и развития вибрационной болезни. С другой стороны, с увеличением стажа работы рабочего с виброоборудованием, дозная нагрузка уменьшается. Таким образом, по результатам математического моделирования можно определить полученный эффект организма человека при воздействии определенных уровней вибрации и времени контакта с ним.

## К ИЗУЧЕНИЮ ЦЕНОПОПУЛЯЦИЙ БОЯРЫШНИКА ТУРКЕСТАНСКОГО (*CRATAEGUS TURKESTANICA* POJARK.) В ГОРАХ КУНГУРБУКА ЧАТКАЛЬСКОГО ХРЕБТА

Тожибоев М.У., Расулова О., Бурикулов А.Т.

Андижанский государственный университет, Андижан, Узбекистан

*tmurodali@mail.ru*

В Средней Азии боярышники представлены 9 видами. Больше видов держится в среднегорье, в области предгорья. Из них в Узбекистане произрастают 5 видов. Боярышники являются значительно ксерофитной и светолюбивой породой. Типичная форма сообитания всех видов боярышников – редколесье. Самый распространенный вид рода является боярышник туркестанский.

Боярышник туркестанский (*Crataegus turkestanica* Pojark.) широко распространено в Юго-Западном Тянь-Шане (ЮЗТШ), в том числе в горах Кунгурбука Чаткальского хребта. В западных отрогах горы

Кунгурбука встречаются крупные заросли боярышника туркестанского (до 2 га) в поясе между 960-1480 м над ур. м., где встречается в составе различных формаций, реже в виде чистых насаждений. Внизу к боярышнику туркестанскому примешиваются более засухоустойчивый боярышник понтийский (*Cr.pontica* С.Koch.). Более полные насаждения вида формируется на мягких лёссовых склонах, покрытых коричневыми почвами. В этих условиях густота их возрастает до 0,7.

Целью изучения ценопопуляций вида мы выкладывали 10 пробных площадей в размером 2500 м<sup>2</sup>, в разных местообитаниях вида с различными условиями. В пяти из этих ценопопуляциях, их число достигло от 428 до 492 особей нормального состояния. Только в одной ценопопуляции, их число не превышает 200 особей, но видны недавно вырубленные особи людьми для топлива.

Боярышник туркестанский (*Crataegus turkestanica* Rojark.) доминирует и играет роль эдификатора в многих ассоциациях растительном покрове исследуемого района. Каждым годом возрастают количество и расширяются ареал распространения вида. В ходе изучения выявлено, что данный вид является самым прогрессивным и распространенным видом в растительном покрове горы Кунгурбука.

### **ВЛИЯНИЕ ПОЛИВАРИАНТНОСТИ ОНТОГЕНЕЗА НА ПОПУЛЯЦИОННУЮ ДИНАМИКУ ЧЕРНИКИ ОБЫКНОВЕННОЙ – МОДЕЛЬНЫЙ ЭКСПЕРИМЕНТ**

**Фролов П.В., Зубкова Е.В., Шанин В.Н.**

ФГБУН Институт Физико-химических и биологических проблем почвоведения Российской академии наук,  
Пушино, Россия  
*ximikadze@gmail.com*

Поливариантность онтогенеза приводит к изменению хода индивидуального развития особи и обеспечивает разнообразие путей онтогенеза. В неблагоприятных условиях магистральный путь онтогенеза (Se→P→Im→V→G1→G2→G3→Ss→S) может быть прерван каким-либо внешним фактором, например, недостатком освещенности, влажности или загрязнением окружающей среды. В данной ситуации реализуется способность видов использовать дополнительные пути онтогенеза. Такая возможность позволяет популяциям сохранить свою структуру в изменившихся условиях. В этом случаях онтогенез может быть неполным, т.е. с пропуском некоторых онтогенетических состояний.

Для оценки влияния поливариантности онтогенеза на стабильность популяции черники обыкновенной (*Vaccinium myrtillus* L.) был проведен ряд модельных экспериментов с использованием разработанной ранее решетчатой имитационной модели CAMPUS. В ходе компьютерного эксперимента была рассмотрена динамика двух популяций черники. Особи обеих популяций имели одинаковые схемы разрастания в ходе онтогенеза и одинаковую чувствительность к внешним условиям. Различия между популяциями заключались только в используемых матрицах переходов между онтогенетическими состояниями. Для особей одной из популяций использовалась матрица с последовательными переходами особи из одного онтогенетического состояния в последующее, без пропусков и задержек в развитии. Во второй популяции использовалась матрица, разработанная В.В. Шутовым (с задержками и ускорениями развития), которая близка к реальному онтогенезу большинства особей.

Результаты моделирования показали, что популяция черники, особи которой развивались в соответствии с матрицей В.В. Шутова, имеет полночленный возрастной спектр, в отличие от популяции черники с последовательными переходами между онтогенетическими состояниями. На основании анализа возрастного спектра популяции с последовательными переходами можно сделать вывод, что она не является стабильной (в силу наличия «провалов» в онтогенетическом спектре) и будет сильнее реагировать на внешние воздействия. Таким образом, результаты имитационных экспериментов демонстрируют роль поливариантности онтогенеза в поддержании устойчивости популяций.

### **АССОЦИАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ ДЛЯ ДЕГРАДАЦИИ НЕФТЕЙ, СОДЕРЖАЩИХ ПРЕИМУЩЕСТВЕННО ТВЕРДЫЕ ПАРАФИНЫ**

**Фунтикова Т.В.<sup>1,2</sup>, Филонов А.Е.<sup>1,2</sup>**

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

*dujmo@mail.ru*

Нефть и продукты ее переработки являются самыми распространенными загрязнителями окружающей среды. Углеводородную часть нефти составляют алканы (парафины), нафтены и арены. В зависимости от длины углеродной цепи алканы могут принимать одно из трех агрегатных состояний. Углеводороды от C<sub>17</sub> и выше при нормальных условиях являются твердыми веществами (твердыми парафинами). Процесс деградации твердых парафинов микроорганизмами затруднен, поскольку они не растворимы в воде, что приводит к их накоплению в окружающей среде. Целью данной работы являлась разработка ассоциаций микроорганизмов как основа биопрепарата для деградации нефтей, содержащих преимущественно n-алканы с длинной цепи C<sub>17</sub> и выше. В работе были использованы 8 штаммов-



нефтедеструкторов и дизельного топлива, ранее выделенных из нефтезагрязненных почв Западной Сибири и Казахстана. Исследуемые микроорганизмы были идентифицированы как представители родов *Rhodococcus* и *Pseudomonas*. Исследуемые штаммы снижали поверхностное натяжение культуральной среды до 40-60 мН/м, что свидетельствует об их выраженной эмульгирующей активности. Для двух штаммов *Rhodococcus* и штамма *Pseudomonas* было показано, что продуцируемые ими биоПАВ не связаны с клеточной стенкой микроорганизмов и содержатся в культуральной жидкости при росте на гидрофобных субстратах. Методом ИК-спектроскопии оценивали деградативную активность штаммов в процессе культивирования микроорганизмов в минеральной среде Эванса с добавлением 2% нефти (содержащей 77,6% парафинов) при различных температурах (5 и 24°C) в течение 10 суток. На основании полученных данных были отобраны 4 наиболее активных штамма, которые деградировали более 50% нефти при 24°C и свыше 24% нефти при 5°C. Были составлены две ассоциации микроорганизмов: ассоциация №1, состоящая из трех штаммов рода *Rhodococcus* и ассоциация №2, состоящая из штамма *Pseudomonas* и двух штаммов *Rhodococcus*. Ассоциации культивировали при температурах 5, 24 и 37°C в жидкой минеральной среде, содержащей 2% нефти, в течение 10 суток. Анализ содержания остаточной нефти показал, что ассоциация №1 способна к деградации 48% нефти при 24°C, 38% при 37°C и 15% при 5°C. Степень деградации нефти ассоциацией №2 была ниже: 27% при 24°C, 8% при 37°C и 17% при 5°C. Проведенный анализ численности микроорганизмов в составе ассоциаций показал, что в ассоциации №1 доминировали один из штаммов *Rhodococcus*, а в ассоциации №2 доминировал штамм *Pseudomonas*.

Работа выполнена при поддержке гранта «У.М.Н.И.К.» № 5190ГУ1/2014

### ИЗМЕНЕНИЕ ДИНАМИЧЕСКОЙ ПЛОТНОСТИ ГЕРПЕТОБИОНТНОЙ МЕЗОФАУНЫ НА ОЧАГЕ КОРРОДА ТИПОГРАФА (*IPS TYPOGRAPHUS*) В ЕЛЬНИКЕ

Харичкин Д.А., Марютин Д.В., Алексеев А.С.

Экологический клуб "Stenus", Калуга, Россия

*wergil101@gmail.com*

Исследования проводились на территории Галкинского лесничества национального парка «Угра». К осени 2010 года в ельнике кустарничково-кислично-зеленомошном (*Picea abies* - *Vaccinium myrtillus* + *Pleurozium schreberi*) на обширных площадях полностью сформировались очаги короэда-типографа (*Ips typographus* L. (Coleoptera, Scolytidae)). К середине лета 2011 года в очагах наступила стадия стволовых вредителей. Осветление леса, опад хвои и коры с погибших елей изменили почвенно-растительные условия на очагах. С весны 2012 года в очаге короэда-типографа и на контрольном участке ельника проводились учеты напочвенной мезофауны (без моллюсков и дождевых червей) с помощью ловушек Барбера. Было учтено 17670 экз. на контроле и 19256 экз. в очаге.

Насекомые на контроле и очаге составляли 67 и 79% от всей динамической плотности (ДП) беспозвоночных.

ДП *Trachelipus rathkei* и *Ligidium hypnorum* (Isopoda: Oniscidea) в очаге уменьшилась до 0,4 экз. на 100 л-сут. с 3,8 экз. на 100 л/сут. (контроль). У представителей *Aganeis* ДП осталась практически неизменной (100,1 на контроле и 112,1 на очаге). У *Opiliones* - ДП в очаге сократилась в три раза с 71,5 до 23,4 экз. на 100 л/сут. Вдвое уменьшилась ДП у *Diploroda* и *Chilopoda* соответственно с 43,9 до 22,3 и с 19,0 до 10,1 экз. на 100 л/сут.

Суммарная ДП насекомых возростала на очаге с 481,8 (контроль) до 623,9 экз. на 100 л/сут. У жуужелиц (Coleoptera: Carabidae) ДП осталась практически неизменной (121,3 и 118,9 экз. на 100 л/сут.).

У представителей *Staphylinidae* (Coleoptera) ДП уменьшилась с 100,8 до 71,2 экз. на 100 л/сут. ДП муравьев в очаге увеличилась с 132,4 до 309,4 экз. на 100 л/сут. Из прочих насекомых лишь у тараканов (Blattoptera), цикадок (Auchenorrhyncha) и клопов (Heteroptera) динамическая плотность увеличилась в очаге в 1,3; 2,0 и 17,9 раза соответственно.

В целом в очаге короэда-типографа в ельнике при незначительном изменении видового состава существенно изменяется ДП мезофауны *Arthropoda* в сравнении с контрольным участком.

### GENERAL SPECIES OF PHYTOPLANKTON COMMUNITY OF THE MAIN TRIBUTARIES OF LAKE SEVAN BASED ON INDEX OF FREQUENCY OCCURRENCE

Хачикян Т.Г., Мамян А.С., Гамбарян Л.Р.

Научный центр зоологии и гидроэкологии Национальной Академии наук Республики Армения, Ереван, Армения, Институт гидроэкологии и ихтиологии, Ереван, Армения

*tkhachikyan@mail.ru*

There are 28 rivers flows to the Lake Sevan from which the highest influence on the limnoecosystem have rivers Dzknaget (22 km), Gavaraget (50 km), Lichk (8 km), Makenis (26 km), Vardenis (28 km), Argitchi (51 km) and Masrik (69 km). Study of phytoplankton community of mentioned rivers were carried out in autumn of 2015.

During the study, 127 species of algae were recorded in the phytoplankton community of the investigated rivers. The 96 % of recorded algae were belonging to the three major groups of phytoplankton: diatoms (Bacillariophyta), green (of Chlorophyta) and blue-green algae (Cyanophyta). The other 4 % of registered algae were belonging to the groups of Xanthophyta, Euglenophyta, Dinophyta.

During the study, the highest diversity of algae- 72 species was registered in the river Lichq, in the river Masrik was registered 54 species and in the river Vardenis was registered 48 species. The lowest diversity of algae was registered in the river Makenis- 34 species.

The 65 % of species composition had lowest frequency occurrence indices. The 20% of species composition had average value of frequency occurrence indices.

The 15 % of species composition was recorded high values of frequency of occurrence (85-100%). These are mainly diatomic algae with high quantity such as *Melosira varians*, *Cocconeis placentula*, *Ceratoneis arcus*, *Diatoma vulgare*, *D. hiemale*, *Fragilaria capucina*, *F. construens*, *Gomphonema olivaceum*, *Cymbella ventricosa*, *Amphora ovalis*, *Rhoicosphenia curvata*, *Navicula cryptocephala*, *N. gracilis* ect.. The species *Aphanothece clathrata*, *Microcystis aeruginosa* and *Spirulina sp.* from the group of blue-green algae was recorded high value of frequency of occurrence.

The base of the floristic structure in all investigated rivers was the above mentioned species.

Thus, the high percentage of frequency of occurrence in the phytoplankton community mainly had species with high values of quantity and biomass. These species have wide range of ecological adaptation to the environmental conditions.

### **О РАСПРОСТРАНЕНИИ И ВИДОВОМ СТАТУСЕ ПРУДОВОЙ НОЧНИЦЫ (*MYOTIS DASYCNEME* VOIE, 1825) В ТВЕРСКОЙ ОБЛАСТИ**

**Христенко Е.А.**

ГБОУ ВПО Тверской государственный университет, Тверь, Россия

*alliceullen2222@yandex.ru*

Прудовая ночница (*Myotis dasycneme* Voie, 1825), относящаяся к семейству Гладконосые летучие мыши (*Vespertilionidae*), включена в Красный список МСОП со статусом «уязвимый вид с прогнозируемым уменьшением численности в результате сокращения области обитания». Целью нашего исследования было уточнение географического распространения данного вида в пределах Тверской области, оценка доли в составе населения рукокрылых и выявление экологического статуса вида в регионе.

Исследования охватывали период 2010–2016гг. и включали: автомобильный акустический мониторинг рукокрылых с использованием bat-детектора с расширением по времени, отлов паутиными сетями, поиск дневных убежищ, изучение зимних местообитаний в Старицком р-не – известковой штольни «Ледяная» в 2013-2016 г., штолен «Лисичка» и «Парабеллум» в 2015 г.

По итогам шестилетнего экологического мониторинга, прудовая ночница отмечалась в Бологовском, Максатихинском, Кашинском, Старицком, Кувшиновском и Андреапольском районах. В целом, процентная доля данного вида от всех зафиксированных ультразвуковых сигналов рукокрылых составила 1,1%.

23 июля 2015 г. в д. Корхово Бологовского р-на (57°59' с. ш.; 34°14' в. д.) найдено дневное убежище одиночного самца под крышей дома. 29 июля 2015 г. еще один самец прудовой ночницы был отловлен паутиной сетью над р. Кемка (57°59' с.ш., 34°16' в.д.) (из 13 отловов и 24 пойманных особей, относящихся к 7 видам летучих мышей).

На зимовках в пещере «Ледяная» долевое участие прудовой ночницы в населении рукокрылых в 2013 г. составила 35,5%, в 2014 г. – 8,75%, в 2015 г. – 4,6%, в 2016 г. – 0,53%. Таким образом, наблюдается уменьшение процентной доли *M. dasycneme* в составе населения рукокрылых, использующих данную штольню, как зимнее убежище.

В каменоломне «Лисичка» обнаружено 3 одиночные особи, что составило 5,9% от общего числа зарегистрированных летучих мышей, в штольне «Парабеллум» – скопление из 11 особей (доля вида в составе населения рукокрылых – 15,1).

Предлагается закрепить за *M. dasycneme* статус «очень редкий» вид, что позволит внести его в региональную Красную книгу.

### **ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ВОДОЕМОВ НА ОСНОВЕ МАРКЕРНЫХ БЕЛКОВ СО1 ИНДИКАТОРНЫХ ГИДРОБИОНТОВ**

**Хусаинов А.М., Фролова Л.Л.**

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

*shade0602@yandex.ru*

Как известно экологическая обстановка напрямую оказывает влияние на здоровье человека. В каждом населенном пункте имеются естественные или искусственные водоемы – реки, озера, пруды,

водохранилища. По загрязненности воды в этих водоемах можно судить об экологическом состоянии местности вблизи них. В связи с сильным антропогенным воздействием на биосферу мониторинг водных объектов крайне актуален, особенно в городах с большим количеством водоемов. Биоиндикация является одним из основных методов оценки состояния водоемов. Метод заключается в определении индикаторных видов организмов по морфологическим признакам, и мнение эксперта может быть субъективным. Мы предлагаем новый способ оценки, базирующийся на современных инструментальных методах молекулярной генетики и биоинформатики, который позволит достоверно и в короткие сроки оценивать экологическое состояние водоемов.

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

Определение индикаторных организмов по маркерному белку позволит избежать использование микроскопа и даст возможность работать с совокупностью организмов из одной пробы. Для этого в работе проведен анализ степени межвидовой вариабельности аминокислотных последовательностей белка цитохром *c*-оксидазы I на предмет применения в качестве маркерного для идентификации в пробе воды зоопланктонных и зообентосных организмов. Для 23 индикаторных зоопланктонных организмов и 19 индикаторных зообентосных организмов идентифицированы уникальные олигопептидные участки белка COI, не имеющие гомологичных участков у данных белков других видов. Использование маркерного белка цитохром *c*-оксидазы I позволит в более краткие сроки получать объективную достоверную информацию о состоянии водоема.

### **ОСОБЕННОСТИ РАЗМЕРНОЙ СТРУКТУРЫ ПАЛЕВОГО МОРСКОГО ЕЖА (*STRONGYLOCENTROTUS PALLIDUS*) В ЗАЛИВЕ ПЕТРА ВЕЛИКОГО (ЯПОНСКОЕ МОРЕ)**

**Чалиенко М.О., Дробязин Е.Н.**

ФГБНУ Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр, Владивосток, Россия

*yumbo@yandex.ru*

Палевый морской ёж - характерный представитель шельфа и материкового склона зал. Петра Великого. Для определения закономерностей формирования скоплений и особенностей роста этого перспективного промыслового объекта необходимы сведения о размерной структуре его поселений. Изучение распределения различных размерно-возрастных групп в заливе ранее не проводилось. Таким образом, настоящая работа посвящена исследованию пространственно-временной изменчивости размерной структуры *S. pallidus* в зал. Петра Великого.

Материал был собран весной в ходе траловых съемок с 2013 по 2015 гг. на глубинах от 5 до 700 м. За весь период исследований на основе различий в размерном составе скоплений *S. pallidus* было выделено пять батиметрических диапазонов: 1 – от 25 до 40 м (западная часть залива), где средние размеры ежей в разные годы варьировали от 29 до 34 мм; 2 – 40-55 м (55-57 мм); 3 – 55-100 м (65-74 мм); 4 - 100-200 м (35-66 мм) и 5 – 200-700 м со средними размерами от 27 до 41 мм. Мелкоразмерные особи (<45 мм) в основном встречались на глубинах до 40 м и глубже 200 м, при этом диапазоны 40–55 м и 100–200 м являются пограничными районами, где обитают как крупные ежи, так и размером <45 мм.

На глубинах 55-100 м с 2013 по 2015 гг. отмечено смещение модальной группы в правую часть. Так в 2013 г. преобладали особи размером 60-70 мм (58%), в 2014 г. – 65-75 мм (57%) и в 2015 г. – 70-75 (30%). Также увеличилась доля ежей размером 75-80 мм с 8% до 18%. Мелкоразмерные ежи в уловах встречались редко, их доля варьировала от 0,2% в 2015 г. до 6% в 2014 г.

Возможно личинок морских ежей, обитающих на внешнем шельфе (60-150 м), сносит течениями в нижнюю часть шельфа и на материковый склон, а также в западный район залива до глубин 40 м, где происходит их оседание. В дальнейшем подросшая молодежь вероятно способна мигрировать обратно в сторону внешнего шельфа, где условия обитания наиболее оптимальны для этого вида. В тоже время в некоторых районах материкового склона образуются поселения тугорослых ежей, способных к воспроизводству. Помимо влияния гидродинамики высокая величина мелких ежей в указанных районах, может быть обусловлена более благоприятными условиями для выживания молодежи, например, наличием укрытий. Так на материковом склоне распространены смешанные грунты (песок с галькой и камнями), а в западной части залива до 40 м – ракуша. Возможно, что в зоне внешнего шельфа на более открытых участках дна, покрытых мелкозернистыми грунтами, молодежь выедается с большей интенсивностью.

## СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ КЛЕТОЧНОГО СОСТАВА КОСТНОГО МОЗГА ОЗЕРНЫХ ЛЯГУШЕК (*PELOPHYLAX RIDIBUNDUS*) УРБАНИЗИРОВАННОЙ ТЕРРИТОРИИ

**Романова Е.Б., Шаповалова К.В.**

ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

*kristin.shapovalova@gmail.com*

Костный мозг является центральным органом гемопоза и иммунной системы позвоночных животных. Сравнительное изучение клеточного состава костномозговой продукции позволяет оценить тканевые взаимоотношения в костном мозге позвоночных и уровень их адаптаций к изменяющимся условиям среды.

Цель работы – оценка клеточного состава миелоидного и эритроидного рядов костного мозга озерных лягушек (*Pelophylax ridibundus*), обитающих в водоемах Нижегородской области.

Сбор материала осуществлялся в полевой сезон 2015 г. из водоемов г. Н. Новгорода (оз. Парковое, Автозаводский район) и Нижегородской области (оз. Свято, Арзамасский район) в разной степени подверженной действию урбанизации и загрязнения.

Дифференцированный подсчет клеток костного мозга (в %) проводили по окрашенным по Романовскому-Гимзе препаратам, под микроскопом с иммерсионной системой, определяя клетки миелоидного и эритроидного ростка гемопоза и рассчитывая интегральный индекс миелограммы. Статистический анализ осуществляли с помощью непараметрических критериев Крускала-Уоллиса и Дана. Критический уровень значимости ( $p$ ) принимали равным 0,05.

При дифференцированном анализе миелограмм амфибий выявлено изменение долей клеток разных ростков костного мозга в зависимости от места их обитания. Так, у озерных лягушек, обитающих в оз. Парковое (г. Н.Новгород, Автозаводский район) наблюдался сдвиг миелограммы в сторону возрастания числа клеток эритроидного ряда, что связано с активацией процессов кроветворения в условиях урбанизации и повышенного загрязнения.

Преобладающими по численности клетками в миелограммах озерных лягушек оз. Свято оказались наименее дифференцированные клетки миелоидного ряда – миелобласты, Доля которых возростала в 1,9 раза ( $Z_{1-2}=4,50$ ,  $p=0,00002$ ) по сравнению с озерными лягушками оз. Парковое. Сдвиг миелограммы амфибий в сторону миелоидного роста мог быть вызван либо паразитарными инвазиями, характерными для естественных мест обитаний, либо интегральной ответной реакцией организма на особенности водного режима оз. Свято: природного карстового происхождения, непроточного, с высоким содержанием гуминовых кислот. Интегральный индекс миелограммы имел низкое значение у популяции озерных лягушек оз. Парковое, по сравнению с аналогичным показателем озерных лягушек оз. Свято ( $Z_{1-2}=4,52$ ,  $p=0,000018$ ), что обуславливалось активацией эритроидного ростка гемопоза при загрязнении среды обитания.

Сравнение миелограмм озерных лягушек позволяет оценить качество условий среды обитания вида.

## ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕССА И ПАРАЗИТАРНОЙ ИНВАЗИИ НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ У ЛЕГОЧНОГО МОЛЛЮСКА *LYMNAEA STAGNALIS* РАЗНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ РЕСП. БЕЛАРУСЬ

**Хомич А.С.<sup>1</sup>, Бодилевская О.А.<sup>1</sup>, Широкова Ю.А.<sup>1,2</sup>, Шапова Е.П.<sup>2</sup>, Лубяга Ю.А.<sup>2</sup>, Емшанова В.А.<sup>2</sup>, Аксенов-Грибанов Д.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Международный государственный экологический институт им А.Д. Сахарова БГУ, Минск, Беларусь;

<sup>2</sup>Научно-исследовательский институт биологии ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

*yuliashirokova2501@gmail.com*

Любая водная экосистема имеет сложную систему подвижных биологических связей, которые нарушаются под воздействием антропогенных факторов. В первую очередь это касается локальных пресноводных экосистем, т.к. именно благодаря своей значимости в жизни человека, пресноводные водоемы чаще попадают в сферу его промышленного освоения. В результате, именно на пресноводные водоемы оказывается наибольшая антропогенная нагрузка, зачастую носящая негативный характер. Это прежде всего отражается на состоянии их биоты, в том числе на сообществах пресноводных моллюсков - одной из доминирующих групп зообентоса в экосистемах водоемов умеренной зоны Евразии.

Легочный моллюск *Lymnaea stagnalis* (Linnaeus, 1758) является одним из немногих видов гастропод, способных успешно существовать в водоемах с высоким уровнем индустриально - бытового, теплового и радиационного загрязнения. Данный вид является одним из распространенных модельных объектов в исследованиях, посвященных широкому кругу эколого-биохимических и токсикологических проблем.

Однако, в большинстве исследований с особями из природных популяций *L. stagnalis* не учитывается, что данный организм является промежуточным хозяином нескольких видов паразитических трематод.

Целью настоящего исследования являлась оценка влияния совместного эффекта температурного стрессового воздействия и паразитарной инвазии на активность ферментов антиоксидантной системы (пероксидазы, каталазы и глутатион S-трансферазы) у разных популяций широко распространенного вида легочных моллюсков *Lymnaea stagnalis* респ. Беларусь. Показано, что у контрольной выборки неинвазированных моллюсков из чистого озера Нарочь активность каталазы и глутатион S-трансферазы статистически значимо ниже, чем у гастропод, обитающих в загрязненном Чижовском водохранилище. При повышенной температуре среды (35°C) отмечали специфические различия, в том числе: снижение активности пероксидазы и увеличение активности каталазы у неинвазированных моллюсков обоих водоёмов; повышение активности глутатион S-трансферазы у неинвазированных моллюсков, обитающих в загрязненном Чижовском водохранилище и др.

Исследование проведено при частичной финансовой поддержке проектов Министерства образования и науки РФ (Госзадание 1354–2014/51), РНФ (проект N 14-14-00400), РФФИ (проекты N 16-34-00687 мол\_а, 15-54-04062 мол\_бел\_а), АФГИР (FSCX-15-61168-0), а также грантов Иркутского государственного университета для молодых ученых.

### **ЛИЧИНКИ ЭНДЕМИЧНЫХ БАЙКАЛЬСКИХ РУЧЕЙНИКОВ *BAICALINA THAMASTOIDES* НЕ ПРОЯВЛЯЮТ ВЫРАЖЕННУЮ СТРЕСС-РЕАКЦИЮ НА ВВЕДЕНИЕ ИНКАПСУЛИРОВАННОГО pH-СЕНСОРА SNARF-1**

**Щапова Е.П.<sup>1</sup>, Гурков А.Н.<sup>1</sup>, Белоусова И.А.<sup>2</sup>, Бадиев Б.К.<sup>1</sup>, Верещагина К.П.<sup>1</sup>, Тимофеев М.А.<sup>1</sup>**  
<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт систематики и экологии животных Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия

*shchapova.katerina@gmail.com*

Одним из перспективных инструментов для прижизненной оценки стрессовых состояний организма являются инкапсулированные в микрокапсулы флуоресцентные сенсоры, чей спектр флуоресценции реагирует на такие параметры как pH или ионный состав. Инкапсулированные флуоресцентные сенсоры могут найти широкое применение в экологическом мониторинге водных экосистем. Однако введение микрокапсул в организм для регистрации физиологических параметров может сопровождаться реакцией защитных систем организма на введенные сенсоры, что может помешать адекватной оценке состояния организма с их помощью.

Целью данной работы являлась оценка возможности развития стресс-ответа у личинок массового эндемичного вида ручейников *Baicalina thamastoides* (Martynov, 1914), населяющих литоральную зону озера Байкал, после введения инкапсулированных сенсоров, содержащих pH-чувствительный краситель SNARF-1. Личинки ручейников зачастую обладают сравнительно низкой устойчивостью к стрессовым факторам среды и поэтому могут использоваться в качестве высокочувствительных тест-объектов в экологическом мониторинге водоёмов. В качестве стресс-маркеров были использованы показатели активности трёх ферментов, играющих ключевую роль в функционировании защитных систем организма: супероксиддисмутаза, неспецифических эстераз и глутатион-S-трансферазы.

Результаты работы свидетельствуют об отсутствии токсичности и выраженного стресс-ответа антиоксидантной и детоксицирующей систем у личинок *B. thamastoides* как на инъекции пустых микрокапсул, так и на инъекции инкапсулированного pH-сенсора SNARF-1. Данная работа была поддержана грантами РНФ №15-14-10008 и РФФИ №15-29-01003.

### **ТРЕМАТОДОФАУНА БРЮХОНОГИХ МОЛЛЮСКОВ СООБЩЕСТВ ПЛОТНЫХ ПОСЕЛЕНИЙ *MYTILUS EDULIS* (MOLLUSCA: BIVALVIA): ВЛИЯЮТ ЛИ МИДИИ НА РАСПРОСТРАНЕНИЕ ПАЗАРИТОВ?**

**Щенков С.В., Сказина М.А.**

ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*sergei.shchenkov@gmail.com*

Сложные сообщества мидиевых банок (плотных литоральных поселений *Mytilus edulis*) представлены совокупностью большого числа видов. Взаимодействие между ними – один из острых вопросов современной экологии. Среди животных, обитающих на мидиевых банках - множество видов трематод. Они формируют микропопуляции в брюхоногих моллюсках. В свою очередь, гастроподы обладают ограниченной подвижностью. Зараженные трематодами моллюски не способны покинуть пределы мидиевой банки. Взаимодействие между дигенетическими сосальщиками, формирующими микрогемипопуляции на мидиевых банках и остальными компонентами этой системы не изучено.

Нами проведено сравнение видового состава трематод в брюхоногих моллюсках *Littorina saxatilis* и *L. obtusata* на 6-ти мидиевых банках и прилежащих к ним территориям в Кандалакшском заливе Белого моря. В каждом случае взято по 3 серии проб: 1 на мидиевой банке и 2 – вне ее. Пробоотбор проведен на случайно выбранных территориях рамкой  $\frac{1}{4}$  м<sup>2</sup>. На предмет инвазии трематодами проверено 5327 особей брюхоногих моллюсков, обнаружено 8 видов трематод. Для оценки связи между вероятностью заражения тем или иным видом паразитов и характеристиками моллюсков-хозяев был проведен регрессионный анализ. Статистическая обработка данных выполнена с использованием программной среды “R”.

Для партенит трематод, представителей таксонов Notocotilidae и Plagiorchiidae, зависимость заражения от изученных факторов не выявлена. Вероятность заражения трематодами Echinostomatidae и Rencolidae зависит от вида и размеров моллюска-хозяина. Вероятность заражения дигенетическими сосальщиками таксонов *Cryptocotyle sp.*, *Podocotyle sp.* зависит от размеров моллюска-хозяина и от положения относительно плотного поселения мидий. Согласно показаниям подобранной математической модели, выше вероятность заражения для более крупных моллюсков. Гастроподы, обитающие на мидиевых банках, заражаются этими паразитами реже, чем обитающие за его пределами. Т.е. мидии на плотных поселениях оказывают влияние на заражение трематодами их промежуточных хозяев (брюхоногих моллюсков).

Авторы выражают благодарность сотрудникам Кандалакшского государственного природного заповедника за предоставленную возможность проведения полевых работ на охраняемой территории.

### ХАОТИЧЕСКАЯ ДИНАМИКА ПАРАМЕТРОВ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ ДЕТЕЙ ПРИ СМЕНЕ КЛИМАТИЧЕСКИХ ПОЯСОВ

Эльман К.А., Горбунов Д.В., Срыбник М.А., Горбунова Д.С.

Бюджетное учреждение высшего образования Сургутский государственный университет  
Ханты-Мансийского автономного округа — Югры, Сургут, Россия

Elmanka@bk.ru

Более столетия идет дискуссия о возможности применения различных статистических методов в оценке динамики кардиоинтервалов (КИ). Главная проблема в этой низкой эффективности традиционной науки заключена именно в хаотической особенности поведения КИ, которые очень похожи на постуральный тремор (там получаются аналогичные результаты и по применению стохастики в изучении произвольности и непроизвольности движений). В целом, особенностью всех процессов, обеспечивающих гомеостаз, является постоянная хаотическая динамика изменения всех параметров  $x_i$  вектора состояния сложных биосистем—complexity  $x=x(t)=(x_1, x_2, \dots, x_m)^T$  в фазовом пространстве состояний. Как мы показали на многочисленных примерах для  $x(t)$  и его компонент  $x_i$  всегда выполняется условие  $dx/dt \neq 0$ ,  $x_i \neq \text{const}$ .

При изучении сложных систем, в первую очередь биомедицинских, очень важно решить две задачи: во-первых, установить наличие различий между начальным состоянием системы и конечным; во-вторых, выделить наиболее существенные признаки, для которых эти различия регистрируются. С помощью нейронных сетей была решена задача бинарной классификации по всем парам сравнений: были не только разделены пары выборок, но также ранжированы диагностические признаки (параметры ВСР)  $x_i$  по их весам  $w_i$ . Однако решение задачи бинарной классификации нейроэмулятор выполняет стохастически. Здесь предлагается метод множественных итераций, с усреднением получаемых в результате обучения нейронной сети весовых коэффициентов.

Сейчас становится очевидным, что все расчеты без должного числа итераций  $k$  в различных научных сообщениях других авторов, которые производились с помощью ЭВМ до настоящего времени в режиме небольшого числа итераций, ошибочны. Выводы о значимости диагностических признаков при  $k < 100$  ошибочны уже в первом значении после запятой. Число итераций  $k$  необходимо делать как минимум  $k = 1000$ . В рамках устранения неопределенности первого типа путем итераций решения задачи системного синтеза необходимо использовать нейроэмуляторы в режиме бинарной классификации при числе итераций  $k \geq 1000$ . При этом мы устраняем неопределенность стохастических расчетов, так как выборки различаются и одновременно мы получаем ранжирование признаков  $x_i$  на основе анализа их весов.

### ФИТОЦЕНОТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА *HELICHRYSUM MARACANDICUM* M.POP.EX. KIRP.

Юлдашев А.С., Эралиев Ш., Ахмаджонов К.

Андижанский государственный университет, Андижан, Узбекистан

akramyuldashev@mail.ru

Флора Западного Тянь-Шаня богата и разнообразна. По данным К.Ш.Тожибоева (2010) в узбекистанской части ЗТШ произрастает более 55% дикорастущей флоры Узбекистана и 25% флоры всей Средней Азии. В фундаментальной работе по растительному покрову ЗТШ В.Н.Павлов (1980) указывает

2844 вида. А во флоре узбекистанской части ЮЗТШ выявлено 2056 видов и подвидов сосудистых растений, относящихся к 647 родам и 104 семействам (Тожибаев, 2010), причем необходимо указать, что из них 47 видов впервые приводятся для флоры Узбекистана и один вид – для флоры Средней Азии.

Для решения поставленных задач, мы провели научно-исследовательские работы. В результате выявлено, что растительность этого региона, также и как другие части ЮЗТШ, весьма богата и выделяется пестротой растительных типов и формаций, что связано с своеобразными физико-географическими и климатическими особенностями этого региона.

Общие экологические и биологические особенности луговых сообществ Чаткальского хребта соответствуют таковым особенностей луговых ценозов вообще. Отметим лишь, что такие признаки лугов, как господство многолетних мезофитных растений и растений, обладающих вегетативным размножением, образование растениями плотного дернового горизонта в почве и другие признаки также присущи луговой растительности Чаткальского хребта, как и лугам, находящимся за его пределами. Важнейшей особенностью лугов Чаткальского хребта является большая остепенность, которая особенно характерна для верхнего и нижнего пределов их распространения.

Исследована фитоценотическая характеристика бессмертника самаркандского (*Helichrysum maracandicum* M.Pop.ex. Kirp.) на исследованной территории, выявлен возрастной состав 17 ценопопуляций. Анализ результатов изучения ценопопуляций *Helichrysum maracandicum* в Чаткальском хребте показывает, что бессмертник проходит весь цикл развития до образования семян и диссеминации и поэтому все ценопопуляции относятся к нормальному типу.

Семенное размножение б. самаркандского (*H.maracandicum*) незначительное, и зависит от эколого-фитоценотических условий. При усилении антропогенного воздействия, семена не успевают созреть из-за вытаптывания, выпаса и сбора генеративных особей на сырье. А если и семена созревают, то большая часть слабых, нежных проростков погибают из-за тех же антропогенных факторов.

Энергия вегетативного размножения вида имеет достаточно высокое значение в удержание территории во всех исследованных ценопопуляциях. Уровень семенного размножения не высокая, генетты приобретают значение лишь при распространении и захвате новых местообитания.

## **СПИСОК АВТОРОВ**

### **A**

Abdullaev S.A. ....	63
Abdurakhmanov I. ....	100
Abdusa D. ....	301
Adamova V.V. ....	369
Aparicio Ricardo ....	77
Avilov V. ....	369
Avtandilyan N.V. ....	167
Axenov-Gribanov D.V. ....	3

### **B**

Batîr L.M. ....	4
Bivol C.M. ....	4
Buriev Z. ....	100

### **C**

Chernigina I.A. ....	99
Степанова А.В. ....	173

### **D**

Danilova Iu.V. ....	301
Darmanov M. ....	100
Dinh Ba Duy ....	369
Djur S. ....	4

### **E**

Elenciuc D.I. ....	4
--------------------	---

### **G**

Garanina E.E. ....	4
Georgiev G.P. ....	99
Gnuchev N.V. ....	99
Gotina K.A. ....	166

### **H**

Husenov N. ....	100
-----------------	-----

### **I**

Imyanitov E. ....	100
Isaev A. B. ....	3
Iyevleva A. ....	100

### **K**

Kamenskikh K.A. ....	63
Karapetyan S.A. ....	167
Khaiboullina S.F. ....	4
Khaitlina S. Yu. ....	301
Khmeleva S.A. ....	166
Kolyadko V.N. ....	64

Konyaeva E.P. ....	99
Korik E.O. ....	166
Korzhenevskaia M. ....	100
Kulikova K.V. ....	99
Kurbatova J. ....	369
Kuricheva O. ....	369
Kushanov F. ....	100

### **L**

Larin S.S. ....	99
Lavdovskaia E. ....	100

### **M**

Maiorov A.S. ....	64
Makamov A. ....	100
Matlashov M. E. ....	3
Mayorova V.E. ....	64
Mikheev A.Y. ....	212
Minkabirova G.M. ....	63
Mitushkina N. ....	100
Morozov V.N. ....	212
Mukhaelyan Z.H. ....	63, 65
Muyangwa M. ....	4

### **N**

Norbekov J. ....	100
------------------	-----

### **P**

Palii I. ....	301
Panteleev M.A. ....	64
Pechenov P. Y. ....	3
Poghosyan G.H. ....	63, 65
Polikarpov Igor ....	77
Protasov E.S. ....	3

### **R**

Radko S.P. ....	166
Raskin G. ....	100
Rizvanov A.A. ....	4

### **S**

Sargsyan M.S. ....	167
Severinov K. V. ....	3
Sharipova M.R. ....	301
Shcherbatyuk T.G. ....	99
Shlyapnikov Y.M. ....	212
Sokolov V.S. ....	64
Stojkovic G. ....	106



**T**

Tashkin V.Y.	64
Timofeyev M.A.	3
Tsvetkova K. M.	3
Tulanov A.	100
Turaev O.	100

**V**

Vardevanyan P.H.	63, 65
Vasilyeva O.A.	101
Voytsekhovskaya I.V.	3

**W**

Wanrooij S.	106
-------------	-----

**Z**

Zaitcev I.	100
Zosim L.S.	4

**A**

Абдулжанова М.А.	5, 221, 228
Абдурахмонов И.Ю.	75
Абдурашитов С.Ф.	5
Абельденов С.К.	127
Абраров Р.А.	167
Авакян Л.А.	70
Авдеева Л.В.	168
Автаңдилян Н.В.	174
Авхачева Н.В.	182
Агаева Е.В.	232
Агаларов С.Ч.	148
Агапов А.А.	101
Агафонова А.В.	168
Агафонова А.И.	331
Агафонова Н.В.	6
Агеева М.В.	35
Азарашвили Т.С.	253, 271
Азимова Ю.Э.	130
Айбуш А.В.	89
Аканаева А.Н.	370
Акатов В.С.	241, 245, 267
Акимбеков Н.Ш.	406
Акишев Ж.Д.	102
Акопян Ж.А.	333
Акопян Н.А.	212
Акопян Н.Р.	102
Аксенов-Грибанов Д.В.	41, 392, 412
Аксёнов-Грибанов Д.В.	219
Александров О.С.	146
Александрова А.А.	133, 163

Александрова О.И.	247
Александрова С.А.	313, 316
Алексанкин А.П.	184
Алексанов В.В.	370
Алексеев А.М.	196
Алексеев А.С.	371, 381, 386, 409
Алексеевский А.В.	325
Алексеев И.В.	302
Алексеев К.П.	27
Алешкина Д.Д.	103
Аликина И.Н.	22
Алилова Г.А.	297
Алимова Ф.К.	30
Алферов С.В.	218
Альзубаиди А.Ф.А.	302, 338
Аль-Рабии М.А.М.	252
Аль-Шехадат Р.И.	318
Амутбаева А.И.	103
Андреева А.А.	201
Андрианова Н.В.	252
Андронов Е.Е.	211
Анисимова Е.А.	7
Антонов В.А.	123
Антонова Н.О.	303
Анучина А.А.	104, 130, 136
Арбуханова П.М.	165
Арефьева А.А.	372
Арляпов В.А.	242
Артамонова Т.О.	119
Артемяева О.А.	14
Артыкбаева Г.М.	324
Архарова Н.А.	212
Архипов В.И.	286
Архипова В.И.	134
Арцруни И.Г.	169
Арчаков А.И.	180, 182
Асатрян А.Л.	169
Астраханова Т.А.	297, 304
Атнагулова Р.Р.	402
Атрощенко Ю.М.	189
Афонин А. М.	7
Афонин А.М.	12, 160
Афоница Е.Л.	213
Афошин А.С.	214
Ахатова Д.Р.	7
Ахлиманова А.С.	372
Ахмаджонов К.	414
Ахметкалиева А.	227
Ахтемова Г. А.	7
Ахтемова Г.А.	12, 118

Ашба А.М. ....	169	Белозерова А.А. ....	359
Ашихмин А.А. ....	343	Белослудцев К.Н. ....	90, 95
<b>Б</b>		Белослудцева Н.В. ....	90
Бабаев А.А. ....	157	Белоус Г.И. ....	305
Бабаназарова О.В. ....	46	Белоусов М.В. ....	114
Бабенко В.В. ....	72	Белоусова И.А. ....	413
Бабичева Д.Е. ....	373	Белоусова Ю.В. ....	254
Бабурина Ю.Л. ....	253, 271	Белчгази В.Й. ....	364
Багданурова А.Р. ....	167	Белых Д.В. ....	186, 194
Багров Д.В. ....	110	Белых Е.С. ....	68
Бадуев Б.К. ....	413	Белянин А.С. ....	40
Бады-Хоо М.С. ....	123, 138	Бердасова А.С. ....	8
Баева Ю.И. ....	196	Бердникова О.С. ....	344
Баженова Е.А. ....	131	Бережная Е.В. ....	255, 284
Баженова Е.А. ....	149	Беркович О.А. ....	149
Базарова Н.Е. ....	209	Бернхардт Р. ....	182
Байдамшина Д.Р. ....	52, 304	Бессолицына Е.К. ....	105
Байкабилов Д.К. ....	343	Бессонова Т.А. ....	105
Балабаев Н.К. ....	79	Бибов М.Ю. ....	273
Балагтдинова Р.Р. ....	373	Битаршвили С.В. ....	344
Балаев В.В. ....	65, 289	Блинкова Л.П. ....	37, 47, 58
Балалаева И.В. ....	303, 329	Бобылёв А.Г. ....	300
Балахонова А.И. ....	214	Богатырев В.А. ....	385
Балезина О.П. ....	290	Богатырев Ю.В. ....	391
Барабощкина Т.Г. ....	215	Богатыренко Е.А. ....	8, 9, 17
Баранова Е.И. ....	149	Богачева П.О. ....	257, 276
Баранова Н.Б. ....	52	Богданов В.В. ....	216
Баранова Ю.А. ....	374	Богомолов А.И. ....	21
Барашков Н.А. ....	123	Богомолова Е.А. ....	232
Барышева О.Ю. ....	134	Богомолова Е.Г. ....	321
Басалова Н.А. ....	333	Богомольная Л.М. ....	34, 61
Басманов Д.В. ....	66	Бодиловская О.А. ....	412
Батянина О.В. ....	253	Боднарь И.С. ....	66
Бахтюков А.А. ....	170	Божокина Е.С. ....	20
Бацких А.А. ....	104	Бозоров Т.А. ....	367
Башкиров П.В. ....	94	Бойко А.Н. ....	9
Бедулина Д.С. ....	387	Бойко Е.В. ....	345
Безбородова О.А. ....	302	Бойчук О.М. ....	170
Безматерных К.В. ....	8	Болдаков Д.М. ....	232
Безрукова Е.И. ....	23, 215	Болдинова Е.О. ....	106
Бекбаев А.Ж. ....	278	Болотов С.Э. ....	375
Бекк В.В. ....	375	Большаков М.А. ....	343
Беккаревич А.О. ....	233	Бондарев С.А. ....	107, 113, 114, 120, 143, 156
Беланова А.А. ....	122, 133, 163, 305	Бондаренко С.М. ....	117
Белецкий А.В. ....	16, 348	Бондарь А.А. ....	123, 138
Белобородов В.Л. ....	334	Бондарь А.Т. ....	298
Белова А.М. ....	66	Боравлева Е.Ю. ....	10
Белова О.В. ....	233	Борзенюк С.А. ....	165
Беловежец Л.А. ....	51	Борисевич В.О. ....	255
		Борисов А.В. ....	200

Борисов А.Ю. ....	118, 119, 153	Варюхин В.С. ....	383
Борисов Ю.А. ....	12	Василов Р.Г. ....	41
Борисова М.А. ....	275	Васильев К.А. ....	74
Борисова М.М. ....	347, 364	Васильев. Д.В. ....	389
Боровков Д.И. ....	67	Васильева Е.Н. ....	12
Бородачев А.В. ....	21	Васильева Н.В. ....	40, 179
Бороздина Н.А. ....	217	Вахитов Т.Я. ....	51
Бортников Е.С. ....	376	Вахрушева А.В. ....	109, 233
Борщовецкая В.Л. ....	170, 175	Вашенко О.В. ....	306
Бочарова К.А. ....	10	Ведерников А.А. ....	172
Бошян Т.В. ....	376	Ведунова М.В. ....	297, 304
Брагин Е.Ю. ....	107	Вележанинов И.О. ....	68, 73, 186, 194
Брагина О.А. ....	346	Венская Е.И. ....	69
Брилкина А.А. ....	329	Вергель К.Н. ....	373
Бровко Ф.А. ....	179	Веремеенко Е.Г. ....	149
Брускин С.А. ....	122, 144	Верещагина К.П. ....	377, 387, 413
Бруслик Н.Л. ....	7	Верховский Р.А. ....	109
Бубнова Т.В. ....	233	Верчук А.Н. ....	346
Бударина Ж.И. ....	314	Весельский С.П. ....	255
Будянская Л.В. ....	306	Ветошкина Д.В. ....	347, 364
Бузолева Л.С. ....	8, 17	Ветровой О.В. ....	172, 173
Бульгина Н.А. ....	398	Вигонт В.А. ....	269
Буляккулова Л.У. ....	403	Виноградов В.В. ....	248
Бурденный А.М. ....	142	Виноградова Е.В. ....	69
Буриев З.Т. ....	75	Виноградова Е.П. ....	323
Бурикулов А.Т. ....	407	Виноградова И.В. ....	14
Буркова В.В. ....	264	Виноградова О.Н. ....	217
Буркова Е.Е. ....	171	Виноградова С.В. ....	16, 38, 218
Бурмакина Г.С. ....	11, 28	Винокуров А.Ю. ....	184
Бурмистрова Л.А. ....	21	Виткина Т.И. ....	309
Буров В.Е. ....	53	Вихлянцев И.М. ....	300
Бурьгин Г.Л. ....	49	Владимиров И.А. ....	28
Бут С.Ю. ....	10	Власенко Р.В. ....	378
Бушуева А.В. ....	88	Внукова А.А. ....	110, 333
Быков А.А. ....	108	Воденеев В.А. ....	88, 303, 347
Бырса М.Н. ....	12	Возняк М.В. ....	236
Быстров В.С. ....	67, 70	Возчикова С.В. ....	218
Быстрова А.В. ....	67	Войцеховская И.В. ....	41, 219
Быстрова А.С. ....	256	Волков Я.А. ....	38
Быстрова М.Ф. ....	77	Волкова П.Ю. ....	344, 366, 384
<b>В</b>		Волобаев В.П. ....	135, 256, 265
Вакерич М.М. ....	364, 387	Воловик К.Ю. ....	110
Валеева Л.Р. ....	159	Вологжанникова А.А. ....	162
Валентович Л.Н. ....	29, 33, 36	Володин В.А. ....	38
Валидов Ш.З. ....	30	Володин И.В. ....	160
Валиуллина А.Х. ....	171	Володькина В.А. ....	111
Валуев Т. ....	180	Волошина А.Д. ....	30
Варгас Э. ....	108	Волченко Н.Н. ....	27
Варфоломеев А.Ф. ....	152	Воробьев И.И. ....	223, 226
		Воробьева Н.Е. ....	115, 133, 137

Воронина А.О.....	24	Гильванова Э.Р.....	278
Воронцова Д.В.....	129	Гладырь Е.А.....	21, 238
Воршева А.В. ....	378	Глазунова О.А. ....	314
Воскобойникова И.В. ....	334	Глинская Е.В. ....	109
Высоцкая А.Г. ....	257	Глушкова О.В. ....	69
Выштакалюк А.Б. ....	321	Гнучев Н.В. ....	151
<b>Г</b>		Гоголев Ю.В.....	35, 105, 152
Габайдуллин А.В.....	224	Голенков А.К. ....	267
Габдулхаков А.Г. ....	65, 84, 93, 109	Голенченко С.Г.....	141
Гаврилко Д.Е. ....	379	Голикова Е.А. ....	257
Гаврилов А.Б. ....	240	Голованова Е.В.....	209
Гаврилов К.Е.....	24	Головацкая И.Ф.....	345
Гаврильчик А.Н. ....	70	Головкова И.В. ....	310
Гаврюшина И.А. ....	224	Головченко Т.Р.....	258
Гагаринская Д.И.....	112	Голозубова Ю.С. ....	17
Гагарских О.Н.....	13	Голубев А.М. ....	77, 124
Гаджимусаева П.Н.....	193	Гонгадзе Г.М. ....	158
Газарян И.Г.....	338	Гончар Л.Н.....	211
Гайдуков А.Е.....	290	Гончаров Р.Г.....	112
Галайко Н.В. ....	322	Гончарова А.А. ....	259
Галемина И.Е. ....	370	Горбачев Д.П.....	241, 245
Галимова А.А. ....	219	Горбачёва Е.Л. ....	259
Галкин А.П. ....	164	Горбачева О.С. ....	180
Галкина А.М. ....	250	Горбачук Е.В.....	30
Галкина С.А. ....	103, 111	Горбунов Д.В.....	71, 414
Галлямова С.Р. ....	13	Горбунова А.А.....	260
Гамбарян А.С.....	10	Горбунова А.С. ....	15
Гамбарян Л.Р.....	405, 409	Горбунова Д.С.....	71, 414
Ганиева З.А.....	379	Гордеева А.Е. ....	308
Гапеев А.Б. ....	80	Гордейчук И.В.....	10
Гапонова А.В. ....	307	Гордиев М.Г. ....	340
Гаранина Е.Е.....	220, 307, 320, 337	Горелова С.В. ....	373
Гарафутдинов Р.Р. ....	219	Гориславец С.М. ....	38
Гарбер М.Б.....	158	Горлов В.И.....	299
Гарипов М.Р.....	311	Горченкова М.Ю.....	331
Гарушняц С.К.....	105	Горшков В.Ю. ....	35
Гарцева А.С. ....	14	Горьянова О.С.....	220
Гаспирович В.В. ....	347	Готовцев П.М. ....	41
Гатауллина М.О. ....	173	Гоуфман Е.И. ....	184
Гатина Д.З.....	220	Гранович А.И.....	110, 135, 138, 155
Гацанога М.В.....	339	Грановский И.Э. ....	161
Гвоздев Р.И. ....	168	Графская Е.Н.....	72
Геворгян Э.Р. ....	174	Гречкин А.Н.....	105
Геворкян В.Е.....	70	Григорьев П.Н. ....	72
Геворкян Э.С. ....	102, 169	Григорьева О.А. ....	284, 333
Гельфанд М.С.....	87	Григорьева О.О.....	113
Георгиев Г.П. ....	151	Григорьева Т.В. ....	43
Гераськин С.А.....	344, 366, 384	Григорьяк М.Д. ....	174
Гергель И.А.....	197	Григорян Э.Н. ....	285
		Гризель А.В. ....	113

Грицына Ю.В. ....	74	До Тхи Зуен .....	44
Гришко В.В. ....	322	Добровольская О.А. ....	232, 321
Грудень М.А. ....	288	Добрынин П.В. ....	74, 94
Груздев Е.В. ....	348	Довбня Д.В. ....	107, 215
Губина О.А. ....	192	Долгачева Л.П. ....	91
Губская В.П. ....	314	Долгих В.В. ....	191, 193
Гулевский А.К. ....	155	Долгих Е.А. ....	352
Гулиева Д.З. ....	197	Долматова Е.С. ....	17
Гуля Н.И. ....	221	Доморацкая Д.А. ....	198
Гуляева Е.Н. ....	348	Донова М.В. ....	22, 107, 215, 237
Гурина В.В. ....	349	Доронин А.Н. ....	116
Гурков А.Н. ....	377, 387, 413	Доронина Н.В. ....	6
Гурьев Е.Л. ....	303	Дорофеева Л.В. ....	40
Гусев И.А. ....	380	Дорошенко А.С. ....	358
Гусев О.А. ....	266, 340	Драпкина Е.С. ....	105
Гуч Д.Е. ....	308	Дробязин Е.Н. ....	411
<b>Д</b>		Дружкова И.Н. ....	294
Давоян Р.О. ....	232	Дубинин М.В. ....	95, 97, 172, 175, 188
Давоян Э.Р. ....	232	Дубровина И.А. ....	25
Давыдов Д.М. ....	328	Дуденкова В.В. ....	256, 294
Давыдова К.А. ....	309	Дусь Т.А. ....	284
Даминова А.Г. ....	35	Духовлинов И.В. ....	318
Данилов Л.Г. ....	114	Дымов А.А. ....	207
Данилова Е.Д. ....	350	Дьяченко И.А. ....	327
Данилушкина А.А. ....	330	Дюбо Ю.В. ....	15
Даниэль М.А. ....	318	Дяченко В.Д. ....	76, 283
Дармов И.В. ....	24	<b>Е</b>	
Дворянинова Е.Е. ....	260	Евлаков К.И. ....	121
Девятов А.И. ....	381, 386	Егорова Д.О. ....	54, 60
Деев С.М. ....	303	Егорова Е.Д. ....	16
Декнер З. ....	120	Екимова Г.А. ....	117
Делеган Я.А. ....	57	Емельянов В.В. ....	360
Дёмин А.Г. ....	111	Емшанова В.А. ....	392, 412
Денисенко Ю.К. ....	309	Еникеев Р.Ф. ....	340
Дербикова К.С. ....	115	Епифанова Е.А. ....	157
Дербуш О.Г. ....	388	Епринцев А.Т. ....	177, 281
Деревянко П.К. ....	115	Еремин С.А. ....	224
Держинский Е.А. ....	209	Ерина Н.М. ....	331
Деркач К.В. ....	170, 191	Ермаков А.М. ....	117, 261
Дерюшева Е.И. ....	73	Ермакова А.В. ....	73
Дехтяр Ю.Д. ....	67	Ермакова А.Я. ....	16
Дзантиев Б.Б. ....	236	Ермакова О.Н. ....	261
Диденко Л.В. ....	152	Ермолаева С.А. ....	152
Дидыч Д.А. ....	116	Ерназарова А.К. ....	406
Дикарев А.В. ....	350	Еромолаева С.А. ....	151
Дикарев В.Г. ....	350	Ерошенко Д.В. ....	39
Дикарева Н.С. ....	350	Ершова А.Н. ....	344
Димова М.Д. ....	41, 219	Есипов Р.С. ....	229
Дмитренко Ю.Д. ....	38	Еськова А.И. ....	17

Есюнина Д.М.....	101
Ефименко А.Ю.....	333
Ефимова М.В.....	350, 356, 358
Ефремова Е.С.....	383

**Ж**

Жабаква А.Б.....	5, 221, 228
Жалимов В.К.....	74
Жандарова К.А.....	318
Жандарова Ю.А.....	375
Желанкин Р.В.....	262
Железнякова Е.В.....	118
Жердев А.В.....	236
Жернаков А.И.....	118, 119, 128
Живалина Ю.А.....	381
Живкоплас Э.К.....	119
Жидецкий А.В.....	243
Жихарев В.С.....	382
Жищинская Н.В.....	175
Жмурская О.А.....	174
Жолдыбаева Б.С.....	299
Жондарева Я.Д.....	222
Жуков В. А.....	7
Жуков В.А.....	12, 118, 119, 128, 153
Жулай Г.А.....	134, 262
Жуликов Я.А.....	325
Жунина О.А.....	336
Жур К.В.....	310
Журавлева А.И.....	199
Журавлева Г.А.....	107, 143, 156
Журавлёва Г.А.....	114
Журавлева М.Н.....	310, 337
Журикова Е.М.....	351

**З**

Забелина И.А.....	76
Заборская А.Ю.....	223
Заборская О.Ю.....	223
Загайнова Е.В.....	256, 292, 294, 296
Загрядская Ю.А.....	18
Задереев Е.С.....	377
Заец В.Г.....	30
Зайнутдинов С.С.....	18
Зайцев А.С.....	120
Зайцев С.Ю.....	176
Зайцева Е.В.....	58
Зайцева О.В.....	382
Зайцева О.И.....	140
Закирова Е.Ю.....	310
Залесский А.Д.....	82, 89

Залозная И.В.....	294
Замальдинова А.Э.....	311
Зарудная Е.Н.....	176, 177, 184
Захаров С.Г.....	267
Захарова А.Л.....	74
Захарова И.А.....	328
Захарова М.В.....	159
Захарова Н.М.....	287
Захарова О.В.....	263
Зацаринная Е.А.....	21
Зацаринный И.В.....	383
Звягин А.В.....	303
Здиорук Н.В.....	359
Зелди М.И.....	19
Зеленихин П.В.....	44, 103, 126, 139, 147, 317
Зелинский А.А.....	120
Земляно О.М.....	156
Зенищева М.А.....	148, 177
Зенков Р.Г.....	162
Зенько М.Ю.....	263
Зиганшин А.М.....	31
Зиганшина Э.Э.....	31
Зимин А.А.....	87
Зиннатшина Л.В.....	199, 404
Зиновьева Н.А.....	137, 212, 238
Злобин Н.Е.....	121
Зобов В.В.....	321
Золотаренко А.Д.....	122, 144
Золотухин П.В.....	122, 133, 163, 305
Зонтиков Д.Н.....	229, 230
Зоров Д.Б.....	252
Зубанова Ю.С.....	232
Зубкова Е.В.....	408
Зубкова Ю.В.....	178
Зудина И.В.....	109, 302, 338
Зыкова А.А.....	19
Зыцарь М.В.....	123, 138

**И**

Ибрагимов Э.М.....	15
Иванов Б.Н.....	347, 351, 364
Иванов В.Л.....	308
Иванова И.Г.....	264
Иванова Т.И.....	220
Иващенко К.В.....	206
Ивлев А.П.....	20
Игнатенко А.А.....	351
Игнатова Л.К.....	351
Игнатова Н.И.....	294
Игнатова Т.Ю.....	373

Игнатъева А.Н.....	191	Каргатова А.М.....	352
Игнашин Н.С.....	83	Карпов Д.Н. ....	396
Иевлев Р.С.....	123	Карпов М.В.....	22
Ильин И.С.....	223	Карпухин С.Е. ....	381, 386
Ильина Ю.А.....	124	Картавцева Л.С. ....	281
Ильинская О.Н. ....	44, 108, 187, 246	Карташова Ю.А. ....	22
Ильницкая Е.Т.....	28	Карцева О.В.....	312
Имирсинова А.А. ....	383	Касьянова Е.С.....	313
Искендерова Н.Э. ....	264	Касян Н.А.....	306
Исламов Р.Р. ....	307	Качкин Д.В.....	127
Исмагилова Р.К.....	7, 44	Каширин В.В.....	224
Исмаилова А.М.....	311	Каширская Н.Н. ....	200
Исхакова З.И. ....	125	Каюмов А.Р. ...	34, 43, 52, 59, 60, 125, 140, 163, 304, 311
Ищенко А.М.....	147	Каява А.В. ....	107, 120, 161
<b>К</b>		Квиткина А.К. ....	386
Кабанова Н.В.....	77	Кеца О.В. ....	174
Кадников В.В.....	348	Кибардин А.В. ....	151
Кадырова Г.А. ....	125	Кибарина М.Е. ....	164
Казаков А.С.....	162, 326	Ким А.В. ....	17
Казакова Е.А.....	366, 384	Ким А.Л.....	313, 320
Казанцев А.П.....	231	Кириенко А.Н. ....	352
Казанцева Е.С.....	385	Кириллов С.О. ....	127
Казанцева О.А.....	126	Киров И.В. ....	128, 146
Казичка А.С. ....	265	Кирсанова П.О. ....	241, 245
Калачева Н.В. ....	314	Киряков В.С.....	224
Калашников А.Е. ....	21, 131	Киселева И.С.....	362
Калинина Н.И.....	333	Киселева Л.В. ....	173
Калмыков А.В.....	385	Кистаубаева А.С.....	5, 221, 228
Калмыков В.Л.....	385	Китаева Е.С.....	268
Калмыков Л.В.....	385	Китаева К.В.....	266
Калмыкова А.И. ....	132	Китова А.Е. ....	41
Калчугина В.Д. ....	21	Кичигина В.Ф.....	298
Калюжная Е.Э.....	265	Киш Ю.Ю. ....	387
Камалетдинова Л.Х. ....	34	Киямова Р.Г.....	307
Камалов Д.М.....	333	Клапшина Л.Г.....	296
Камалова Я.Н. ....	126	Клементьева Н.В.....	256, 292
Каманин С.С.....	242	Кленова Н.А. ....	185
Каманина О.А.....	213	Клечковская В.В.....	212
Каменский П.А.....	115	Климов В.В. ....	368
Каминский Ю.Г. ....	335	Климонтова М.В. ....	115
Камионская А.М. ....	38	Клинов Д.В. ....	66
Каналбек Г.К. ....	5	Клокова К.В. ....	328
Канаш Л.А.....	178	Клюева М.В. ....	75
Канева А.В. ....	68	Клюкова М.С.....	118, 128
Канцерова Н.П.....	75	Ключников Д.Ю. ....	225
Каплина Н.Ф.....	400	Кляшторный В.Г.....	109
Карапетян С.А.....	174	Князева О.А.....	167, 336
Карасёва Э.В.....	27	Князькова А.А. ....	23, 215
Каратовская А.П.....	179	Кобелян Р.О. ....	405

Кобякова М.И. ....	267	Коробов В.В. ....	47
Кобялко В.О. ....	84, 192	Коробов В.П. ....	26, 39
Ковалев Д.С. ....	226	Королев А.В. ....	21
Ковалёва Е.В. ....	181	Королева В.А. ....	316
Ковалева С.А. ....	69	Коростелева Т.П. ....	388
Ковалева Я.О. ....	302	Короткова А.М. ....	353
Ковалевская Ж.И. ....	233, 314	Корсакова Е.С. ....	24, 42
Коваленко А.А. ....	76	Косалбаев Б.Д. ....	227, 406
Ковалицкая Ю.А. ....	243	Косенко Е.А. ....	335
Ковнир С.В. ....	226	Костромина М.А. ....	229
Козаева Е.С. ....	129	Костюнина О.В. ....	212, 238
Козина В.И. ....	267	Котенко О.Н. ....	273
Козлов А.В. ....	200	Котова П.Д. ....	90, 270
Козулева М.А. ....	347, 358	Кочерыжкина Е.В. ....	133
Козьмин Г.В. ....	84	Кочеткова О.Ю. ....	320
Коина Е.А. ....	242	Кочкина А.В. ....	270
Койсултанова З.К. ....	252	Кочнева М.В. ....	77
Кокорина А.А. ....	268	Кошелев А.В. ....	233
Кокшарова О.А. ....	46	Кравченко О.В. ....	109, 134
Колганова Е.А. ....	314	Кравченко П.Н. ....	134, 262
Колесников Д. ....	130	Краева Е.М. ....	398
Колесников С.С. ....	90	Крамарева Т.Н. ....	205
Колесникова А.С. ....	77, 90	Крамм Э.А. ....	223
Колесникова Т.О. ....	269	Крестинин Р.Р. ....	253, 271
Колесова А.Ю. ....	399	Крестинина О.В. ....	253, 271
Колмыков А.Е. ....	353	Крещенко Н.Д. ....	117
Колобков Д.С. ....	315	Кривелева А.Н. ....	354
Колобкова Ю.А. ....	269	Кривов С.А. ....	237
Коломейчук Л.В. ....	356	Крицкая Д.В. ....	272
Коломиец Э.И. ....	29, 33, 36	Кропачев И.А. ....	50
Колхир В.К. ....	334	Круглов А.Г. ....	185
Кольцова Т.Г. ....	201	Крутенкова Е.П. ....	268
Колядко В.Н. ....	98	Крутикова Е.В. ....	25, 55
Комар Е.И. ....	59	Крылов В.В. ....	75, 78
Кондратьев М.С. ....	97	Крылов П.А. ....	272
Кондратьева Е.С. ....	387	Крылова Е.В. ....	282
Кондратьева Н.С. ....	104, 130	Крюков А.А. ....	118
Кондрашова М.П. ....	226	Крючкова М.О. ....	202
Конев А.Ю. ....	124	Ксенофонтова О.Ю. ....	338
Коннова С.А. ....	330	Кудабаева М.С. ....	268
Коновалова Е.А. ....	24	Кудина Е.П. ....	228
Коняева Т.Н. ....	286	Кудрин И.А. ....	382
Копелев П.В. ....	316	Кудрявцева П.С. ....	388
Коптев В.В. ....	131	Кузиков А.В. ....	180, 182
Копылова Г.В. ....	67	Кузнецова И.Н. ....	202
Копытова А.Э. ....	131	Кузницын Р.А. ....	161
Кордюкова М.Ю. ....	132	Кузьменко А.В. ....	115
Коринфская С.А. ....	133, 163	Кузьменков А.Г. ....	389
Коробейникова А.В. ....	158	Кузьмин М.В. ....	241, 245
Коробейникова М.О. ....	180	Кузьмин П.И. ....	94



Куимова М.К. ....	296	Лежнин Ю.Н. ....	338
Кулаева О.А. ....	119	Лекишвили М.В. ....	241
Кули Ж.Т. ....	5, 221, 228	Лемкина Л.М. ....	26
Куликова О.Г. ....	216	Лень Н.В. ....	27
Кулишов С.А. ....	390	Леонидова С.В. ....	275
Кульбачинский А.В. ....	101, 143	Леонов В.А. ....	276
Кундас Л.А. ....	310	Леонова Т.С. ....	181, 335
Кундупьян О.Л. ....	273	Леонтьева М.М. ....	391
Кундупьян Ю.Л. ....	273	Леонтьевский А.А. ....	195, 214, 233
Куприянов В.В. ....	19	Лепехина Е.В. ....	27
Куприянова В.В. ....	355	Лесников А.И. ....	135, 256
Куприянова Е.С. ....	185	Лидер Е.Н. ....	385
Курамшина З.М. ....	48, 278, 361, 372	Лизунова И.Е. ....	391
Курбангалиева А.Р. ....	34, 43, 52, 59	Линов А.В. ....	281
Курочкина С.И. ....	189	Лихачев И.В. ....	79
Кутюмов В.А. ....	273	Лихолетова Д.В. ....	143
Кучер Е.Н. ....	363, 365	Лобанов А.В. ....	328
Кучин А.В. ....	77	Лобанова Е.Г. ....	309
Кылосова Т.И. ....	25	Лобанова Л.П. ....	399
<b>Л</b>		Лобов А.А. ....	135
Лавренов Н.Г. ....	390	Логинов В.И. ....	142
Лаврентьева В.В. ....	355	Ломакина Н.Ф. ....	10
Лаврик А.А. ....	264, 274	Ломовский А.И. ....	253, 271
Лаврова Д.Г. ....	213	Лопатина Е.Б. ....	380, 403
Лагодич А.В. ....	250	Лопухов А.В. ....	276
Лагодич О.В. ....	235	Лопырева Г.Б. ....	148
Лазарев В.Н. ....	66	Лоскутова И.В. ....	14
Лазарева М.А. ....	203	Лубяга Ю.А. ....	392, 412
Лазаревич Н.Л. ....	144	Лугманова А.Ф. ....	356
Лазукин А.В. ....	237	Лукина А.М. ....	323
Лазыкин А.Г. ....	24	Лукина М.М. ....	294
Лайков А.В. ....	43, 220	Лукьяненко Л.М. ....	69
Ламан А.Г. ....	179	Лукьянов К.А. ....	292
Лапицкий А.В. ....	26	Луницын А.В. ....	10
Лаптев Г.Ю. ....	78	Лунькова А.А. ....	136
Лаптева А.А. ....	148	Лупачев А.В. ....	203
Ларин С.С. ....	151	Лыков И.Н. ....	390
Ларионова А.А. ....	386	Лыкошин Д.Д. ....	229
Ларченков В.М. ....	181	Лысенко Л.А. ....	75
Латыпов О.Р. ....	161	Лысенко Ю.Н. ....	80
Лашков А.А. ....	65, 84	Любушкина И.В. ....	237
Лебедев С.В. ....	353	Лябин Д.Н. ....	116
Лебедева А.В. ....	157	Ляшевич А.М. ....	255
Лебедева Е.А. ....	185	Лященко М.С. ....	173
Лебедева И.Ю. ....	281, 295	<b>М</b>	
Левина А.С. ....	275	Мавлиева А.Ф. ....	277
Левицкий Д.И. ....	67	Мадумаров Т.А. ....	406
Левченко А.Н. ....	85	Мадьярова Е.В. ....	219, 392
Леденёва М.Л. ....	123	Мажорина М.А. ....	136

Мазина М.Ю. ....	115, 133, 137	Масулис И.С. ....	154
Мазур Е.Ю. ....	317	Матвеева Т.В. ....	28, 94
Мазур О.Ч. ....	118	Матвиенко Н.В. ....	281
Майоров С.А. ....	97, 182	Матейкович П.А. ....	183
Майоров С.Г. ....	161	Матинян К.С. ....	169
Майстренко Т.А. ....	68	Матросова Л.Е. ....	61
Макаревич О. ....	59	Матюшенко А.М. ....	67
Макаревич П.И. ....	284	Матяшова Г.Н. ....	30
Макаренко М.С. ....	133, 163	Махнева З.К. ....	343
Макаркина М.В. ....	28	Махортова Н.В. ....	184
Макарова А.В. ....	106	Машихина Ю.В. ....	394
Макарова Л.Е. ....	51	Медведева Д.А. ....	231
Макарян Э.А. ....	262	Мезенцев А.В. ....	122
Макеева А.В. ....	317	Мелешина А.В. ....	256
Максимова Н.П. ....	149	Мельник Б.С. ....	136
Максимова О.В. ....	58	Мельничук Д.А. ....	192
Малахов И.С. ....	318	Меннибаева Э.Р. ....	137
Малахова К.В. ....	229, 230	Мерзлякова О.Ю. ....	263
Малинкина О.Н. ....	302	Мигунова А.В. ....	33
Малоголовкин А.С. ....	11, 28	Миков Д.С. ....	232
Малофий М.К. ....	350, 356	Милютина Ю.П. ....	294, 299
Мальшева Е.В. ....	146	Мима К.А. ....	11
Мальков А.Е. ....	283	Мингалеева Р.Н. ....	238
Мальцев А.Н. ....	393	Миндубаев А.З. ....	30
Мальцев Д.И. ....	216	Миндубаева Л.Н. ....	31
Мальцева А.Л. ....	110, 135, 138, 155, 273	Минин А.А. ....	180
Мальцева О.Н. ....	277	Миржалолова М.З. ....	383
Мамбетпаева Б.С. ....	278	Мирзиев С.И. ....	31
Мамедов М.Д. ....	368	Мирзоев Т.М. ....	280
Мамян А.С. ....	409	Мирзоев Э.Б. ....	192
Мандрик-Литвинкович М.Н. ....	29, 33	Мирманов Р.Ж. ....	219
Манцызов А.Б. ....	78	Мировская А.А. ....	232
Маракасова А.А. ....	263	Миронов А.А. ....	214
Марамохин Э.В. ....	229, 230	Миронов А.С. ....	84
Марданов А.В. ....	16, 348	Миронова Г.Д. ....	180, 283
Маркелова Д.Ю. ....	318	Миронова Т.А. ....	394
Маркина В.О. ....	278	Мирошникова В.В. ....	131, 146, 149
Маркова Ю.А. ....	51	Мисюрин А.В. ....	145
Марковская Е.Ф. ....	348	Митаева Я.И. ....	280
Маркушева Т.В. ....	47	Миткевич А.В. ....	181
Мартынова Е.В. ....	171	Митракова Н.В. ....	395
Мартынова О.В. ....	289	Митрофанова О.С. ....	32
Мартьянова Е.К. ....	279	Митрошина Е.В. ....	297, 304
Марусенко И.М. ....	134	Митяшова О.С. ....	281
Марютин Д.В. ....	393, 409	Мифтахова Р.Р. ....	238
Масамрех Р.А. ....	180, 182	Михайлов А.М. ....	65, 84
Масгутов Р.Ф. ....	125, 320	Михайлова В.А. ....	373
Масгутова Г.А. ....	125, 310, 320	Михайлова Г.З. ....	297
Маслов И.В. ....	231	Михайлова Н.А. ....	103, 110, 135, 138, 155
Маслова Е.В. ....	221	Михалева Е.А. ....	132

Михальская В.Ю. ....	123, 138	Набиев С.Р. ....	67
Мишарин А.Ю. ....	180	Нагель А.С. ....	233, 314
Мишин А.С. ....	292	Нагорная А.А. ....	242
Мищенко Т.А. ....	297	Нагорных М.О. ....	126
Можеров А.М. ....	280	Надточено В.А. ....	82, 89
Моисеева А.А. ....	234	Надырова А.И. ....	187
Моисеева Н.В. ....	184	Назаров А.В. ....	42, 322
Моисеенко А.В. ....	281	Назаров А.С. ....	321
Моллаев М.Д. ....	319, 336	Назаров Н.Г. ....	321
Моргунов И.Г. ....	48	Насырова Р.Р. ....	396
Моргунова В.В. ....	132	Наумов А.А. ....	322
Моржерин Ю.Ю. ....	269	Наумова Е.А. ....	104, 130
Морозов В.И. ....	183	Небогатиков В.О. ....	322
Морозов И.В. ....	123, 138	Невмержицкая Ю.Ю. ....	355
Морозов И.Д. ....	282	Негинская М.А. ....	255, 284
Морозов Н.В. ....	13	Неймарк А.Е. ....	131
Морозов С.Г. ....	328	Немашкалов В.А. ....	233
Морозова Е.Н. ....	88, 347, 357	Немашкалова Е.Л. ....	73
Моругина А.С. ....	51	Немец В.В. ....	323
Мосенцов А.А. ....	283	Немирович-Данченко Н.М. ....	268
Москаленко А.А. ....	343	Немова Н.Н. ....	75
Моссэ И.Б. ....	310	Немцова Е.Р. ....	302
Мочульская Н.Н. ....	224	Нестёркина И.С. ....	349
Мошкина В.Н. ....	33	Неустроева О.А. ....	140
Мудрик В.А. ....	351	Нешев Н.И. ....	333
Мудрилов М.А. ....	347	Ниадар П.М. ....	120
Музафаров Е.Н. ....	270	Низамов Р.А. ....	47
Мунтян В.С. ....	44, 57	Низомова Б.Б. ....	406
Мураева О.А. ....	138	Никанова Д.А. ....	14
Мурай В.М. ....	283	Никитина Е.В. ....	19
Муратова А.А. ....	29, 33	Никитина Л.С. ....	259
Мурашев А.Н. ....	305, 311, 327	Никитина М.Ю. ....	324
Мурган О.К. ....	358	Никифорова А.Б. ....	185
Муртазаева А.З. ....	252	Николаев В.Ю. ....	396
Муртазина Р.Р. ....	139	Николаев М.А. ....	131
Мусин Е.В. ....	313, 320	Николаева В.М. ....	22
Мустахимов И.И. ....	188	Николайчук В.И. ....	364, 387
Мухамедшина Я.О. ....	307, 310	Никольская Е.Д. ....	319, 336
Мухаметзянова Л.Д. ....	34	Никонов О.С. ....	134
Мухаметзянова С.Р. ....	34, 52	Никонов С.В. ....	134
Мухаметова Л.Р. ....	125, 320	Нимирицкий П.П. ....	284, 333
Мухина И.В. ....	280, 297, 304	Новик Г.И. ....	37
Мухортова О.В. ....	375	Новикова Ю.П. ....	285
Мухтарова Л.Ш. ....	105, 152	Новоселов В.И. ....	270, 308
Мысин И.Е. ....	283, 288	Новосёлова Е.Г. ....	69
Мытыс В.Ю. ....	233	Новосёлова Т.В. ....	69
Мякишева С.Н. ....	253	Носова А.Ю. ....	140
<b>Н</b>		Носова Д.В. ....	50
Набиев С.М. ....	367	Носонова Т.Л. ....	29, 33
		Нуриахметова Ч.Б. ....	35

Нурматова М..... 324

**О**

Оберемок В.В..... 120  
 Обламская И.С..... 285  
 Обыденнов К.Л..... 269  
 Оводова А.И..... 286  
 Овсебян А.А..... 397  
 Овсянникова Т.Н..... 76, 85, 283  
 Овчинников А.Ю..... 204  
 Овчинников Л.П..... 116  
 Оганесян А.Г..... 102  
 Оглоблина А.М..... 162, 325  
 Огородников С.С..... 204  
 Одиноква И.В..... 253, 271  
 Ожован И.М..... 58  
 Озолин О.Н..... 105, 108, 112, 154  
 Октябрьский О.Н..... 8, 36, 45, 53  
 Олейник В.М..... 134, 262  
 Олейник Е.К..... 134, 262  
 Оленкина О.М..... 132  
 Оловников И.А..... 132  
 Ольшанникова С.С..... 316  
 Онипченко В.Г..... 390  
 Опанасенко В.К..... 364  
 Оплачко Е.С..... 80  
 Орехова В.А..... 325  
 Орлов М.А..... 81, 86  
 Орлов Ю.А..... 141  
 Орлова Н.А..... 223, 226  
 Орлянская О.С..... 124  
 Осипов А.Ф..... 397  
 Осипова А.А..... 286  
 Осипова Е.А..... 78  
 Острикова К.В..... 141  
 Островский А.Н..... 273  
 Островский М.А..... 165  
 Осыченко А.А..... 82, 89  
 Охлопкова О.В..... 234  
 Охлопкова Ю.Ф..... 398  
 Ошуркова В.И..... 53

**П**

Павлов А.Н..... 84  
 Павлова Е.В..... 326  
 Павлова И.Ю..... 131  
 Павлова Ю.В..... 235  
 Павловец Ю.Ю..... 235  
 Падкина М.В..... 151  
 Пайметова В.Э..... 398

Паликов В.А..... 327  
 Паликова Ю.А..... 327  
 Панарина А.А..... 185  
 Панкратова К.М..... 117  
 Пантелеев М.А..... 98  
 Пантелеева А.А..... 74, 131, 146, 149  
 Панченко А.А..... 372  
 Парамонова Е.Б..... 70  
 Пармон В.Н..... 236, 240  
 Парфёнова Е.В..... 284  
 Парфинова И.В..... 399  
 Пахомов Ю.Д..... 37  
 Пахомова В.Г..... 82  
 Пашовкин Т.Н..... 80  
 Пельтек С.Е..... 209  
 Пенькова Н.А..... 297  
 Перепеченова Н.А..... 328  
 Перепечин Д.В..... 83  
 Перепечина И.О..... 83  
 Переяслова Е.А..... 142  
 Пермьяков Е.А..... 162, 182  
 Пермьяков С.Е..... 73, 162, 182  
 Пермьякова В.И..... 142  
 Першина Е.В..... 286  
 Пескова Н.Н..... 329  
 Песнякевич А.Г..... 59  
 Пестрякова А.А..... 185  
 Петерс М.А..... 36  
 Петерфельд Е.В..... 217  
 Петракова А.В..... 236  
 Петрив П.Н..... 170  
 Петров А.В..... 147  
 Петрова А.А..... 358, 359  
 Петрова И.В..... 221  
 Петрова И.О..... 280  
 Петрова М.А..... 16  
 Петрова М.В..... 373  
 Петрова О.Е..... 35  
 Петрухин И.Ю..... 224  
 Петушков И.В..... 143  
 Пилигаев А.В..... 236  
 Пилипчук Т.А..... 36  
 Питомец С.П..... 310  
 Пиядина А.Ю..... 37  
 Платовский Н.Н..... 359  
 Плеханова Е.С..... 83  
 Плеханова Ю.В..... 41  
 Плотников Е.Ю..... 252  
 Плотникова Д.Т..... 37  
 Покусина Т.А..... 177

Полещук О.И. ....	114, 143	Радько С.П. ....	186
Поливцева В.Н. ....	38	Раевская И.Н. ....	85
Полозников А.А. ....	338	Разгильдина Н.Д. ....	146
Полуконова А.В. ....	144	Разнотовская К.А. ....	237
Польская А.И. ....	287	Разумова О.В. ....	146
Польшаков В.И. ....	78	Райко М.П. ....	33
Поляков А.С. ....	400	Рак А.Я. ....	147
Полякова И.В. ....	84, 192	Ракитин А.Л. ....	16
Полякова-Семёнова Н.Д. ....	281	Раманкулов Е.М. ....	157
Понаморева О.Н. ....	213	Расулова О. ....	407
Пономарева Н.В. ....	157	Ратмиров А.М. ....	288
Поплинская В.А. ....	285	Рахматуллина А.Р. ....	238
Попов А.Л. ....	329	Редикюльцев Ю.В. ....	240
Попова И.А. ....	49	Резник В.С. ....	321
Попова И.Ю. ....	283, 288	Резниченко И.С. ....	402
Попова Н.Р. ....	329	Репкина Н.С. ....	351
Попова Т.А. ....	205	Решетилов А.Н. ....	41
Поротикова Е.В. ....	38	Решетник Е.Н. ....	255
Порочкин А.В. ....	189, 194, 367, 400	Ризванов А.А. ....	125, 171, 238, 307, 320
Посвятенко А.В. ....	151	Рисованная В.И. ....	38
Посух О.Л. ....	123, 138	Рогачевская О.А. ....	90
Потапович М.И. ....	141, 142, 235, 251	Роговая С.В. ....	206
Поцелуева М.М. ....	322	Рожина Э.В. ....	330
Пошехонцева В.Ю. ....	237	Рожкова Н.А. ....	330
Преловская А.Н. ....	144	Розова О.Н. ....	10, 188
Придачина К.С. ....	39	Романенкова А.А. ....	388
Приказюк Е.Г. ....	360	Романенкова О.С. ....	238
Припутина И.В. ....	209	Романов А.А. ....	262
Присяжная Н.В. ....	40, 50	Романова А.Р. ....	402, 403
Прокофьев И.И. ....	84	Романова В.А. ....	43
Прокулевич В.А. ....	141, 142, 235, 242, 243, 251	Романова Д.А. ....	331
Прокушина К.С. ....	177	Романова Е.Б. ....	412
Пронина И.В. ....	142	Романова Н.В. ....	120
Просвирин А.А. ....	241	Романова Ю.Д. ....	15, 220
Протас К.Г. ....	40	Ромашова Ю.А. ....	186
Протасов Е.С. ....	41, 219	Ромоданова Е.А. ....	85
Протасовицкая Р.Н. ....	401	Росс Д.В. ....	38
Протасовицкая Я.В. ....	401	Рубель А.А. ....	113, 120, 127
Психа Б.Л. ....	333	Руденко Н.В. ....	179
Пташник И.В. ....	41	Руднева Т.Н. ....	333
Пугачёв М.М. ....	19	Рудько И.О. ....	296
Пуговкин А.Ю. ....	306	Рузматов Э.Ю. ....	406
Пупов Д.В. ....	143	Румянцев А.М. ....	151
Пушкова Е.Н. ....	145	Румянцева М.Л. ....	44, 57
Пчелина С.Н. ....	131, 146, 149	Румянцева Т.С. ....	332
Пылина Я.И. ....	68, 186, 194	Рустамов Р.Д. ....	239
Пьянкова А.А. ....	22, 42	Рыбакова А.Н. ....	172
<b>Р</b>		Рыбовалова И.А. ....	360
Равин Н.В. ....	348	Рыжикова М.Н. ....	43, 163
		Рыжкин С.А. ....	44

Рыжкова М.В. ....	403	Сацункевич Н.Е. ....	45
Рыжманова Я.В. ....	53	Свердлов Е.Д. ....	302
Рыжова Т.А. ....	164	Свиридов А.В. ....	195
Рыкунов С.Д. ....	80, 86	Свиридова И.А. ....	88, 96
Рысцов Г.К. ....	332	Свиридович М.М. ....	362
Рычакова Ж.С. ....	44	Свитич О.А. ....	291
Рябков Б.В. ....	40	Северин А.В. ....	212
Рясик А.А. ....	81, 86	Северинов К.В. ....	119, 129
<b>С</b>		Селиванова Н.В. ....	148, 177, 281
Сабирова М.И. ....	147	Селиханов Г.К. ....	148
Савватеев А.М. ....	334	Семашко А.И. ....	149
Савина Н.Б. ....	92	Семенов В.Э. ....	321
Савченко С.А. ....	286	Семенова Е.Ф. ....	23
Савченко С.С. ....	123	Семенова И.А. ....	131, 149
Сагарадзе Г.Д. ....	284, 333	Семина М.М. ....	88
Сагитова А.И. ....	47	Сендерский И.В. ....	191, 193
Садченко А.О. ....	306	Сенкевич О.В. ....	206
Садыков Э.С. ....	317, 341	Сенотов А.С. ....	241, 245
Садыхова А.В. ....	185	Сергеев А.В. ....	130
Сазыкина С.М. ....	316	Сергеева С.Ю. ....	44
Сакания Л.Р. ....	136	Сердюков Ю.А. ....	237
Саксаганская А.С. ....	44	Серебрянский И.Г. ....	307
Салафутдинов И.И. ....	220	Середнева Я.В. ....	347
Салахутдинов И.Б. ....	75	Сибгатуллина Г.В. ....	356
Салтыкова Е.Д. ....	294	Сивогринов Д.Е. ....	161
Салямов В.И. ....	87, 314	Сиделев С.И. ....	46
Самарцев В.Н. ....	97, 172, 175, 188	Сидоренко А.В. ....	37
Самборская М.Д. ....	87	Сидоренко Е.В. ....	140
Самбук Е.В. ....	151	Сидякин А.А. ....	328
Самков А.А. ....	27	Сингина Г.Н. ....	276, 295
Самойлова З.Ю. ....	45	Синенко О.С. ....	362
Самойлова Ю.В. ....	240	Синицына Ю.В. ....	347
Самохина Е.И. ....	288	Сиунов А.В. ....	314
Санина Н.А. ....	333	Сказина М.А. ....	413
Санькова Т.П. ....	141	Скворцова Л.С. ....	242
Сапарбаев М.К. ....	157	Скобликов Н.Э. ....	87
Сапармырадов К.А. ....	30	Скоморохова Е.А. ....	187
Сапожников С.В. ....	19	Скорлупкина Н.Н. ....	47
Сапронов Д.В. ....	210	Скоробогатова А.С. ....	69, 89
Саранча Д.А. ....	91	Скоробогатых К.В. ....	130
Сарапульцева Е.И. ....	92	Сладкова Е.А. ....	289
Сариева К.В. ....	172, 173	Слащева М.И. ....	150
Саркисян Э.Г. ....	102	Слепченков А.В. ....	151
Сасс А.В. ....	302	Слонова Д.А. ....	151
Саттарова Л.Р. ....	361	Слюсаревский А.В. ....	404
Сафаров А.К. ....	343, 366	Смекалова А.А. ....	281
Сафин Р.Н. ....	83	Смирнов И.В. ....	327
Сафонов А.С. ....	240	Смирнова А.Е. ....	172
Сахабутдинова А.Р. ....	219	Смирнова Г.В. ....	8, 27, 36, 45, 53, 54
		Смирнова Д.В. ....	83

Смирнова Е.О.....	152	Сундырева М.А.....	353, 363
Смирнова Н.А.....	338	Супрун Е.В.....	186
Смирнова Н.В.....	152	Сурва Л.М.....	347
Сморкалов И.А.....	404	Сурова И.И.....	189
Соболев В.Е.....	323	Суслина С.Н.....	333
Совгир Н.В.....	242, 243, 251	Суханова А.С.....	190
Согорин Е.А.....	148	Сухаричева Н.А.....	154
Соколов А.С.....	162	Сухов В.С.....	347, 357
Соколов В.С.....	70	Сухов И.Б.....	191
Соколова Е.А.....	329	Суходольская Г.В.....	22, 237
Соколова Е.М.....	333	Сушинская-Тетерева А.О.....	289
Соколова М.Л.....	150	Сырчина М.С.....	89
Сокурченко Ю.В.....	187	Сысоева В.Ю.....	333
Солнцева Н.П.....	188	Сысолятина Е.В.....	151
Соловей Я.Н.....	363	Сычев В.В.....	86
Соловьева М.Е.....	267		
Соловьева О.А.....	288	<b>Т</b>	
Соломахин А.А.....	281	Танерова Е.А.....	175
Солонин А.С.....	314	Танянский Д.А.....	277
Сопова Ю.В.....	164	Тарадайник Т.Е.....	295
Сордонова Е.В.....	231	Таранов В.В.....	121
Сорокин А.А.....	81, 86	Тарасенкова Н.А.....	131
Сорокина К.Н.....	236, 240	Тарасов М.В.....	90
Сорокина К.С.....	122	Тарасов Н.В.....	125
Сорокина Т.В.....	181	Тарасов С.Е.....	41
Соснин И.М.....	330	Тарасова Г.Р.....	314
Софин А.С.....	182	Тарасова Е.О.....	290
Спирин А.С.....	148	Тарасова Е.Ю.....	330
Срыбник М.А.....	71, 414	Тарашкевич Ю.С.....	243
Стариков С.Н.....	47	Тастамбек К.....	227
Стародумова И.П.....	40	Тастамбек К.Т.....	406
Старцев В.В.....	207	Тафий М.Д.....	364
Старцева О.М.....	194	Темиргалиева Г.Н.....	407
Степанов С.А.....	352	Темлякова Е.А.....	81, 86
Степанова А.Е.....	188	Темнов А.А.....	270, 308
Степанова В.А.....	189, 194, 367, 400	Теньков К.С.....	90
Степанова Г.В.....	61	Тиканова П.О.....	155
Степанова Н.Н.....	48	Тиллиб С.В.....	220
Степанян Л.Г.....	405	Тимофеев М.А.....	41, 219, 377, 387, 392, 413
Сторожева З.И.....	288	Тимофеев С.А.....	191, 193
Странишевская Е.П.....	38	Тимофеева З.М.....	48
Стрижов Н.И.....	22	Тимофеева О.А.....	355
Стручков П.А.....	334	Титанова Е.О.....	49
Стрыгина К.В.....	153	Титов И.А.....	11, 28
Субботина М.С.....	50	Титова А.П.....	344
Сузина Н.Е.....	38	Титок М.А.....	29, 36, 45, 57
Сулима А. С.....	7	Тихомирова Е.В.....	109
Сулима А.С.....	118, 128, 153, 160	Тихоненко С.А.....	313, 320
Султаналиева Н.М.....	317, 341	Тихонова И.В.....	308
Сунгатуллина Л.М.....	201	Тихонова Л.А.....	335

Тихонова Н.Б. ....	184	Усманова А.Д. ....	5
Тихонова С.В. ....	402, 403	Устинин М.Н. ....	80, 86
Тихонович И.А. ....	12, 118, 119, 128, 153, 160	Ушаков В.Ю. ....	54
Тишкина А.О. ....	260, 279		
Тищенко С.В. ....	109	<b>Ф</b>	
Ткач Е.П. ....	207	Фадеев П.Ю. ....	293
Ткаченко А.А. ....	33	Фадеев Р.С. ....	241, 245, 267
Ткачук В.А. ....	284, 333	Фадеева И.С. ....	241, 267
Тожибоев М.У. ....	407	Фадеева И.С. ....	245
Тойменцева А.А. ....	7	Фазлеева Г.М. ....	314
Токмакова Е.В. ....	338	Фандо М.С. ....	158
Толмачева И.А. ....	322	Фарофонова В.В. ....	54
Томашевская М.А. ....	50	Фатхудинов Т.Х. ....	305
Топоркова Я.Ю. ....	105, 152	Фатхуллин Б.Ф. ....	93
Торгонская М.Л. ....	50	Фаустова М.Р. ....	319, 336
Трашкова Т.М. ....	51	Фахранурова Л.И. ....	93
Тращев Р.В. ....	91	Фахруллин Р.Ф. ....	246, 330
Третьяк Д.В. ....	155	Федорин Д.Н. ....	148, 177
Третьяков А.А. ....	303	Федорина Я.В. ....	160
Третьяков А.В. ....	136	Федоров Д.Н. ....	117
Третьякова М.С. ....	51	Федорова Е.А. ....	25, 55
Трефилова М.В. ....	24	Федорчук Т.П. ....	364
Тризна Е.Ю. ....	34, 43, 52, 59, 304	Федотов А.Э. ....	208
Трифонов Г.Р. ....	156	Фельдман Т.Б. ....	165
Троценко Ю.А. ....	10, 188	Фесенко Н.И. ....	241
Трубицина Н.П. ....	156	Фесенко Н.О. ....	245
Трубицын В.Э. ....	53	Филатова И.Ю. ....	159
Тугбаева А.С. ....	243	Филина А.Б. ....	291
Тургимбаева А.М. ....	157	Филиппенко Е.С. ....	340
Туровская М.В. ....	91, 92	Филиппова О.Е. ....	96
Туровский Е.А. ....	91, 92	Филонов А.Е. ....	57, 408
Тутукина М.Н. ....	105, 112, 154	Филонова М.В. ....	246
Тутукова С.А. ....	157	Финашутина Ю.П. ....	145
Туховская Е.А. ....	305, 311	Фокина В.В. ....	237
Тухтабаева Ф.М. ....	244	Фомин И.К. ....	137
Тыганов С.А. ....	280	Фомина А.С. ....	291
Тюленев А.В. ....	53	Фомичев А.В. ....	146
Тюмина О.В. ....	225	Фролов В.А. ....	94
Тяпкина О.В. ....	266	Фролов П.В. ....	408
		Фролова Г.Г. ....	209
<b>У</b>		Фролова Л.Л. ....	410
Узолева Л.С. ....	9	Фролова Н.А. ....	192
Ульянова В.В. ....	108, 187, 246	Фролова О.А. ....	292
Уманская А.А. ....	192	Фронтасьева М.В. ....	373
Умнякова Е.С. ....	181, 335	Фунтикова Т.В. ....	408
Урусов А.Е. ....	236	Фурман О.Е. ....	292
Усачев С.А. ....	336	Фурсова А.И. ....	365
Усенко Т.С. ....	131	Фурсова К.К. ....	14
Ускалова Д.В. ....	92		
Усманов Р.М. ....	367		



<b>Х</b>	Хусаинов А.М. .... 410
Хабипова Н.Н. .... 159	<b>Ц</b>
Хаджиева М.Б. .... 160, 315	Царев А.А. .... 191, 193
Хазиева Л.Р. .... 56	Целуйко Ж.А. .... 181
Хайбуллина С.Ф. .... 171	Цфасман И.М. .... 179
Хайруллина М.М. .... 160	<b>Ч</b>
Хаккулова Н.Б. .... 366	Чадин И.Ф. .... 68
Хамдуллаев Ш.А. .... 367	Чайковский В.А. .... 247
Хамидуллина Л.Р. .... 337	Чалиенко М.О. .... 411
Хамраев А.Ш. .... 379	Чапурин Ю.Е. .... 248
Ханбекова Е.М. .... 21	Частухина И.Б. .... 159
Харичкин Д.А. .... 409	Чеботарь В.К. .... 210, 211
Хасенов Б.Б. .... 102, 127, 157	Чекашкина К.В. .... 94
Хатри Й. .... 182	Чемодурова А.А. .... 338
Хафизова Г.В. .... 94	Черемных К.М. .... 56
Хацко С.Л. .... 269	Черепко М. А. .... 248
Хачикян Т.Г. .... 409	Черепнев Г.В. .... 314
Хашимова З.С. .... 324	Черкасова М.Е. .... 57
Хизриева С.И. .... 193	Черкашин А.П. .... 293
Хитрин С.В. .... 372	Чернигина И.А. .... 83
Хлесткина Е.К. .... 153	Чернов А.С. .... 332
Хмельва С.А. .... 186	Чернов В.В. .... 83
Хмеленина В.Н. .... 10, 188	Чернов Ю.О. .... 113, 120, 127
Хмель Н.В. .... 76, 180, 283	Чернова Л.С. .... 43, 163
Ходак Ю.А. .... 223, 226	Черноручский М.В. .... 249
Ходаков В.В. .... 225	Черноштан К.В. .... 294, 299
Ходжаева А.К. .... 196, 205	Черных И.В. .... 339
Ходжаева В.С. .... 246	Чернявская М.И. .... 57
Хоконова В.В. .... 142	Черова Л.С. .... 60
Холод Н.С. .... 161, 314	Чесноков М.С. .... 144
Холоденко В.П. .... 38	Чистякова Д.А. .... 47, 58
Холявка М.Г. .... 304, 316	Чистякова О.В. .... 191
Хомич А.С. .... 412	Чичагова А.А. .... 294
Хомякова Е.Б. .... 110	Чмелева С.И. .... 365
Хорн П.А. .... 162	Чмелёва С.И. .... 360, 363
Хоробрых А.А. .... 368	Чмыхало В.К. .... 133, 163
Хорольская Ю.И. .... 247	Чурин А.А. .... 246
Хорошавина Е.И. .... 172	Чуров А.В. .... 134, 262
Хохлов А.Р. .... 96	Чурюкин Р.С. .... 366
Хошимжонова Н.Н. .... 244	<b>Ш</b>
Храмеева Е.Е. .... 87	Шавель М.И. .... 59
Храмов Р.Н. .... 93	Шавкиев Ж.Ш. .... 367
Хренкова В.В. .... 122	Шавкунов К.С. .... 108
Хренов М.О. .... 69	Шадрин А.М. .... 214, 314
Хрипунов А.К. .... 212	Шадрин Д.М. .... 68, 186, 194
Христенко Е.А. .... 410	Шадрин К.В. .... 95
Христин А.Н. .... 162	Шакирова М.М. .... 48
Христинченко А.Ю. .... 338	Шаланов В.А. .... 194
Худокормов А.А. .... 27	
Худяева И.С. .... 186	

Шаланов В.В. ....	189, 367, 400	Шорохова А.П. ....	38
Шальгин А. ....	130	Шпак И.М. ....	123
Шанин В.Н. ....	408	Шпаков А.О. ....	170, 191
Шапова Е.П. ....	412	Шпичка А.И. ....	23
Шаповалова А.С. ....	189, 194, 367, 400	Шплихалова А.В. ....	365
Шаповалова К.В. ....	412	Штанчаев Р.Ш. ....	297
Шарапов В.А. ....	95	Штарк О.Ю. ....	160
Шарапов М.Г. ....	112, 308	Штратникова В.Ю. ....	107
Шарафутдинов И.С. ....	52, 59, 60, 163	Штырлин Н.В. ....	19, 311
Шарипова М.Р. ....	32, 34, 61, 159	Штырлин Ю.Г. ....	19
Шаталин Ю.В. ....	267	Шубина В.С. ....	267
Шатилина Ж.М. ....	377	Шубина Л.В. ....	298
Шах М.Р. ....	108	Шульгина М.А. ....	210
Шах Махмуд Р. ....	31, 56	Шульжик А.С. ....	235
Шахов А.М. ....	82	Шумилова А.В. ....	340
Швец П.В. ....	96	Шумянцева В.В. ....	180, 182
Швецов А.В. ....	77	Шутов. А.А. ....	237
Швырева У.С. ....	105, 112	Шушин А.И. ....	89
Шевкоплясова Н.Н. ....	376	Шушляев Р.В. ....	31
Шевцова Ю.А. ....	88, 96		
Шевченко В.П. ....	83	<b>Щ</b>	
Шевченко О.Г. ....	186, 194	Щанникова М.П. ....	14
Шедова Е.Н. ....	295	Щапова Е.П. ....	413
Шенфельд А.А. ....	164	Щелкунов М.И. ....	107
Шерматов Ш.Э. ....	75	Щенков С.В. ....	413
Шерстнев В.В. ....	288	Щепкин Д.В. ....	67
Шестакова Е.А. ....	60	Щербаков А.В. ....	210, 226
Шестибратов К.А. ....	243	Щербаков К.А. ....	97
Шеховцов С.В. ....	209	Щербакова Е.Н. ....	210, 211
Шибаетов А.В. ....	96	Щербатюк Т.Г. ....	83, 257
Шигапова (Гайнутдинова) З.Р. ....	60	Щербицкая А.Д. ....	294, 299
Шигапова З.Р. ....	163	Щулькин А.В. ....	339
Шигапова Л.Х. ....	340		
Шилова И.В. ....	246	<b>Э</b>	
Шилягина Н.Ю. ....	329	Эльман К.А. ....	71, 414
Шимолина Л.Е. ....	296	Эпиктетов Д.О. ....	195
Шипилова А.А. ....	296	Эралиев Ш. ....	414
Шипова А.В. ....	24, 60	Эрматова Г.З. ....	383
Шиповская А.Б. ....	302		
Ширманова М.В. ....	294, 296	<b>Ю</b>	
Широкова В.В. ....	268	Юдинцев А.В. ....	303
Широкова Ю.А. ....	412	Юлдашев А.С. ....	414
Ширшиков Н.В. ....	240	Юнусова Э.С. ....	317, 341
Ширшикова Т.В. ....	61	Юрков А.П. ....	61
Шишкина Т.В. ....	297	Юров Д.С. ....	152
Шишова М.Ф. ....	61	Юрьев Д.А. ....	250
Шкинев А.В. ....	341		
Шляпников М.Г. ....	161	<b>Я</b>	
Шмараков И.А. ....	170, 175	Яббаров Н.Г. ....	319
Шонина М.Ю. ....	250	Яблочкина Е.С. ....	299
		Яврян Ж.В. ....	102

20-я Международная Пушинская школа-конференция молодых ученых «Биология – наука XXI века»  
СПИСОК АВТОРОВ

Языкова М.Ю. ....	225	Ялалова И.Р. ....	324
Якимова Т.Н. ....	341	Ямсков И.А. ....	216
Якоби Л.М. ....	61	Ямскова В.П. ....	216
Яковец О.Г. ....	346, 362	Янкаускас С.С. ....	252
Яковлева Г.Ю. ....	15	Янушкевич Д.М. ....	251
Яковлева М.А. ....	165	Яныкин Д.В. ....	368
Якубовская М.Г. ....	162, 325	Яппарова О.Н. ....	342
Якубовская Р.И. ....	302	Яруллина Д.Р. ....	7, 44
Якунина М.В. ....	119	Ястребова О.В. ....	13
Якупова Э.И. ....	300	Яхваров Д.Г. ....	30
Якушева А.А. ....	98	Яшкичев В.И. ....	165
Якушева Е.Н. ....	339		

**ОГЛАВЛЕНИЕ:**

<b>СЕКЦИЯ «МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ»</b> .....	3
ACTINOBACTERIA WITH ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES ISOLATED FROM A POLLEN OF PINUS SYLVESTRIS GROWN AT BAIKAL SHORE Axenov-Gribanov D.V., Voytsekhovskaya I.V., Protasov E.S., Timofeyev M.A. ....	3
BACTERIAL BREX DEFENSE SYSTEM AFFECTS REPLICATION AND TRANSCRIPTION OF PHAGE GENOMES Isaev A.B., Tsvetkova K.M., Pechenov P.Y., Matlashov M.E., Severinov K.V. ....	3
HANTAVIRUS N PROTEIN CO-LOCALIZES WITH RAB 5 PROTEIN OF THE EARLY ENDOSOME Muyangwa M., Garanina E.E., Khaiboullina S.F., Rizvanov A.A. ....	4
GREEN MICROALGA <i>DUNALIELLA SALINA</i> – PROMISING SOURCE OF ORGANIC GERMANIUM Zosim L.S., Bivol C.M., Elenciuc D.I., Batîr L.M., Djur S.....	4
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРОБИОТИЧЕСКИХ КОРМОВЫХ ДОБАВОК НА МИКРОБИОЦЕНОЗ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ Абдулжанова М.А., Кули Ж.Т., Каналбек Г.К., Усманова А.Д., Кистаубаева А.С., Жабаква А.Б. ....	5
ВЫДЕЛЕНИЕ НОВЫХ ИЗОЛЯТОВ ГРИБОВ АРБУСКУЛЯРНОЙ МИКОРИЗЫ И ИХ РАЗВИТИЕ В КОРНЯХ РАСТЕНИЙ Абдурашитов С.Ф. ....	5
СТИМУЛЯЦИЯ РОСТА И ПОВЫШЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ ГОРОХА ПРИ КОЛОНИЗАЦИИ АЭРОБНЫМИ МЕТИЛОБАКТЕРИЯМИ <i>METHYLOBACILLUS ARBOREUS</i> IVA Агафонова Н.В., Доронина Н.В. ....	6
ПРОБИОТИЧЕСКИЕ ЛАКТОБАЦИЛЛЫ НЕ ЯВЛЯЮТСЯ ИСТОЧНИКОМ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ГЕНОВ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ В МИКРОБИОМЕ ЧЕЛОВЕКА Анисимова Е.А., Бруслик Н.Л., Ахатова Д.Р., Исмагилова Р.К., Тойменцева А.А., Яруллина Д.Р. ....	7
ПОИСК ГЕНЕТИЧЕСКИХ ДЕТЕРМИНАНТ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ СИМБИОТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ПРИРОДНЫХ ШТАММОВ <i>RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM</i> BV. <i>VICEAE</i> Афонин А.М., Сулима А.С., Ахтемова Г.А., Жуков В.А. ....	7
ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА УСТОЙЧИВОСТЬ <i>ESCHERICHIA COLI</i> К ПЕРОКСИДНОМУ СТРЕССУ Безматерных К.В., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н. ....	8
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ТЕМПЕРАТУР НА ПРОЦЕСС ФОРМИРОВАНИЯ БИОПЛЁНКИ <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i> В АССОЦИАЦИИ С САПРОТРОФНЫМИ БАКТЕРИЯМИ Бердасова А.С., Бузолева Л.С., Богатыренко Е.А. ....	8
СРАВНЕНИЕ МИКРОБИОЦЕНОЗОВ КИШЕЧНИКА У ЗДОРОВЫХ И БОЛЬНЫХ РЫБ НА ПРИМЕРЕ АМУРСКОГО ОСЕТРА <i>ACIPENSER SCHRENCKII</i> И КАЛУГИ <i>HUSO DAURICUS</i> Бойко А.Н., Богатыренко Е.А., Узолева Л.С. ....	9
ИММУНИЗАЦИЯ ДОМАШНИХ УТОК ЖИВЫМ НЕПАТОГЕННЫМ ВИРУСОМ ГРИППА H5N3 ПРЕДОТВРАЩАЕТ ЦИРКУЛЯЦИЮ ВЫСОКОПАТОГЕННОГО ВИРУСА H5N1 Боравлева Е.Ю., Ломакина Н.Ф., Гордейчук И.В., Луницын А.В., Гамбарян А.С. ....	10
СВОЙСТВА И РОЛЬ ФОСФОТРАНСАЦЕТИЛАЗЫ ИЗ <i>M. ALCALIPHILUM</i> 20Z Бочарова К.А., Розова О.Н., Бут С.Ю., Хмеленина В.Н., Троценко Ю.А. ....	10

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА КИНЕТИКИ ВИРУЛЕНТНОГО И ВАКЦИННОГО ШТАММОВ ВИРУСА АЧС Бурмакина Г.С., Титов И.А., Мима К.А., Малоголовкин А.С. ....	11
ВЫЖИВАЕМОСТЬ И АНТИМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА СТРЕПТОМИЦЕТОВ ПОСЛЕ ЛИОФИЛИЗАЦИИ С РАЗНЫМИ ЗАЩИТНЫМИ СРЕДАМИ Бырса М.Н. ....	12
КОЛЛЕКЦИЯ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ БАКТЕРИЙ ГОРОХА ПОСЕВНОГО ( <i>PISUM SATIVUM L.</i> ) Васильева Е.Н., Афонин А.М., Ахтемова Г.А., Жуков В.А., Борисов Ю.А., Тихонович И.А. ....	12
ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ГАЛОТОЛЕРАНТНЫХ БАКТЕРИЙ РОДА <i>ARTHROBACTER</i> Гагарских О.Н., Ястребова О.В. ....	13
АБОРИГЕННЫЕ НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИЕ МИКРООРГАНИЗМЫ ИЗ ЗАЛЕЖЕЙ НЕФТЕЙ БАШКИРСКОГО ЯРУСА Галлямова С.Р., Морозов Н.В. ....	13
ПЦР-СКРИНИНГ ГЕНОВ ЭНТЕРОТОКСИНОВ СТАФИЛОКОККОВ В МОЛОКЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА Гарцева А.С., Фурсова К.К., Лоскутова И.В., Щанникова М.П., Артемьева О.А., Никанова Д.А., Виноградова И.В. ....	14
ИЗМЕНЕНИЕ ПРОТЕОМНОГО ПРОФИЛЯ <i>BACILLUS SUBTILIS</i> SK1 ПРИ ДЕЙСТВИИ 2,4,6-ТРИНИТРОТОЛУОЛА Горбунова А.С., Яковлева Г.Ю., Ибрагимов Э.М., Романова Ю.Д. ....	15
ХАРАКТЕРИСТИКА ПЛАЗМИДЫ PPA21A <i>PESTOBACTERIUM ATROSEPTICU</i> Дюбо Ю.В. ....	15
БАКТЕРИИ РОДА <i>PSEUDOMONAS</i> – ПАТОГЕНЫ МХА <i>PHYSCOMITRELLA PATENS</i> Егорова Е.Д., Виноградова С.В. ....	16
БАКТЕРИОФАГИ ШТАММОВ <i>ACINETOBACTER LWOFFII</i> , ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ МНОГОЛЕТНЕМЕРЗЛЫХ ОТЛОЖЕНИЙ КОЛЫМСКОЙ НИЗМЕННОСТИ Ермакова А.Я., Белецкий А.В., Петрова М.А., Ракитин А.Л., Марданов А.В. ....	16
ИЗУЧЕНИЕ МОРСКИХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ ИЗ АКВАТОРИЙ С РАЗНОЙ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКОЙ Еськова А.И., Бузолева Л.С., Богатыренко Е.А., Ким А.В., Долматова Е.С., Голозубова Ю.С. ....	17
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ ГИФОСФЕРЫ БАЗИДИОМИЦЕТОВ И КОНТРОЛЬНОЙ ПОЧВЫ Загрядская Ю.А. ....	18
МУТАЦИОННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ОНКОЛИТИЧЕСКОГО ВИРУСА СЕНДАЙ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ В СИСТЕМАХ <i>IN VITRO</i> И <i>IN OVO</i> Зайнутдинов С.С. ....	18
АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЧЕТВЕРТИЧНОЙ ФОСФОНИЕВОЙ СОЛИ ПИРИДОКСИНА НА ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ Зелди М.И., Никитина Е.В., Штырлин Н.В., Пугачёв М.М., Сапожников С.В., Штырлин Ю.Г. ....	19
ВЛИЯНИЕ СПИРАЛЬНЫХ ЛИНКЕРОВ НА СПОСОБНОСТЬ К АГРЕГАЦИИ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ НА ОСНОВЕ М2Е ПЕПТИДА ВИРУСА ГРИППА Зыкова А.А., Куприянов В.В. ....	19

УВЕЛИЧЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ НОРМАЛЬНЫХ И ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ ФИБРОБЛАСТОВ К БАКТЕРИАЛЬНОЙ ИНВАЗИИ ПРИ ДЕЙСТВИИ АНТИОКСИДАНТА N-АЦЕТИЛЦИСТЕИНА Ивлев А.П., Божокина Е.С.....	20
РАЗРАБОТКА УНИВЕРСАЛЬНОГО ПОДХОДА СОЗДАНИЯ ДИАГНОСТИКУМОВ РЕТРОВИРУСОВ НАСЕКОМЫХ Калашников А.Е., Бурмистрова Л.А., Королев А.В., Богомолов А.И., Бородачев А.В., Ханбекова Е.М., Гладырь Е.А.....	21
АУКСОТРОФНЫЕ ВАРИАНТЫ ОБЩИХ КОЛИФОРМНЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ РЯЗАНСКОЙ ОБЛАСТИ Калчугина В.Д., Зацаринная Е.А.....	21
БИОСИНТЕЗ ТЕСТОСТЕРОНА РЕКОМБИНАНТНЫМИ КЛЕТКАМИ БАКТЕРИЙ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ГЕНЫ ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ Карпов М.В., Стрижов Н.И., Суходольская Г.В., Николаева В.М., Донова М.В. ....	22
МИКРООРГАНИЗМЫ ПОРОД ГЛУБИННЫХ ЗАЛЕЖЕЙ КАЛИЙНЫХ И МАГНИЕВЫХ СОЛЕЙ ВЕРХНЕКАМСКОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ Карташова Ю.А., Аликина И.Н., Пьянкова А.А.....	22
О ПОДДЕРЖАНИИ В АКТИВНОМ СОСТОЯНИИ <i>EREMOTHESCIUM ASHBYI</i> - ПРОДУЦЕНТА ЭФИРНОГО МАСЛА Князькова А.А., Шпичка А.И., Безрукова Е.И., Семенова Е.Ф.....	23
ИССЛЕДОВАНИЯ ПО РАЗРАБОТКЕ БИОПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ РАСТИТЕЛЬНО-МИКРОБНОЙ АССОЦИАЦИИ ДЛЯ РЕМЕДИАЦИИ ЗАГРЯЗНЕННЫХ НЕФТЕПРОДУКТАМИ ПОЧВ Коновалова Е.А., Трефилова М.В., Лазыкин А.Г., Гаврилов К.Е., Дармов И.В.....	24
ПОИСК ГЕНОВ ДЕГРАДАЦИИ СТОЙКИХ ОРГАНИЧЕСКИХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ РАЙОНОВ ПРОМЫШЛЕННОЙ СОЛЕДОБЫЧИ С ЦЕЛЬЮ ОБНАРУЖЕНИЯ АКТИВНЫХ БАКТЕРИЙ-ДЕСТРУКТОРОВ Корсакова Е.С., Шипова А.В., Воронина А.О.....	24
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ХОЛОДОАДАПТИРОВАННЫХ ВИРУСОВ ГРИППА В Крутикова Е.В., Федорова Е.А., Дубровина И.А.....	25
ЭНАНТИОСЕЛЕКТИВНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ФЕНИЛМЕТИЛОВОГО СУЛЬФИДА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГОРДОНИЙ Кылосова Т.И.....	25
СТИМУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ЭКСТРАГИРУЕМЫХ ИЗ ПОЛИЭТИЛЕНОВ СОЕДИНЕНИЙ НА РАЗВИТИЕ БАКТЕРИЙ РОДОВ <i>STARHYLOCOCCUS</i> И <i>LACTOVACILLUS</i> Лапицкий А.В., Лемкина Л.М., Коробов В.П.....	26
РОЛЬ ТИОЛОВЫХ РЕДОКС-СИСТЕМ В ОТВЕТЕ БАКТЕРИЙ <i>E. COLI</i> НА ДЕЙСТВИЕ СТРЕПТОМИЦИНА Лепехина Е.В., Смирнова Г.В.....	27
ЗАВИСИМОСТЬ ВЫХОДА БИОМАССЫ <i>RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS</i> В2 ОТ КОНЦЕНТРАЦИИ ГМФ- БУЛЬОНА В СРЕДЕ Лень Н.В., Алексеенко К.П., Волченко Н.Н., Самков А.А., Худокормов А.А., Карасёва Э.В.....	27
ИЗУЧЕНИЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ПАТОГЕННЫХ АГРОБАКТЕРИЙ НА ВИНОГРАДНИКАХ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ Макаркина М.В., Владимиров И.А., Ильницкая Е.Т., Матвеева Т.В.....	28

ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ АТТЕНУИРОВАННЫХ И ВИРУЛЕНТНЫХ ШТАММОВ ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ Малоголовкин А.С., Титов И.А., Бурмакина Г.С.....	28
ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БАКТЕРИЙ <i>P. BRASSICACEARUM</i> S-1 Мандрик-Литвинкович М.Н., Муратова А.А., Носонова Т.Л., Валентович Л.Н., Титок М.А., Коломиец Э.И.	29
ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА СЕКВЕНИРОВАНИЯ В ВИДОВОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ ФИТОПЛАЗМ Матяшова Г.Н., Заец В.Г. ....	30
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДЕГРАДАЦИЯ БЕЛОГО ФОСФОРА, И ВКЛЮЧЕНИЕ ЕГО В ПРИРОДНЫЙ КРУГОВОРОТ ВЕЩЕСТВ Миндубаев А.З., Волошина А.Д., Горбачук Е.В., Валидов Ш.З., Алимова Ф.К., Сапармырадов К.А., Яхваров Д.Г.....	30
ВЫДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИЙ И БАКТЕРИОФАГОВ РОДА <i>BACILLUS</i> ИЗ РАЗНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ НИШ Миндубаева Л.Н., Шах Махмуд Р.....	31
АНАЭРОБНАЯ КОНВЕРСИЯ КУРИНОГО ПОМЕТА СООБЩЕСТВОМ АНАЭРОБНЫХ БАКТЕРИЙ И АРХЕЙ Мирзиев С.И., Зиганшина Э.Э., Шушляев Р.В., Зиганшин А.М. ....	31
МИКРОБНЫЕ БИОПЛЕНКИ КАК ОБЪЕКТЫ ДЛЯ ДЕЙСТВИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРОТЕИНАЗ Митрофанова О.С., Шарипова М.Р.....	32
ИССЛЕДОВАНИЕ ШТАММА <i>GLUCONACETOBACTER XYLINUS</i> ( <i>KOMAGATOEIBACTER RHAETICUS</i> ) CALU-1629 СИНТЕЗИРУЮЩЕГО НАНОЦЕЛЛЮЛОЗУ В СВЕТЕ СОВРЕМЕННОЙ РЕВИЗИИ СИСТЕМАТИКИ УКУСНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ ПОСЛЕ 20-ЛЕТНЕГО ХРАНЕНИЯ Мошкина В.Н., Райко М.П., Мигунова А.В., Ткаченко А.А. ....	33
ХАРАКТЕРИСТИКА ТРАНСПОЗОННЫХ МУТАНТОВ БАКТЕРИЙ <i>PSEUDOMONAS BRASSICACEARUM</i> БИМ В-446 Муратова А.А., Мандрик-Литвинкович М.Н., Носонова Т.Л., Валентович Л.Н., Коломиец Э.И. ....	33
НОКАУТИРОВАНИЕ ГЕНА ЭФФЛЮКС-СИСТЕМЫ <i>SMFY SERRATIA MARCESCENS</i> Мухаметзянова Л.Д., Камалетдинова Л.Х., Шарипова М.Р., Богомольная Л.М.....	34
ПОЛИМИКРОБНЫЕ БИОПЛЕНКИ КАК ФАКТОР ВЫЖИВАЕМОСТИ ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ Мухаметзянова С.Р., Тризна Е.Ю., Курбангалиева А.Р., Каюмов А.Р. ....	34
УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОК ФИТОПАТОГЕННОЙ БАКТЕРИИ <i>PESTOBACTERIUM ATROSEPTICUM</i> SCRI1043 ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С РАСТЕНИЕМ-ХОЗЯИНОМ Нуриахметова Ч.Б., Даминова А.Г., Петрова О.Е., Агеева М.В., Гоголев Ю.В., Горшков В.Ю. ....	35
ВЛИЯНИЕ ЦИПРОФЛОКСАЦИНА И ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА <i>KATG</i> У БАКТЕРИЙ <i>ESCHERICHIA COLI</i> , РАСТУЩИХ НА РАЗЛИЧНЫХ ИСТОЧНИКАХ УГЛЕРОДА И ЭНЕРГИИ Петерс М.А., Октябрьский О.Н., Смирнова Г.В. ....	36
АНАЛИЗ НУКЛЕОТИДНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ФАГА PF-10 БАКТЕРИЙ <i>PSEUDOMONAS</i> Пилипчук Т.А., Валентович Л.Н., Титок М.А., Коломиец Э.И.....	36
ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ОБИТАНИЯ НА ФОРМИРОВАНИЕ НЕКУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТОК САЛЬМОНЕЛЛ ПОД ДЕЙСТВИЕМ СТРЕССА Пиядина А.Ю., Пахомов Ю.Д., Блинкова Л.П. ....	37

ХАРАКТЕРИСТИКА АНТИБИОТИКОУСТОЙЧИВОСТИ ЭНТЕРОКОККОВ Плотникова Д.Т., Сидоренко А.В., Новик Г.И.....	37
ИНГИБИРОВАНИЕ СПОРООБРАЗОВАНИЯ КЛЕТОК <i>BACILLUS SUBTILIS</i> НЕКОТОРЫМИ ВИДАМИ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ УЛЬТРАМИКРОБАКТЕРИЙ Поливцева В.Н., Шорохова А.П., Холоденко В.П., Росс Д.В., Сузина Н.Е.....	38
РАСПРОСТРАНЕНИЕ СКРУЧИВАНИЯ ЛИСТЬЕВ ВИНОГРАДА НА ТЕРРИТОРИИ КРЫМА Поротикова Е.В., Рисованная В.И., Волков Я.А., Дмитренко Ю.Д., Володин В.А., Гориславец С.М., Странишевская Е.П., Камионская А.М., Виноградова С.В. ....	38
ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ БАКТЕРИЙ <i>PROPIONIBACTERIUM ACNES</i> И <i>STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS</i> В ПЛАНКТОННОЙ КУЛЬТУРЕ И БИОПЛЕНКАХ Придачина К.С., Коробов В.П., Ерошенко Д.В. ....	39
АКТИНОБАКТЕРИИ ИЗ ПИЖМЫ ( <i>TANACETUM VULGARE L.</i> ), ПОРАЖЕННОЙ ЛИСТОВОЙ НЕМАТОДОЙ РОДА <i>ARHELENCHOIDES</i> Присяжная Н.В., Белянин А.С., Рябков Б.В., Стародумова И.П., Дорофеева Л.В. ....	40
ИЗУЧЕНИЕ ЛИТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА <i>LYSOBACTER CAPSICI</i> ВКМ В-2533 Протас К.Г., Васильева Н.В. ....	40
ОЦЕНКА АНТИБИОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ШТАММОВ АКТИНОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ БАЙКАЛЬСКИХ ЭНДЕМИЧНЫХ ГЛУБОКОВОДНЫХ АМФИПОД РОДА <i>ОММАТОГАММАРУС</i> Протасов Е.С., Аксенов-Грибанов Д.В., Войцеховская И.В., Димова М.Д., Тимофеев М.А.....	41
ЭЛЕКТРОПРОВОДЯЩИЕ СВОЙСТВА КОМПОЗИЦИИ «БАКТЕРИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ <i>GLUCONOBACTER</i> – ПОЛИМЕР ПОЛИ(3,4-ЭТИЛЕНДИОКСИТИОФЕН), СВЯЗАННЫЙ С ПОЛИСТИРОЛСУЛЬФОНАТОМ» Пташник И.В., Китова А.Е., Плеханова Ю.В., Тарасов С.Е., Готовцев П.М., Василов Р.Г., Решетиллов А.Н. ....	41
ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИАЛЬНОГО СООБЩЕСТВА ТЕХНОГЕННОЙ ПОЧВЫ БЕЗ РАСТЕНИЙ И РАСТИТЕЛЬНОЙ РИЗОСФЕРЫ РАЙОНА СОЛЕРАЗРАБОТОК Пьянкова А.А., Корсакова Е.С., Назаров А.В. ....	42
ШТАММ БАКТЕРИИ <i>TSUKAMURELLA TYROSINOSOLVENS</i> PS2 – ДЕСТРУКТОР АЛКАНОВ И ПРОДУЦЕНТ БИОПАВ Романова В.А., Григорьева Т.В., Лайков А.В. ....	43
ИДЕНТИФИКАЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МИШЕНЕЙ ПРОИЗВОДНЫХ ФУРАНОНОВ В КЛЕТКАХ <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> , <i>BACILLUS SUBTILIS</i> , <i>STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS</i> И <i>MICROCOCCUS LUTEUS</i> Рыжикова М.Н., Тризна Е.Ю., Курбангалиева А.Р., Чернова Л.С., Каюмов А.Р.....	43
ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ РЕНТГЕНОДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕДУР ДЛЯ НОРМОФЛОРЫ КИШЕЧНИКА ЧЕЛОВЕКА Рычакова Ж.С., До Тхи Зуен, Сергеева С.Ю., Рыжкин С.А., Зеленихин П.В., Исмагилова Р.К., Ильинская О.Н., Яруллина Д.Р.....	44
ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ <i>SINORHIZOBIUM MELILOTI</i> , ДЕТЕРМИНИРУЮЩИХ ВИРУЛЕНТНОСТЬ И СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТЬ Саксаганская А.С., Мунтян В.С., Румянцева М.Л. ....	44
ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ ЭКСТРАКТОВ РАСТЕНИЙ НА ТОЛЩИНУ СЛОЯ БИОПЛЕНОК <i>ESCHERICHIA COLI</i> Самойлова З.Ю., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н. ....	45



МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ТЕСТ-СИСТЕМА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ПРИРОДНЫХ ШТАММОВ-ПРОДУЦЕНТОВ АНТИМИКРОБНЫХ СОЕДИНЕНИЙ Сацункевич Н.Е., Титок М.А. ....	45
ИНВАЗИЯ ТРОПИЧЕСКИХ ТОКСИЧНЫХ ЦИАНОБАКТЕРИЙ В ВОДОЕМЫ СЕВЕРНЫХ ШИРОТ: МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ <i>CYLINDROSPERMOPSIS RACIBORSKII</i> ИЗ ОЗЕРА НЕРО Сиделев С.И., Кокшарова О.А., Бабаназарова О.В. ....	46
СТИМУЛЯЦИЯ ПЕРЕХОДА НЕКУЛЬТИВИРУЕМЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В ВЕГЕТАТИВНОЕ СОСТОЯНИЕ ПРИ ПОМОЩИ ИНУЛИНСОДЕРЖАЩИХ ПРЕПАРАТОВ Скорлупкина Н.Н., Чистякова Д.А., Блинкова Л.П. ....	47
ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ПОЛОЖЕНИЕ ШТАММА-ДЕСТРУКТОРА ХЛОРФЕНОКСИКИСЛОТ РОДА <i>LYSINIBACILLUS</i> Стариков С.Н., Сагитова А.И., Низамов Р.А., Коробов В.В., Маркушева Т.В. ....	47
СКРИНИНГ ДРОЖЖЕВЫХ ОРГАНИЗМОВ - ПРОДУЦЕНТОВ ПАЛЬМИТОЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ Степанова Н.Н., Шакирова М.М., Моргунов И.Г. ....	48
СОВМЕСТНОЕ ВЛИЯНИЕ КАДМИЯ, СВИНЦА И БАКТЕРИЙ <i>BACILLUS SUBTILIS</i> НА ЗЕЛЕННЫЕ ВОДОРОСЛИ Тимофеева З.М., Курамшина З.М. ....	48
СИМБИОТИЧЕСКИЕ И СЕРОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БАКТЕРИЙ ШТАММА <i>AZOSPIRILLUM THIOPHILUM</i> BV-S Титанова Е.О., Попова И.А., Бурьгин Г.Л. ....	49
МАЛДИ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ – ЭФФЕКТИВНЫЙ МЕТОД СИСТЕМАТИКИ АСКОМИЦЕТНЫХ ДРОЖЖЕЙ Томашевская М.А., Субботина М.С., Кропачев И.А., Присяжная Н.В. ....	50
ИНАКТИВАЦИЯ ГЕНА ВЕРОЯТНОЙ ЦИСТЕИН ДЕСУЛЬФУРАЗЫ <i>CSDA</i> ДЕСТРУКТОРА ДИХЛОРМЕТАНА <i>METHYLOBACTERIUM DICHLOROMETHANICUM</i> DM4 Торгонская М.Л., Носова Д.В. ....	50
ВЛИЯНИЕ КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ НА ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ БАКТЕРИЙ НОРМОБИОТЫ Трашкова Т.М., Моругина А.С., Вахитов Т.Я. ....	51
ВОЗМОЖНЫЕ ПУТИ ДЕСТРУКЦИИ АРОМАТИЧЕСКОЙ СОСТАВЛЯЮЩЕЙ НЕФТИ НЕКОТОРЫМИ ВИДАМИ БАКТЕРИЙ-НЕФТЕДЕСТРУКТОРОВ ВЫДЕЛЕННЫМИ ИЗ ЭНДО И РИЗОСФЕРЫ РАСТЕНИЙ Третьякова М.С., Беловежец Л.А., Макарова Л.Е., Маркова Ю.А. ....	51
ВЫЖИВАЕМОСТЬ БАКТЕРИЙ В ПОЛИМИКРОБНЫХ БИОПЛЕНКАХ Тризна Е.Ю., Мухаметзянова С.Р., Байдамшина Д.Р., Курбангалиева А.Р., Баранова Н.Б., Каюмов А.Р., Шарафутдинов И.С. ....	52
ТАКСОНОМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НОВЫХ ШТАММОВ МЕТАНОГЕННЫХ АРХЕЙ, УЧАСТВУЮЩИХ В РАЗЛОЖЕНИИ АЛКИЛБЕНЗОЛСУЛЬФОНАТОВ Трубицын В.Э., Рыжманова Я.В., Ошуркова В.И. ....	53
ЦИРКУЛЯЦИЯ ГЛУТАТИОНА ПРИ ИЗМЕНЕНИИ ДОСТУПНОСТИ НЕОРГАНИЧЕСКОГО ФОСФАТА У БАКТЕРИЙ <i>ESCHERICHIA COLI</i> Тюленев А.В., Смирнова Г.В., Буров В.Е., Октябрьский О.Н. ....	53
ВЛИЯНИЕ ЦИПРОФЛОКСАЦИНА НА УРОВЕНЬ ЭКСТРАКЛЕТОЧНОГО СУЛЬФИТА ( $SO_3^{2-}$ ) У БАКТЕРИЙ <i>ESCHERICHIA COLI</i> Ушаков В.Ю., Смирнова Г.В. ....	54

ВЫДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИЙ-ДЕСТРУКТОРОВ ДДТ ИЗ ПОЧВ, ДЛИТЕЛЬНО ЗАГРЯЗНЁННЫХ ХЛОРООРГАНИЧЕСКИМИ ИНСЕКТИЦИДАМИ Фарофонова В.В., Егорова Д.О.....	54
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТАБИЛЬНОСТИ ДОНОРА АТТЕНУАЦИИ В/СССР/60/69 МЕТОДОМ ПИРОСЕКВЕНИРОВАНИЯ Федорова Е.А., Крутикова Е.В. ....	55
ВЛИЯНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ РИБОНУКЛЕАЗЫ <i>BACILLUS ALTITUDINIS</i> НА ДИНАМИКУ ТИТРА БАКТЕРИОФАГА В КУЛЬТУРАЛЬНОЙ СРЕДЕ <i>BACILLUS ALTITUDINIS</i> Хазиева Л.Р., Шах Махмуд Р. ....	56
БИОДЕГРАДАЦИЯ ДЕГИДРОАБИЕТИНОВОЙ КИСЛОТЫ АКТИНОБАКТЕРИЯМИ РОДА <i>DIETZIA</i> Черемных К.М.....	56
ГЕНОМНЫЕ ОСТРОВА У ПРИРОДНЫХ ШТАММОВ <i>SINORHIZOBIUM MELILOTI</i> Черкасова М.Е., Мунтян В.С., Румянцева М.Л.....	57
ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ДЕСТРУКТОРОВ НЕФТИ ИЗ ГЕОГРАФИЧЕСКИ УДАЛЕННЫХ РЕГИОНОВ Чернявская М.И., Делеган Я.А., Филонов А.Е., Титок М.А.....	57
ПОИСК КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ, СИНТЕЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИОЦИНЫ Чистякова Д.А., Блинкова Л.П., Зайцева Е.В., Ожован И.М., Максимова О.В.....	58
АПРОБАЦИЯ ИМЕЮЩИХСЯ ПРАЙМЕРОВ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ ПЕКТОЛИТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ МЕТОДОМ ПЦР Шавель М.И., Комар Е.И., Песнякевич А.Г.....	59
ЭФФЕКТ ФУРАНОНА F105 НА ОБРАЗОВАНИЕ БИОПЛЕНКИ КЛЕТКАМИ <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> MRSA Шарафутдинов И.С., Тризна Е.Ю., Курбангалиева А.Р., Каюмов А.Р., Макаревич О.....	59
ВЛИЯНИЕ ПРОТЕАЗЫ НТРА ИЗ <i>BACILLUS SUBTILIS</i> НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ КЛЕТОК <i>ESCHERICHIA COLI</i> Шигапова (Гайнутдинова) З.Р., Черова Л.С., Шарафутдинов И.С., Каюмов А.Р.....	60
БАКТЕРИИ-ДЕСТРУКТОРЫ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ ИЗ ШЛАМОХРАНИЛИЩА СОЛЕДОБЫВАЮЩЕГО ПРЕДПРИЯТИЯ ПАО «УРАЛКАЛИЙ» (Г. БЕРЕЗНИКИ, ПЕРМСКИЙ КРАЙ) Шипова А.В., Шестакова Е.А., Егорова Д.О.....	60
РОЛЬ МАСАВ ЭФФЛЮКС-СИСТЕМЫ В ЗАЩИТЕ <i>SERRATIA MARCESCENS</i> ОТ АНТИБИОТИКОВ И ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА Ширшикова Т.В., Матросова Л.Е., Шарипова М.Р., Богомольная Л.М.....	61
ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ АРБУСКУЛЯРНЫХ МИКОРИЗНЫХ ГРИБОВ ЕСТЕСТВЕННЫХ И АГРОЭКОСИСТЕМ ЕВРОПЕЙСКОЙ ТЕРРИТОРИИ РОССИИ Юрков А.П., Якоби Л.М., Степанова Г.В., Шишова М.Ф. ....	61
СЕКЦИЯ «БИОФИЗИКА И БИОИНФОРМАТИКА».....	63
EFFECTS OF X-RAYS ON THE URINARY EXCRETION OF CELL-FREE NUCLEAR AND MITOCHONDRIAL DNA IN RATS OF DIFFERENT AGES Abdullaev S.A., Kamenskikh K.A., Minkabirova G.M. ....	63
INCREASE OF EXTRACELLULAR NUCLEAR AND MITOCHONDRIAL DNA WITH MUTATIONS IN THE URINE OF RATS EXPOSED TO IONIZING RADIATION Kamenskikh K.A., Minkabirova G.M., Abdullaev S.A. ....	63

WHEAT SEEDLINGS GROWTH AND ANTIOXIDANT SYSTEM ACTIVITY CHANGES AS RESPONSES TO MILLIMETER WAVES IRRADIATION Mukhaelyan Z.H., Poghosyan G.H., Vardevanyan P.H. ....	63
INCREASE IN THE COAGULATION FACTOR XA CONCENTRATION UPON COMPETITION OF REVERSIBLE INHIBITORS WITH ANTITHROMBIN Maigorov A.S., Panteleev M.A., Kolyadko V.N. ....	64
КОНКУРЕНТНОЕ СВЯЗЫВАНИЕ ИОНОВ $K^+$ И $H^+$ В ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОМ КАНАЛЕ ДОСТУПА $Na^+$ , $K^+$ -АТФАЗЫ Mayorova V.E., Tashkin V.Y., Sokolov V.S. ....	64
CADMIUM-INDUCED OXIDATIV STRESS AND GROWTH PARAMETERS OF WHEAT PLANTS Poghosyan G.H., Mukhaelyan Z.H., Vardevanyan P.H. ....	65
ВЛИЯНИЕ ИОНА МЕТАЛЛА НА СПЕЦИФИЧНОСТЬ ПИРИМИДИНФОСФОРИЛАЗЫ ИЗ <i>BACILLUS SUBTILIS</i> ПО РЕЗУЛЬТАТАМ РЕНТГЕНОСТРУКТУРНОГО АНАЛИЗА Балаев В.В., Лашков А.А., Габдулхаков А.Г., Михайлов А.М. ....	65
КОНСТРУИРОВАНИЕ БИОСЕНСОРОВ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИИ <i>HELICOBACTER PYLORI</i> Белова А.М., Клинов Д.В., Басманов Д.В., Лазарев В.Н. ....	66
ТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ИОНОВ УРАНИЛА И ЦИНКА НА РЯСКУ МАЛУЮ Боднарь И.С. ....	66
ВЛИЯНИЕ МУТАЦИЙ ТРОПОМИОЗИНА, ПРИВОДЯЩИХ К КАРДИОМИОПАТИЯМ, НА КАЛЬЦИЕВУЮ РЕГУЛЯЦИЮ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МИОЗИНА С ТОНКИМ ФИЛАМЕНТОМ Боровков Д.И., Щепкин Д.В., Набиев С.Р., Матюшенко А.М., Копылова Г.В., Левицкий Д.И. ....	67
СТРУКТУРА И СВОЙСТВА МОДИФИЦИРОВАННОГО ГИДРОКСИАПАТИТА ДЛЯ ИМПЛАТНОВ Быстрова А.В., Дехтяр Ю.Д., Быстров В.С. ....	67
ОЦЕНКА АДАПТАЦИОННЫХ И МИКРОЭВОЛЮЦИОННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В ЕСТЕСТВЕННЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ ДОЖДЕВЫХ ЧЕРВЕЙ, ДОЛГОЕ ВРЕМЯ НАСЕЛЯЮЩИХ ПОЧВЫ С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ РАДИОНУКЛИДОВ И ТЯЖЁЛЫХ МЕТАЛЛОВ Велегжанинов И.О., Канева А.В., Майстренко Т.А., Белых Е.С., Шадрин Д.М., Пылина Я.И., Чадин И.Ф. ....	68
ИЗМЕНЕНИЕ НАРУЖНОГО СЛОЯ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ДЕЙСТВИИ АМИЛОИДНЫХ ФИБРИЛЛ Венская Е.И., Скоробогатова А.С., Лукьяненко Л.М., Ковалева С.А. ....	69
РОЛЬ ПРОТЕИНКИНАЗЫ P38 В РЕГУЛЯЦИИ СТРЕССОВЫХ ОТВЕТОВ НА ЭМИ СВЧ У МЫШЕЙ Виноградова Е.В., Новосёлова Т.В., Хренов М.О., Глушкова О.В., Новосёлова Е.Г. ....	69
ИССЛЕДОВАНИЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ НА БИСЛОЙНЫХ ЛИПИДНЫХ МЕМБРАНАХ Гаврильчик А.Н., Соколов В.С. ....	70
КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ДИНАМИКИ ПЕРЕКЛЮЧЕНИЯ ПОЛЯРИЗАЦИИ В ПОЛИМЕРНЫХ СЕГНЕТОЭЛЕКТРИКАХ НА ОСНОВЕ ПВДФ Геворкян В.Е., Быстров В.С., Авакян Л.А., Парамонова Е.Б. ....	70
ХАОТИЧЕСКАЯ ДИНАМИКА ПАРАМЕТРОВ ТРЕМОРА И ТЕППИНГА С ПОЗИЦИИ ТЕРМОДИНАМИЧЕСКОГО ПОДХОДА Горбунов Д.В., Эльман К.А., Горбунова Д.С., Срыбник М.А. ....	71

ПОИСК АНТИМИКРОБНЫХ БЕЛКОВ И ПЕПТИДОВ В СЕКРЕТЕ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ МЕДИЦИНСКОЙ ПИЯВКИ Графская Е.Н., Бабенко В.В.....	72
РОЛЬ МИОЗИНА В ПРОЦЕССАХ РЕЦИКЛИРОВАНИЯ СИНАПТИЧЕСКИХ ВЕЗИКУЛ В ДВИГАТЕЛЬНОМ НЕРВНОМ ОКОНЧАНИИ ХОЛОДНОКРОВНЫХ Григорьев П.Н.....	72
БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ ПОИСК ЛИПИД-СВЯЗЫВАЮЩИХ ВНУТРЕННЕ НЕУПОРЯДОЧЕННЫХ БЕЛКОВ Дерюшева Е.И., Немашкалова Е.Л., Пермьяков С.Е.....	73
РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННОЕ УВЕЛИЧЕНИЕ ПРОЛИФЕРАТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА ФИБРОБЛАСТОВ ЛЁГКИХ ЭМБРИОНА ЧЕЛОВЕКА Ермакова А.В., Велегжанинов И.О. ....	73
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ТРИБЛОКСОПОЛИМЕРОВ НА ХАРАКТЕР АДСОРБЦИИ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ НА ПОВЕРХНОСТИ ПФУ ЭМУЛЬСИЙ Жалимов В.К., Грицына Ю.В. ....	74
ПОИСК ГЕНОВ, ОТНОСЯЩИХСЯ К МНС-РЕГИОНУ У ПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ Захарова А.Л., Васильев К.А., Пантелеева А.А., Добрынин П.В. ....	74
ВЛИЯНИЕ ФЛУКТУАЦИЙ ГЕОМАГНИТНОГО ПОЛЯ, ИМИТИРУЮЩИХ МАГНИТНУЮ БУРЮ, НА ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ КАЛЬЦИЙЗАВИСИМЫЕ ПРОТЕИНАЗЫ НЕКОТОРЫХ ГИДРОБИОНТОВ Канцерова Н.П., Крылов В.В., Лысенко Л.А., Немова Н.Н. ....	75
ХАРАКТЕРИСТИКА И ГЕНОМНАЯ АННОТАЦИЯ SSR ЛОКУСОВ, СЦЕПЛЕННЫХ С ДЛИНОЙ ВОЛОКНА У СРЕДНЕВОЛОКНИСТОГО ХЛОПЧАТНИКА ( <i>G. HIRSUTUM L.</i> ) Клюева М.В., Салахутдинов И.Б., Шерматов Ш.Э., Буриев З.Т., Абдурахмонов И.Ю.....	75
ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЕ НОВЫХ СЕЛЕН-СОДЕРЖАЩИХ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ НА СОСТОЯНИЕ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ КРЫС Коваленко А.А., Забелина И.А., Хмиль Н.В., Овсянникова Т.Н., Дяченко В.Д.....	76
ЛОКАЛИЗАЦИЯ ТРАНСДУЦИНОВ ВО ВКУСОВЫХ ПОЧКАХ МЫШИ Колесникова А.С., Кабанова Н.В., Кучин А.В., Быстрова М.Ф.....	77
ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРЫ БЕЛКА VAPD ИЗ <i>XYLELLA FASTIDIOSA</i> И МЕХАНИЗМА ЕГО СВЯЗЫВАНИЯ С ДНК Кочнева М.В., Швецов А.В., Aparicio Ricardo, Polikarpov Igor, Голубев А.М.....	77
ДАРНИА МАГНА КАК ТЕСТ-СИСТЕМА ДЛЯ ОЦЕНКИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ЕСТЕСТВЕННЫХ И ИСКУССТВЕННЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ Крылов В.В., Осипова Е.А. ....	78
СОЗДАНИЕ НОВЫХ АНТИБИОТИКОВ, НАПРАВЛЕННЫХ НА ИНГИБИРОВАНИЕ E-САЙТА РИБОСОМЫ БАКТЕРИЙ Лаптев Г.Ю., Манцызов А.Б., Польшаков В.И. ....	78
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОРОВ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ БЫСТРОДЕЙСТВИЯ РАСЧЕТОВ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ Лихачев И.В., Балабаев Н.К.....	79
ИССЛЕДОВАНИЕ СОВМЕСТНОГО ДЕЙСТВИЯ МОДУЛИРОВАННЫХ АКУСТИЧЕСКИХ ВОЛН И ГЕНОТОКСИЧЕСКИХ АГЕНТОВ НА СТРУКТУРУ ХРОМАТИНА ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ МЫШИ Лысенко Ю.Н., Пашовкин Т.Н., Гапеев А.Б.....	80

МЕТОДЫ И АЛГОРИТМЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ДЛЯ ПОСТРОЕНИЯ ОБЛАЧНОГО РЕСУРСА MATHBRAIN Оплачко Е.С., Рыкунов С.Д., Устинин М.Н. ....	80
КЛАСТЕРНЫЙ АНАЛИЗ ПРОФИЛЕЙ ФИЗИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПРОМОТОРОВ <i>E.COLI</i> Орлов М.А., Темлякова Е.А., Рясик А.А., Сорокин А.А. ....	81
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ УЛЬТРАКОРОТКИХ ЛАЗЕРНЫХ ИМПУЛЬСОВ С МАТЕРИАЛОМ ЖИВОЙ КЛЕТКИ НА ПРИМЕРЕ GV ООЦИТОВ МЫШИ Осыченко А.А., Залесский А.Д., Шахов А.М., Надточенко В.А. ....	82
ОСОБЕННОСТИ КИСЛОРОДНОГО МЕТАБОЛИЗМА ИЗОЛИРОВАННОЙ ПЕРФУЗИРУЕМОЙ ПЕЧЕНИ КРЫСЫ ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ХЛОРИДА КОБАЛЬТА Пахомова В.Г. ....	82
СИСТЕМНЫЙ АНАЛИЗ ПРОБЛЕМЫ ПРИМЕНЕНИЯ БИОИНЖЕНЕРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ЛЕЧЕНИИ УРОТЕЛИАЛЬНОГО РАКА: МЕДИЦИНСКИЕ, БИОЛОГИЧЕСКИЕ, ПРАВОВЫЕ И КИБЕРНЕТИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ Перепечин Д.В., Перепечина И.О., Шевченко В.П., Смирнова Д.В., Игнашин Н.С., Сафин Р.Н. ....	83
БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ДЛИН ВОЛН 400 И 460 НМ ПРИ ОНКОГЕНЕЗЕ Плеханова Е.С., Чернигина И.А., Щербатюк Т.Г., Чернов В.В. ....	83
ВЛИЯНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ СРЕДЫ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАДИАЦИОННОЙ СТЕРИЛИЗАЦИИ Полякова И.В., Козьмин Г.В., Кобялко В.О., Павлов А.Н. ....	84
ДИНАМИКА ФУНКЦИОНАЛЬНО ВАЖНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ МОЛЕКУЛЫ УРИДИНФОСФОРИЛАЗЫ ИЗ <i>VIBRIO</i> <i>CHOLERAЕ</i> ПО РЕЗУЛЬТАТАМ РЕНТГЕНСТРУКТУРНОГО АНАЛИЗА ПРИ АТОМНОМ РАЗРЕШЕНИИ Прокофьев И.И., Лашков А.А., Габдулхаков А.Г., Миронов А.С., Михайлов А.М. ....	84
ВЛИЯНИЕ НИЗКО-ИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ УФ ДИАПАЗОНА НА ВОЗБУДИТЕЛЯ КОКЛЮША <i>BORDETELLA PERTUSSIS</i> Раевская И.Н., Овсянникова Т.Н., Ромоданова Е.А., Левченко А.Н. ....	85
НАХОЖДЕНИЕ ПАРЦИАЛЬНЫХ СПЕКТРОВ ОТДЕЛОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА ПО ДАННЫМ МАГНИТНОЙ ЭНЦЕФАЛОГРАФИИ Рыкунов С.Д., Сычев В.В., Устинин М.Н. ....	86
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДИНАМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ОТКРЫТЫХ СОСТОЯНИЙ ДНК ДЛЯ КЛАССИФИКАЦИИ ПРОМОТОРОВ <i>E.COLI</i> Рясик А.А., Орлов М.А., Темлякова Е.А., Сорокин А.А. ....	86
ГОМОЛОГИЯ УЧАСТКА V ДОМЕНА 23S рРНК С УЧАСТКАМИ ГЕНОВ РАЗЛИЧНЫХ КОНСЕРВАТИВНЫХ БЕЛКОВ ПРОКАРИОТ Скобликов Н.Э., Салямов В.И., Зимин А.А. ....	87
ИССЛЕДОВАНИЕ ЗАВИСИМОСТИ ЧАСТОТЫ КОНТАКТОВ УЧАСТКОВ ХРОМОСОМ ОТ АКТИВНОСТИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ У <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> И <i>HOMO SAPIENS</i> Самборская М.Д., Храмеева Е.Е., Гельфанд М.С. ....	87
ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ И НАНОЧАСТИЦ В ОТНОШЕНИИ <i>PARAMECIUM</i> <i>CAUDATUM</i> С ПОМОЩЬЮ УЛУЧШЕННОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ Свиридова И.А., Шевцова Ю.А. ....	88

АНАЛИЗ РОЛИ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА В ИНДУКЦИИ ВАРИАБЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА В ПРОРОСТКАХ ГОРОХА Семина М.М., Морозова Е.Н., Бушуева А.В., Воденеев В.А. ....	88
ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ В РАЗВИТИИ ТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ИОНОВ АЛЮМИНИЯ НА КЛЕТКИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА Скоробогатова А.С. ....	89
ИССЛЕДОВАНИЕ ОРГАНИЗАЦИИ ЯДРЫШКОПОДОБНОГО ТЕЛЬЦА И ХРОМАТИНА В ООЦИТАХ МЫШИ МЕТОДОМ ОПТИЧЕСКИХ ЛАЗЕРНЫХ ЛОВУШЕК Сырчина М.С., Айбуш А.В., Залесский А.Д., Осыченко А.А., Шушин А.И., Надточенко В.А. ....	89
CA <sup>2+</sup> -АКТИВИРУЕМЫЕ K <sup>+</sup> КАНАЛЫ В МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА Тарасов М.В., Котова П.Д., Рогачевская О.А., Колесникова А.С., Колесников С.С. ....	90
ВЛИЯНИЕ ДОДЕЦИЛ-ТРИФЕНИЛФОСФОНИЯ И ДЕКВАЛИНИУМА НА ПРОНИЦАЕМОСТЬ БИОЛОГИЧЕСКИХ И ИСКУССТВЕННЫХ МЕМБРАН Теньков К.С., Белослудцева Н.В., Белослудцев К.Н. ....	90
АНАЛИЗ КОЛЕБАНИЙ ЧИСЛЕННОСТИ ЛЕММИНГОВ С ПОМОЩЬЮ НАБОРА ВЗАИМОСВЯЗАННЫХ МОДЕЛЕЙ РАЗНОЙ СТЕПЕНИ ДЕТАЛИЗАЦИИ Тращев Р.В., Саранча Д.А. ....	91
ИНСУЛИН АКТИВИРУЕТ ДВА РАЗЛИЧНЫХ ПУТИ КАЛЬЦИЕВОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ В БЕЛЫХ АДИПОЦИТАХ Туровский Е.А., Туровская М.В., Долгачева Л.П. ....	91
МЕХАНИЗМЫ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ АСТРОЦИТОВ МОЗГА К ГИПОКСИИ Туровский Е.А., Туровская М.В. ....	92
ТРАНСГЕНЕРАЦИОННЫЕ НАРУШЕНИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ <i>DAPHNIA MAGNA</i> ПОСЛЕ НИЗКОДОЗОВОГО $\gamma$ -ОБЛУЧЕНИЯ В МАЛЫХ ДОЗАХ Ускалова Д.В., Савина Н.Б., Сарапульцева Е.И. ....	92
ГИБРИДНЫЕ КВАНТОВО-МЕХАНИЧЕСКИЕ/МОЛЕКУЛЯРНО-ДИНАМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ФОТОСИСТЕМЫ I Фатхуллин Б.Ф., Габдулхаков А.Г. ....	93
ФОТОПОВРЕЖДЕНИЕ КЛЕТОК ГЛАЗА Фахранурова Л.И., Храмов Р.Н. ....	93
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ LASTZ ДЛЯ ПОИСКА КЛТ-ДНК В ГЕНОМАХ NICOTIANA Хафизова Г.В., Добрынин П.В., Матвеева Т.В. ....	94
НЕБИСЛОЙНЫЕ КОМПОНЕНТЫ МЕМБРАНЫ КЛЕТКИ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ИЗГИБНУЮ ЖЕСТКОСТЬ Чекашкина К.В., Кузьмин П.И., Фролов В.А., Башкиров П.В. ....	94
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ И МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ТРАНСПОРТА КИСЛОРОДА ЧЕРЕЗ ПОВЕРХНОСТЬ ИЗОЛИРОВАННОЙ ПЕРФУЗИРУЕМОЙ ПЕЧЕНИ КРЫСЫ Шадрин К.В. ....	95
ВЛИЯНИЕ ТРИКЛОЗАНА НА ПРОНИЦАЕМОСТЬ МЕМБРАН МИТОХОНДРИЙ И ЛИПОСОМ Шарапов В.А., Дубинин М.В., Белослудцев К.Н. ....	95
ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ И НАНОЧАСТИЦ В ОТНОШЕНИИ <i>PARAMECIUM CAUDATUM</i> С ПОМОЩЬЮ УЛУЧШЕННОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ Шевцова Ю.А., Свиридова И.А. ....	96

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА КРЕМНИЯ С ЛИПИДНЫМ БИСЛОЕМ, ПРИВОДЯЩЕЕ К РАЗРУШЕНИЮ ИЛИ СТАБИЛИЗАЦИИ ЛИПИДНЫХ ВЕЗИКУЛ Шибаетов А.В., Швеи П.В., Филиппова О.Е., Хохлов А.Р. ....	96
IN SILICO ИССЛЕДОВАНИЕ СВЯЗЫВАНИЯ АЛЬБУМИНОМ ДВУХОСНОВНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ НА ПРИМЕРЕ А,Ω-ГЕКСАДЕКАНДИОВОЙ КИСЛОТЫ Щербатов К.А., Кондратьев М.С., Майоров С.А., Дубинин М.В., Самарцев В.Н. ....	97
РАЗРАБОТКА МАТЕМАТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ КРОВОПОТЕРИ НА ОСНОВЕ ТЕСТА ТРОМБОДИНАМИКИ И ЕЕ ВАЛИДАЦИЯ ПО ХВОСТОВОМУ И НОГТЕВОМУ КРОВОТЕЧЕНИЮ У МЫШЕЙ Якушева А.А., Пантелеев М.А., Колядко В.Н. ....	98
<b>СЕКЦИЯ «МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ» .....</b>	<b>99</b>
A NEW RAPID VERSION OF COMET ASSAY FOR DETECTING FREE-RADICAL PATHOLOGIES Chernigina I.A., Shcherbatyuk T.G. ....	99
CREATING MODEL SYSTEMS FOR TESTING THE BIOACTIVITY OF TYPE I AND II IFNS Konyaeva E.P., Kulikova K.V., Gnuchev N.V., Georgiev G.P., Larin S.S. ....	99
DETECTION OF THE EGFR T790M MUTATION IN LUNG CANCER SAMPLES FROM RUSSIAN PATIENTS USING HIGHLY SENSITIVE PNA-MEDIATED REAL-TIME PCR CLAMPING TECHNOLOGY Lavdovskaia E., Iyevleva A., Mitushkina N., Raskin G., Zaitcev I., Korzhenevskaja M., Imyanitov E. ....	100
DEVELOPMENT OF NAM POPULATION IN COTTON FOR ANALYSIS AGRONOMICALLY IMPORTANT TRAITS Turaev O., Kushanov F., Makamov A., Darmanov M., Tulanov A., Husenov N., Norbekov J., Buriev Z., Abdurakhmanov I. ....	100
THE EFFECTS OF GALECTIN-1 ON THE GENE EXPRESSION OF CD4+ T LYMPHOCYTE DIFFERENTIATION TRANSCRIPTION FACTORS Vasilyeva O.A. ....	101
ВЛИЯНИЕ GFH-ФАКТОРОВ РАДИОУСТОЙЧИВОЙ БАКТЕРИИ <i>DEINOCOCCUS RADIODURANS</i> НА ИНИЦИАЦИЮ ТРАНСКРИПЦИИ Агапов А.А., Есюнина Д.М., Кульбачинский А.В. ....	101
ПОЛУЧЕНИЕ БЫЧЬЕГО ПРЕПРОХИМОЗИНА В КЛЕТКАХ <i>E. COLI</i> Акишев Ж.Д., Хасенов Б.Б. ....	102
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ОТДЕЛЬНЫХ ФРАКЦИЙ ФОСФОЛИПИДОВ ХРОМАТИНА КЛЕТОК ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС К <i>IN VIVO</i> ВОЗДЕЙСТВИЮ ЦИСПЛАТИНА Акопян Н.Р., Явроян Ж.В., Оганесян А.Г., Саркисян Э.Г., Геворкян Э.С. ....	102
КАРТИРОВАНИЕ РАЙОНОВ ЯДРЫШКОВОГО ОРГАНИЗАТОРА И ТЕЛОМЕРНЫХ ПОВТОРОВ НА ХРОСОМОХ МОЛЛЮСКА <i>LITTORINA SAXATILIS</i> ИЗ КОМПЛЕКСА КРИПТИЧЕСКИХ ВИДОВ Алешкина Д.Д., Галкина С.А., Михайлова Н.А. ....	103
СОЧЕТАННОЕ АНТИПРОЛИФЕРАТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ РИБОНУКЛЕАЗЫ <i>BACILLUS PUMILUS</i> И ДОКСОРУБИЦИНА НА КЛЕТКИ КАРЦИНОМЫ ЛЕГКИХ ЧЕЛОВЕКА A549 Амутбаева А.И., Зеленихин П.В. ....	103
КОНСТРУИРОВАНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ ПУТЕЙ МИГРЕНИ Анучина А.А., Кондратьева Н.С., Наумова Е.А. ....	104

ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МИКРОРНК В КАЧЕСТВЕ ЛАБОРАТОРНОГО БИОМАРКЕРА КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА Бацких А.А. ....	104
ПЕРВЫЙ ПРЕДСТАВИТЕЛЬ КЛАНА СУР74 ЦИТОХРОМОВ P450 У <i>TRICHOPLAX ADHAERENS</i> Бессолицына Е.К., Топоркова Я.Ю., Мухтарова Л.Ш., Гоголев Ю.В., Гречкин А.Н. ....	105
РОЛЬ РЕГУЛЯТОРОВ САХАРНОГО МЕТАБОЛИЗМА CRP И EXUR В ТРАНСКРИПЦИИ ГЕНА <i>DPS E. COLI</i> Бессонова Т.А., Швырева У.С., Драпкина Е.С., Гарушанц С.К., Тутукина М.Н., Озолинь О.Н. ....	105
ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ И ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ТЕСТИРОВАНИЯ ДНК-ПОЛИМЕРАЗНОЙ АКТИВНОСТИ НОВОГО ФЕРМЕНТА ЧЕЛОВЕКА ДНК-ПОЛИМЕРАЗЫ И ДНК-ПРАЙМАЗЫ PRIMPOL Болдинова Е.О., Stojkovic G., Wanrooij S., Макарова А.В. ....	106
МОДЕЛИРОВАНИЕ ЭФФЕКТОВ АМИНОКИСЛОТНЫХ ЗАМЕН НА АМИЛОИЛОГЕННЫЕ СВОЙСТВА БЕЛКОВ, А ТАКЖЕ ИХ СТРУКТУРУ Бондарев С.А., Журавлева Г.А., Каява А.В. ....	107
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ МЕТИЛЦИКЛОДЕКСТРИНА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ КАТАБОЛИЗМА СТЕРИНОВ Брагин Е.Ю., Штратникова В.Ю., Щелкунов М.И., Довбня Д.В., Донова М.В. ....	107
НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ТРАНСКРИПЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ <i>PROMОТОРНОГО ОСТРОВКА APPY</i> В ГЕНОМЕ <i>E. COLI</i> Быков А.А., Шавкунов К.С., Озолинь О.Н. ....	108
СОЗДАНИЕ ПРАЙМЕРОВ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ВИРУСОВ БАКТЕРИЙ РОДА <i>VACILLUS</i> Варгас Э., Ульянова В.В., Шах М.Р., Ильинская О.Н. ....	108
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЫ ЭНДОГЛЮКАНАЗЫ 2 МИЦЕЛИАЛЬНОГО ГРИБА <i>PENICILLIUM VERRUCULOSUM</i> Вахрушева А.В., Кравченко О.В., Тищенко С.В., Габдулхаков А.Г., Кляшторный В.Г. ....	109
ПОИСК АССОЦИИРОВАННЫХ С ВЗП ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ Верховский Р.А., Тихомирова Е.В., Глинская Е.В., Зудина И.В. ....	109
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОСВЕЧИВАЮЩЕЙ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ КОНТРОЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ЭКЗОСОМ Внукова А.А., Багров Д.В., Хомякова Е.Б. ....	110
ВИДОСПЕЦИФИЧНОСТЬ И ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ПЛАСТИЧНОСТЬ ПРОТЕОМА В КОМПЛЕКСЕ КРИПТИЧЕСКИХ ВИДОВ Воловик К.Ю., Мальцева А.Л., Гранович А.И., Михайлова Н.А. ....	110
СБОРКА СПЕЙСЕРНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ЯДРЫШКОВОГО ОРГАНИЗАТОРА ПЕРЕПЕЛА ЯПОНСКОГО Володькина В.А., Дёмин А.Г., Галкина С.А. ....	111
ТРАНСКРИПЦИЯ С МНОЖЕСТВЕННЫХ ПРОМОТОРОВ ГЕНА РЕГУЛЯТОРНОГО БЕЛКА UJM НАХОДИТСЯ ПОД КОНТРОЛЕМ H-NS, DPS И САМР-CRP. Гагаринская Д.И., Швырева У.С., Тутукина М.Н., Озолинь О.Н. ....	112
ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОГО ПЕРОКСИРЕДОКСИНА 6 НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ - МАРКЕРОВ СТРЕССА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ Гончаров Р.Г., Шарапов М.Г. ....	112



ФИЛОГЕНИЯ И СИСТЕМАТИКА ЛЕСНОЙ СОНИ <i>DRYOMYS NITEDULA</i> (GLIRIDAE, RODENTIA) РУССКОЙ РАВНИНЫ И КAVKAZA Григорьева О.О. ....	113
АНАЛИЗ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕЖДУ ДРОЖЖЕВЫМИ ПРИОННЫМИ БЕЛКАМИ С РАЗНЫМ УРОВНЕМ ГОМОЛОГИИ Гризель А.В., Рубель А.А., Бондарев С.А., Чернов Ю.О. ....	113
ВЛИЯНИЕ ЗАМЕН QD(33-34)KK В БЕЛКЕ SUP35 НА СТАБИЛЬНОСТЬ ПРИОНА [PSI+] ДРОЖЖЕЙ <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> Данилов Л.Г., Белоусов М.В., Полещук О.И., Бондарев С.А., Журавлёва Г.А. ....	114
ВЛИЯНИЕ N- И C-КОНЦЕВЫХ УЧАСТКОВ ДРОЖЖЕВОГО MTF3 НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ФАКТОРА <i>IN VIVO</i> Дербикова К.С., Кузьменко А.В., Климонтова М.В., Каменский П.А. ....	115
КОАКТИВАТОРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ, РЕМОДЕЛИРУЮЩИЕ ХРОМАТИН, УЧАСТВУЮТ В РАЗЛИЧНЫХ ЭТАПАХ ТРАНСКРИПЦИИ ГЕНА HSP70 <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> Дервянко П.К., Воробьева Н.Е., Мазина М.Ю. ....	115
ЛЕНТИВИРУСНАЯ СИСТЕМА ЭКСПРЕССИИ GFP ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИБЛИОТЕК ГЕНОМНЫХ АКТИВАТОРОВ ТРАНСКРИПЦИИ Дидыч Д.А. ....	116
IGF2BP1 – ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ РЕГУЛЯТОР ЭКСПРЕССИИ УВ-1 Доронин А.Н., Лябин Д.Н., Овчинников Л.П. ....	116
ТРАНСКРИПЦИОННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ГЕНА 1-АМИНОЦИКЛОПРОПАН-1-КАРБОКСИЛАТДЕЗАМИНАЗЫ У <i>METHYLOBACTERIUM RADIOTOLERANS</i> JCM2831 Екимова Г.А., Панкратова К.М., Федоров Д.Н. ....	117
ВЛИЯНИЕ РНК ИНТЕРФЕРЕНЦИИ ГЕНОВ НЕЙРОПЕПТИДОВ НА СКОРОСТЬ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЛАНАРИЙ <i>SCHMIDTEA MEDITERRANEA</i> Крещенко Н.Д., Ермаков А.М., Бондаренко С.М. ....	117
АНАЛИЗ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ВСТАВКИ LIS-1 У РАСТЕНИЙ «ЛОЖНЫХ ТРАНСФОРМАНТОВ» ЛЬНА-ДОЛГУНЦА Железнякова Е.В., Мазур О.Ч. ....	118
ГЕНЕТИЧЕСКОЕ КАРТИРОВАНИЕ СИМБИОТИЧЕСКИХ ГЕНОВ ГОРОХА ( <i>PISUM SATIVUM L.</i> ) ПРИ ПОМОЩИ ГЕН-СПЕЦИФИЧНЫХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ Жернаков А.И., Жуков В.А., Клюкова М.С., Сулима А.С., Крюков А.А., Ахтемова Г.А., Борисов А.Ю., Тихонович И.А. ....	118
ДВЕ ПОЛИМЕРАЗЫ ОДНОГО ФАГА: ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ВРНKP PNIKZ Живкоплас Э.К., Артамонова Т.О., Якунина М.В., Северинов К.В. ....	119
ТРАНСКРИПТОМИКА АЗОТФИКСИРУЮЩИХ КЛУБЕНЬКОВ ГОРОХА ПОСЕВНОГО ( <i>PISUM SATIVUM L.</i> ) Жуков В.А., Жернаков А.И., Кулаева О.А., Борисов А.Ю., Тихонович И.А. ....	119
ВЛИЯНИЕ ДНК-ИНСЕКТИЦИДОВ НА АКТИВНОСТЬ ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ И КОНЦЕНТРАЦИЮ ГЛЮКОЗЫ В ЛИСТЬЯХ <i>QUERCUS ROBUR</i> И ПРОРОСТКАХ <i>MALUS DOMESTICA</i> Зайцев А.С., Ниадар П.М., Оберемок В.В. ....	120

ПОИСК АМИЛОИДОГЕННЫХ БЕЛКОВ ЧЕЛОВЕКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОДЕЛИ ДРОЖЖЕЙ Зелинский А.А., Романова Н.В., Бондарев С.А., Декнер З., Каява А.В., Рубель А.А., Чернов Ю.О.....	120
РНК-ШАПЕРОННАЯ АКТИВНОСТЬ БЕЛКОВ С ДОМЕНОМ ХОЛОДОВОГО ШОКА ИЗ РАСТЕНИЯ <i>EUTREMA SALSUGINEUM</i> Злобин Н.Е., Таранов В.В., Евлаков К.И. ....	121
ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ ФАКТОР FRA1 В РЕГУЛЯЦИИ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ И МИГРАЦИИ КЕРАТИНОЦИТОВ ПРИ ВОСПАЛЕНИИ Золотаренко А.Д., Сорокина К.С., Мезенцев А.В., Брускин С.А. ....	122
JUN - НЕГАТИВНЫЙ РЕГУЛЯТОР NFE2L2 И ЕГО ГЕНОВ-МИШЕНЕЙ CBR3, FTH1, SQSTM1 В КЛЕТКАХ HELA Золотухин П.В., Беланова А.А., Хренкова В.В. ....	122
АНАЛИЗ ГАПЛОТИПОВ ХРОМОСОМЫ 13 С МАЖОРНЫМИ МУТАЦИЯМИ (p.W172C, IVS1+1G>A, c.235delC) ГЕНА GJB2 У КОРЕННОГО НАСЕЛЕНИЯ ЮЖНОЙ СИБИРИ (ТУВИНЦЫ И АЛТАЙЦЫ) Зыцарь М.В., Бады-Хоо М.С., Михальская В.Ю., Бондарь А.А., Морозов И.В., Барашков Н.А., Посух О.Л. ...	123
АННОТИРОВАНИЕ ПОЛНОРАЗМЕРНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ПЛАЗМИДЫ 135K BP BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI 110 Иевлев Р.С., Савченко С.С., Шпак И.М., Леденёва М.Л., Антонов В.А. ....	123
АНАЛИЗ УЧАСТИЯ АТФ- ЗАВИСИМЫХ ФАКТОРОВ СБОРКИ ХРОМАТИНА В РЕПАРАЦИИ ДНК НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ РАЗВИТИЯ ДРОЗОФИЛЫ Ильина Ю.А., Орлянская О.С., Голубев А.М., Конев А.Ю. ....	124
СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕГУЛЯТОРНОГО Р-II ПОДОБНОГО БЕЛКА GLNK ИЗ LACTOBACILLUS BREVIS SUBS. GRAVESENSIS Исхакова З.И., Тарасов Н.В., Каюмов А.Р. ....	125
ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ СЫВОРОТКИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПОСЛЕ ТРАВМАТИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА КРЫСЫ Кадырова Г.А., Масгутова Г.А., Масгутов Р.Ф., Мухаметова Л.Р., Ризванов А.А. ....	125
ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА ЭНДОНУКЛЕАЗЫ СИСТЕМЫ РЕСТРИКЦИИ-МОДИФИКАЦИИ CFR91 НЕГАТИВНО РЕГУЛИРУЕТСЯ ВТОРИЧНОЙ СТРУКТУРОЙ мРНК В ОБЛАСТИ ИНИЦИАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ Казанцева О.А., Нагорных М.О. ....	126
ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ БИНАЗЫ В ОТНОШЕНИИ КЛЕТОК РАКА КИШЕЧНИКА Камалова Я.Н., Зеленихин П.В. ....	126
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АМИЛОИДОВ В ДРОЖЖАХ SACCHAROMYCES CEREVISIAE Качкин Д.В., Рубель А.А., Чернов Ю.О. ....	127
КЛОНИРОВАНИЕ, ЭКСПРЕССИЯ И БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕКОМБИНАТНОЙ ФИТАЗЫ APPA, ПОЛУЧЕННОЙ В ДРОЖЖАХ PICHIA PASTORIS Кириллов С.О., Абельденов С.К., Хасенов Б.Б. ....	127
ГИГАНТСКИЙ ТАНДЕМНЫЙ ПОВТОР ЦЕНТРОМЕРЫ ЛУКОВЫХ Киров И.В. ....	128
ИДЕНТИФИКАЦИЯ СЕМЕЙСТВА ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ NCR-ПЕПТИДЫ, ПРИ ПОМОЩИ ТРАНСКРИПТОМНОГО АНАЛИЗА КЛУБЕНЬКОВ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (PISUM SATIVUM L.) Клюкова М.С., Жернаков А.И., Сулима А.С., Жуков В.А., Тихонович И.А. ....	128

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДЕТЕРМИНАНТ СПЕЦИФИЧНОСТИ УЗНАВАНИЯ МИШЕНЕЙ CRISPR-CAS СИСТЕМАМИ III ТИПА ТЕРМОФИЛЬНОЙ БАКТЕРИИ THERMUS THERMOPHILUS Козаева Е.С., Воронцова Д.В., Северинов К.В.....	129
ДОМИНАНТНО-НЕГАТИВНЫЕ БЕЛКИ ORA1 СНИЖАЮТ АКТИВНОСТЬ ДЕПО-УПРАВЛЯЕМЫХ КАНАЛОВ IMIN В КЛЕТКАХ НЕК293 Колесников Д., Шалыгин А. ....	130
ПОИСК АССОЦИАЦИЙ С МИГРЕНЬЮ КОМПЛЕКСНЫХ ГЕНОТИПОВ ГЕНОВ ACE, BDNF, CCK, CCKAR, CCKBR, CGRP, DBH, MTDH, MTHFR, MTR, NOS1, NOS2, NOS3 Кондратьева Н.С., Анучина А.А., Наумова Е.А., Скоробогатых К.В., Сергеев А.В., Азимова Ю.Э. ....	130
ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ПОПУЛЯЦИЙ НЕМЕЦКОЙ И ВОСТОЧНО-ЕВРОПЕЙСКОЙ ОВЧАРОВ И ОЦЕНКА СЦЕПЛЕНИЯ МАРКЕРОВ С ЭКСТЕРЬЕРНЫМИ ПРИЗНАКАМИ Коптев В.В., Тарасенкова Н.А., Павлова И.Ю., Калашников А.Е. ....	131
ВЛИЯНИЕ ВАРИАНТОВ -308G/A (RS1800629) ГЕНА TNF $\alpha$ И PRO12ALA (RS1801282) ГЕНА PPAR $\gamma$ НА КЛИНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ У ЖЕНЩИН С АБДОМИНАЛЬНЫМ ОЖИРЕНИЕМ С ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ В СЕВЕРО-ЗАПАДНОМ РЕГИОНЕ РОССИИ Копытова А.Э., Усенко Т.С., Мирошникова В.В., Баженова Е.А., Николаев М.А., Пантелеева А.А., Семенова И.А., Неймарк А.Е., Пчелина С.Н. ....	131
СОЗДАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ТКАНЕСПЕЦИФИЧНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ ТЕЛОМЕРНОГО БЕЛКОВОГО КОМПЛЕКСА DROSOPHILA Кордюкова М.Ю., Оловников И.А., Моргунова В.В., Оленкина О.М., Михалева Е.А., Калмыкова А.И. ..	132
ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПОСТ-ТРАСКРИПЦИОННОЙ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ Коринфская С.А., Чмыхало В.К., Макаренко М.С., Беланова А.А., Золотухин П.В., Александрова А.А. ..	133
КОАКТИВАТОРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ, МОДИФИЦИРУЮЩИЕ ХРОМАТИН, УЧАСТВУЮТ В РАЗЛИЧНЫХ ЭТАПАХ ТРАНСКРИПЦИИ ГЕНА HSP70 DROSOPHILA MELANOGASTER Кочерыжкина Е.В., Мазина М.Ю., Воробьева Н.Е. ....	133
ОБРАБОТКА ДИФРАКЦИОННЫХ ДАННЫХ НИЗКОГО РАЗРЕШЕНИЯ ПОЛУЧЕННЫХ ОТ КРИСТАЛЛОВ, ДЕМОНСТРИРУЮЩИХ СОВЕРШЕННЫЙ ТВИННИНГ Кравченко О.В., Архипова В.И., Никонов О.С., Никонов С.В. ....	134
ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ И РЕГУЛЯТОРНЫЕ Т-КЛЕТКИ ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ Кравченко П.Н., Чуров А.В., Олейник Е.К., Олейник В.М., Жулай Г.А., Барышева О.Ю., Марусенко И.М. ....	134
МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА IL1- $\beta$ НА КЛАСТОГЕННЫЕ ЭФФЕКТЫ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ФАКТОРОВ УГОЛЬНЫХ ШАХТ Лесников А.И., Волобаев В.П. ....	135
АНАЛИЗ РЕПРОДУКТИВНЫХ БЕЛКОВ МОЛЛЮСКОВ РОДА LITTORINA Лобов А.А., Мальцева А.Л., Михайлова Н.А., Гранович А.И. ....	135
ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА MIR22 АССОЦИИРОВАН С ПАНИЧЕСКИМ РАССТРОЙСТВОМ И ПСОРИАЗОМ Лунькова А.А., Анучина А.А., Третьяков А.В., Сакания Л.Р. ....	136
ОДИНОЧНЫЕ ЗАМЕНЫ АМИНОКИСЛОТНЫХ ОСТАТКОВ В ЛЮБОМ МЕСТЕ АПОМИОГЛОБИНА НЕ ВЛИЯЮТ НА СТАБИЛЬНОСТЬ ЕГО ПРОМЕЖУТОЧНОГО СОСТОЯНИЯ ТИПА РАСПЛАВЛЕННОЙ ГЛОБУЛЫ Мажорина М.А., Мельник Б.С. ....	136

ИНСУЛЯТОРНЫЙ БЕЛОК SU(HW) НЕОБХОДИМ ДЛЯ АМПЛИФИКАЦИИ ГЕНОВ ХОРИОНА В ХОДЕ ООГЕНЕЗА ДРОЗОФИЛЫ Мазина М.Ю., Воробьева Н.Е. ....	137
ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ ЭМБРИОНОВ КУР С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛЕНТИВИРУСНЫХ ВЕКТОРОВ Меннибаева Э.Р., Фомин И.К., Зиновьева Н.А. ....	137
ВКЛАД МУТАЦИЙ ГЕНОВ OTOF, RAI1 И SLC26A4 В ЭТИОЛОГИЮ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ПОТЕРИ СЛУХА НА АЛТАЕ И В ТУВЕ Михальская В.Ю., Бады-Хоо М.С., Зыцарь М.В., Бондарь А.А., Морозов И.В., Посух О.Л. ....	138
ПРОТЕОМНЫЙ АНАЛИЗ МЕХАНИЗМОВ СОЛЕННОСТНОЙ АДАПТАЦИИ МОРСКИХ ГАСТРОПОД РОДА LITTORINA Мураева О.А., Мальцева А.Л., Михайлова Н.А., Гранович А.И. ....	138
АПОПТОЗИНДУЦИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ ХИТОЗАНА В ОТНОШЕНИИ МАЛИГНИЗИРОВАННОГО ЭПИТЕЛИЯ ЛЕГКИХ Муртазина Р.Р., Зеленихин П.В. ....	139
ОЧИСТКА БЕЛКА GLNR ИЗ LACTOBACILLUS PLANTARUM 8РАЗ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ КОМПЛЕКСА SHIP-МЕТОДОМ Неустроева О.А., Каюмов А.Р. ....	140
МЕТОДИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ВЫЯВЛЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К СИНДРОМУ ЭПИЗОДИЧЕСКОГО ПАДЕНИЯ У КАВАЛЕР КИНГ ЧАРЛЬЗ СПАНИЕЛЕЙ Носова А.Ю., Зайцева О.И., Сидоренко Е.В. ....	140
ДЕЙСТВИЕ ИОНОВ AG(I) НА E. COLI, СИНТЕЗИРУЮЩИЕ БЕЛОК GST-NDCTR1, И ЕГО ХЕЛАТИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА Орлов Ю.А., Санькова Т.П. ....	141
БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНА ОВЕЧЬЕГО ИНТЕРФЕРОНА-A Острикова К.В., Голенченко С.Г., Потапович М.И., Прокулевич В.А. ....	141
ПРОФИЛЬ МЕТИЛИРОВАНИЯ 10 ГЕНОВ МИКРО-РНК ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ Переяслова Е.А., Пронина И.В., Хоконова В.В., Бурденный А.М., Логинов В.И. ....	142
КЛОНИРОВАНИЕ ГЕНА, КОДИРУЮЩЕГО БЫЧИЙ ГРАНУЛОЦИТАРНО-МАКРОФАГАЛЬНЫЙ КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩИЙ ФАКТОР-2 Пермякова В.И., Потапович М.И., Прокулевич В.А. ....	142
ВЛИЯНИЕ МУТАЦИЙ В КОР-ФЕРМЕНТЕ И $\sigma$ -СУБЪЕДИНИЦЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ НА СКОРОСТЬ УХОДА С ПРОМОТОРА Петушков И.В., Пупов Д.В., Кульбачинский А.В. ....	143
ДИЗАЙН НОВЫХ ВАРИАНТОВ ПРИОНА [PSI+] Полещук О.И., Бондарев С.А., Лихолетова Д.В., Журавлева Г.А. ....	143
ИЗУЧЕНИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ PRRX1, RAV3B И HKDC1 В ТКАНЯХ ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНОЙ КАРЦИНОМЫ ЧЕЛОВЕКА Полуконова А.В., Чесноков М.С., Лазаревич Н.Л. ....	144
СОЗДАНИЕ КЛЕТОЧНОЙ МОДЕЛИ ВОСПАЛЕНИЯ, ОБУСЛОВЛЕННОГО МУТАЦИЯМИ В ГЕНЕ CARD14 Преловская А.Н., Золотаренко А.Д., Брускин С.А. ....	144

ИСКУССТВЕННЫЙ СИНТЕЗ РАКОВО-ТЕСТИКУЛЯРНОГО ГЕНА NY-ESO -1 И ЕГО КЛОНИРОВАНИЕ В ЭКСПРЕССИРУЮЩИЙ ВЕКТОР. Пушкова Е.Н., Финашутин Ю.П., Мисюрин А.В.....	145
ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ ПАРАОКСОНАЗЫ 1(PON1) У РАБОТНИКОВ ПРЕДПРИЯТИЙ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИХ ХРАНЕНИЕ И УТИЛИЗАЦИЮ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ ХИМИКАТОВ Разгильдина Н.Д., Мирошникова В.В., Пантелеева А.А., Фомичев А.В., Малышева Е.В., Пчелина С.Н. ....	146
СОЗДАНИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОЛИПЛОИДНЫХ ФОРМ ХМЕЛЯ ЯПОНСКОГО (HUMULUS JAPONICUS SIEBOLD & ZUCC) Разумова О.В., Александров О.С., Киров И.В. ....	146
ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА РЕКОМБИНАНТНОГО АНТИМЮЛЛЕРОВА ГОРМОНА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ Рак А.Я., Петров А.В., Ищенко А.М. ....	147
ХАРАКТЕРИСТИКА АПОПТОЗИНДУЦИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ РИБОНУКЛЕАЗЫ BACILLUS PUMILUS В ОТНОШЕНИИ КЛЕТОК ЭПИТЕЛИЯ ПОЧЕК Сабирова М.И., Зеленихин П.В. ....	147
СВЕТОВАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ SDH3 И SDH4 СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ЛИСТЬЯХ КУКУРУЗЫ ПОД ДЕЙСТВИЕМ КРАСНОГО СВЕТА Селиванова Н.В., Федорин Д.Н., Лаптева А.А., Зенищева М.А., Лопырева Г.Б.....	148
ЯВЛЕНИЕ ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ЗАВЕРШЁННОГО ПОЛИПЕПТИДА ИЗ ТРАНСЛИРУЮЩИХ РИБОСОМ ПРИ ДОБАВЛЕНИИ СВОБОДНОЙ ТРАНСЛЯЦИОННО-АКТИВНОЙ МАТРИЧНОЙ РНК НЕ ЗАВИСИТ ОТ СПОСОБА ИНИЦИАЦИИ МАТРИЦЫ Селиханов Г.К., Согорин Е.А., Агаларов С.Ч., Спиринов А.С. ....	148
ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НУКЛЕОТИДНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ГЕНА ДАГФ-СИНТАЗЫ II ТИПА Семашко А.И., Веремеенко Е.Г., Максимова Н.П. ....	149
ЭКСПРЕССИЯ ЯДЕРНЫХ РЕЦЕПТОРОВ LXR $\alpha$ И LXR $\beta$ В ЖИРОВОЙ ТКАНИ Семенова И.А., Мирошникова В.В., Пантелеева А.А., Беркович О.А., Баженова Е.А., Баранова Е.И., Пчелина С.Н. ....	149
ТРАНСКРИПЦИОННАЯ СТРАТЕГИЯ БАКТЕРИОФАГА AR9, КОДИРУЮЩЕГО НЕКАНОНИЧЕСКИЕ МУЛЬТИСУБЪЕДИНИЧНЫЕ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ Слащева М.И., Соколова М.Л. ....	150
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНА RHO5 ДРОЖЖЕЙ SACCHAROMYCES CEREVISIAE ДЛЯ МОДИФИКАЦИИ МЕТОДА ВЫЯВЛЕНИЯ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ TP53 ЧЕЛОВЕКА Слепченков А.В., Румянцев А.М., Самбук Е.В., Падкина М.В. ....	151
РОЛЬ ПЕПТИДОГЛИКАН-РАСПОЗНАЮЩЕГО БЕЛКА TAG-7/PGLYRP-1 ВО ВЗАИМОДЕЙСТВИИ КОМПОНЕНТОВ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА С БАКТЕРИЯМИ Слонова Д.А., Посвятенко А.В., Сысолятина Е.В., Еромолаева С.А., Кибардин А.В., Гнучев Н.В., Георгиев Г.П., Ларин С.С.....	151
ВЗАИМОПРЕВРАЩЕНИЕ ЦИТОХРОМОВ P450 СЕМЕЙСТВА CYP74 В РЕЗУЛЬТАТЕ САЙТ-НАПРАВЛЕННОГО МУТАГЕНЕЗА Смирнова Е.О., Топоркова Я.Ю., Мухтарова Л.Ш., Гоголев Ю.В. ....	152

ПРЕДПОЛАГАЕМАЯ МУРЕИН-ТЕТРАПЕПТИД L,D-КАРБОКСИПЕПТИДАЗА НЕОБХОДИМА ДЛЯ ФОРМИРОВАНИЯ СЕПТЫ У <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i> Смирнова Н.В., Варфоломеев А.Ф., Юров Д.С., Диденко Л.В., Ермолаева С.А. ....	152
СЕМЕЙСТВО ГЕНОВ МУС ЗЛАКОВЫХ РАСТЕНИЙ: ПРЕОБРАЗОВАНИЯ В ХОДЕ ЭВОЛЮЦИИ РОДОВ <i>TRITICUM</i> И <i>AEGILOPS</i> Стрыгина К.В., Хлесткина Е.К. ....	153
ПОЛУЧЕНИЕ И ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МУТАНТОВ ГОРОХА ПОСЕВНОГО ПО ГЕНУ РЕЦЕПТОРНОЙ КИНАЗЫ <i>LYKX</i> Сулима А.С., Жуков В.А., Борисов А.Ю., Тихонович И.А. ....	153
ТРАНСКРИПЦИЯ ГЕНА <i>ORPV</i> ОПЕРОНА <i>ORPABCDF</i> МОЖЕТ НАЧИНАТЬСЯ В МЕЖГЕННОЙ ОБЛАСТИ <i>ORPA/ORPV</i> И ЗАВИСЕТЬ ОТ <i>H-NS</i> Сухаричева Н.А., Озолинь О.Н., Тутукина М.Н., Масулис И.С. ....	154
АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПОДРАЗДЕЛЕННОСТИ ПОПУЛЯЦИЙ ГРУППЫ КРИПТИЧЕСКИХ ВИДОВ РОДА <i>LITTORINA</i> С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ AFLP-ПОДХОДА Тиканова П.О., Мальцева А.Л., Михайлова Н.А., Гранович А.И. ....	155
СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ БЕЛКОВ ЛИЧИНОК <i>TENEBRIO MOLITOR</i> ПРИ ХОЛОДОВОЙ АККЛИМАЦИИ Третьяк Д.В., Гулевский А.К. ....	155
ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА ДЕТЕКЦИИ МИКРО-РНК В КАЧЕСТВЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО СПОСОБА ДИАГНОСТИКИ ЦЕРЕБРАЛЬНЫХ ГЛИОМ Трифонов Г.Р. ....	156
ВЛИЯНИЕ МУТАЦИЙ <i>SUP35</i> НА СВОЙСТВА ПРИОНА [PSI <sup>+</sup> ] У ДРОЖЖЕЙ <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> Трубицина Н.П., Землянко О.М., Бондарев С.А., Журавлева Г.А. ....	156
КЛОНИРОВАНИЕ ГЕНА АП-ЭНДОНУКЛЕАЗЫ IV <i>STARHYLOCOCUS AUREUS</i> Тургимбаева А.М., Сапарбаев М.К., Раманкулов Е.М., Хасенов Б.Б. ....	157
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕЧЕСКОЙ ГЛИОМЫ КАК МОДЕЛИ ДЛЯ ТЕСТИРОВАНИЯ ВИРУСНЫХ КОНСТРУКТОВ Тутукова С.А., Пономарева Н.В., Лебедева А.В., Бабаев А.А., Епифанова Е.А. ....	157
ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ N-КОНЦЕВОГО УЧАСТКА БЕЛКА L27 В ПОДДЕРЖАНИИ АКТИВНОГО СОСТОЯНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОЙ РИБОСОМЫ <i>IN VIVO</i> Фандо М.С., Коробейникова А.В., Гарбер М.Б., Гонгадзе Г.М. ....	158
ГЕТЕРОЛОГИЧНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ДЕГРАДАЦИИ САЛИЦИЛАТА В КЛЕТКАХ <i>E. COLI</i> Филатова И.Ю., Захарова М.В. ....	159
НОВАЯ ЭКСПРЕССИОННАЯ СИСТЕМА НА ОСНОВЕ ОПТИМИЗИРОВАННОГО ГЕНА ФИТАЗЫ <i>PANTOEA AGGLOMERANS</i> Хабипова Н.Н., Валеева Л.Р., Частухина И.Б., Шарипова М.Р. ....	159
ПЕРСПЕКТИВА ИЗУЧЕНИЯ ГЕНОВ ЭКСЦИЗИОННОЙ РЕПАРАЦИИ ОСНОВАНИЙ ДНК И ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ПОВРЕЖДЕНИЙ ЯДЕРНОЙ И МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК В СВЯЗИ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ПРИВЫЧНОГО НЕВЫНАШИВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ Хаджиева М.Б., Володин И.В. ....	160
ГЕН ГОРОХА <i>SUM36</i> , НЕОБХОДИМЫЙ ДЛЯ РАЗВИТИЯ АРБУСКУЛ И ПРОНИКНОВЕНИЯ АРБУСКУЛЯРНО-МИКОРИЗНЫХ ГРИБОВ И КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ В ЭПИДЕРМИС, – ПРЕДПОЛАГАЕМЫЙ ОРТОЛОГ	

ГЕНА VAPYRIN Хайруллина М.М., Штарк О.Ю., Федорина Я.В., Сулима А.С., Афонин А.М., Тихонович И.А. ....	160
ОДИНОЧНАЯ ЗАМЕНА В СТРУКТУРЕ FLAP-ЭНДОНУКЛЕАЗЫ ПОВЫШАЕТ ЕЁ ЭКЗОНУКЛЕАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ Холод Н.С., Сивогризов Д.Е., Латыпов О.Р., Майоров С.Г., Кузницын Р.А., Каява А.В., Шляпников М.Г., Грановский И.Э. ....	161
ИЗУЧЕНИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ СТРОЕНИЯ ПАРВАЛЬБУМИНОВ, ОБУСЛАВЛИВАЮЩИХ СТРУКТУРНУЮ СТАБИЛЬНОСТЬ ИХ АПО-ФОРМ Вологжанникова А.А., Хорн П.А., Казаков А.С., Соколов А.С., Пермьяков Е.А., Пермьяков С.Е. ....	162
ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ ПОДАВЛЕНИЯ РЕПЛИКАЦИИ ГУАНИН-БОГАТЫМИ ОЛИГОНУКЛЕОТИДАМИ Христоч А.Н., Зенков Р.Г., Оглоблина А.М., Якубовская М.Г. ....	162
ВЛИЯНИЕ ПРОТЕИНАЗЫ HTRA НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ КЛЕТОК BACILLUS SUBTILIS В УСЛОВИЯХ ТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕССА И В СОСТАВЕ БИОПЛЕНКИ Чернова Л.С., Шигапова З.Р., Рыжикова М.Н., Шарафутдинов И.С., Каюмов А.Р. ....	163
ТИОРЕДОКСИН-ДОМЕННЫЕ БЕЛКИ КАК ОДИН ИЗ ФАКТОРОВ МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ ОПУХОЛЕЙ Чмыхало В.К., Коринфская С.А., Макаренко М.С., Беланова А.А., Золотухин П.В., Александрова А.А. ..	163
ВЫЯВЛЕНИЕ БЕЛКОВ, ФОРМИРУЮЩИХ ДЕТЕРГЕНТ-УСТОЙЧИВЫЕ АГРЕГАТЫ В ТКАНЯХ МОЗГА КРЫСЫ (RATTUS NORVEGICUS) Шенфельд А.А., Рыжова Т.А., Кибарина М.Е., Сопова Ю.В., Галкин А.П. ....	164
ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ СВОЙСТВА И СОСТАВ ФЛУОРОФОРОВ ЛИПОФУСЦИНОВЫХ ГРАНУЛ РЕТИНАЛЬНОГО ПИГМЕНТНОГО ЭПИТЕЛИЯ КАДАВЕРНЫХ ГЛАЗ ЧЕЛОВЕКА В НОРМЕ И В СЛУЧАЕ ВИЗУАЛИЗИРУЕМОЙ ПАТОЛОГИИ Яковлева М.А., Арбуханова П.М., Фельдман Т.Б., Борзенко С.А., Островский М.А. ....	165
ДЕГИДРАТАЦИЯ БЕЛКОВЫХ МОЛЕКУЛ ЦИТОСКЕЛЕТА - МЕХАНИЗМ ПРЕВРАЩЕНИЯ ТЕПЛОВОЙ ЭНЕРГИИ ГИДРОЛИЗА АТФ В МЕХАНИЧЕСКУЮ ЭНЕРГИЮ КЛЕТОЧНЫХ ПУЛЬСАЦИЙ И ДРУГИХ ДВИГАТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ Яшкичев В.И. ....	165
<b>СЕКЦИЯ «БИОХИМИЯ».....</b>	<b>166</b>
IRIS CALLUS EXTRACT IN THE TREATMENT OF ALLERGIC CONTACT DERMATITIS: EFFECT OF ANTIOXIDANT ACTIVITY Gotina K.A., Korik E.O. ....	166
INTRANEURONAL AMYLOID-BETA, ZINC, AND DISTURBANCE OF GENE EXPRESSION – IS THERE A LINK? Khmeleva S.A., Radko S.P. ....	166
THE CHANGE OF ARGINASE ACTIVITY IN THE SERUM OF PATIENTS DIAGNOSED WITH BREAST CANCER Sargsyan M.S., Avtandilyan N.V., Karapetyan S.A. ....	167
ВЛИЯНИЕ КРАТКОВРЕМЕННОГО ХОЛОДОВОГО СТРЕССА НА УРОВЕНЬ ОКСИДА АЗОТА В СУПЕРНАТАНТАХ ИНТАКТНЫХ НЕЙТРОФИЛОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БЕЛЫХ КРЫС Аббаров Р.А., Багданурова А.Р., Князева О.А. ....	167

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ СОЛЮБИЛИЗАЦИИ МЕМБРАНОСВЯЗАННОЙ МЕТАНГИДРОКСИЛАЗЫ ИЗ METHYLOCOCCUS CAPSULATUS (ШТАММ М) Авдеева Л.В., Гвоздев Р.И. ....	168
ВЛИЯНИЕ НЕДОСТАТКА ТИАМИНА НА МЕТАБОЛИЗМ ПИРОВИНОГРАДНОЙ КИСЛОТЫ У ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ КОРОВ Агафонова А.В. ....	168
ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ ЦИСПЛАТИНА НА АКТИВНОСТЬ ПОЛИ(АДФ-РИБОЗО)ПОЛИМЕРАЗЫ 1 В ЯДРАХ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ КРЫС Асатрян А.Л., Арцруни И.Г., Матинян К.С., Геворкян Э.С. ....	169
N-АЦИЛДОФАМИНЫ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ПРЕПАРАТЫ Ашба А.М. ....	169
ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ АГОНИСТОВ РЕЦЕПТОРА ЛЮТЕИНИЗИРУЮЩЕГО ГОРМОНА <i>IN VITRO</i> И <i>IN VIVO</i> Бахтюков А.А., Деркач К.В., Шпаков А.О. ....	170
АКТИВНОСТЬ ДЕТОКСИКАЦИОННОЙ СИСТЕМЫ ПЕЧЕНИ ПРИ БИСФЕНОЛ-ИНДУЦИРУЕМОЙ ГЕПАТОТОКСИЧНОСТИ В УСЛОВИЯХ РАЗЛИЧНОЙ ОБЕСПЕЧЕННОСТИ РЕТИНОИДАМИ Борщовецкая В.Л., Петрив П.Н., Бойчук О.М., Шмариков И.А. ....	170
БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СТАБИЛЬНОГО ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНОГО БЕЛКОВОГО КОМПЛЕКСА ПЛАЦЕНТЫ ЧЕЛОВЕКА Буркова Е.Е. ....	171
ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЛИПИДНОГО ПРОФИЛЯ У БОЛЬНЫХ ГЛПС Валиуллина А.Х., Мартынова Е.В., Хайбуллина С.Ф., Ризванов А.А. ....	171
ОСОБЕННОСТИ ЭНЕРГОЗАВИСИМОГО ТРАНСПОРТА ИОНОВ КАЛИЯ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ И СЕРДЦА ГОЛУБЕЙ И ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС Ведерников А.А., Дубинин М.В., Хорошавина Е.И., Смирнова А.Е., Рыбакова А.Н., Самарцев В.Н. ....	172
ДОЛГОСРОЧНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ГИППОКАМПА И НЕОКОРТЕКСА КРЫС В МОДЕЛЯХ ПОВРЕЖДАЮЩЕЙ И АДАПТИВНОЙ ГИПОКСИИ Ветровой О.В., Сариева К.В. ....	172
РОЛЬ ГЛЮКОКОРТИКОИДНОГО ОТВЕТА МАТЕРИ В ПАТОГЕНЕЗЕ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ Ветровой О.В., Сариева К.В., Киселева Л.В. ....	173
ИЗУЧЕНИЕ РЕГУЛЯТОРНЫХ СВОЙСТВ ИЗОФОРМ МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ИЗ МЕЗОФИЛЛА ЛИСТЬЕВ КУКУРУЗЫ Гатауллина М.О., Лященко М.С., Степанова А.В. ....	173
ИЗМЕНЕНИЕ АРГИНАЗНОЙ АКТИВНОСТИ И КОЛИЧЕСТВА ПОЛИАМИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЯХ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ Геворгян Э.Р., Автандилян Н.В., Карапетян С.А. ....	174
ВЛИЯНИЕ $\omega$ -3 ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ НА ПАРАМЕТРЫ РОСТА КАРЦИНОМЫ ГЕРЕНА В ОРГАНИЗМЕ И ЛИПИДНЫЙ СПЕКТР КРОВИ КРЫС-ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЕЙ Григоряк М.Д., Жмурская О.А., Кеца О.В. ....	174



ПРОДУКТЫ $\omega$ -ОКИСЛЕНИЯ ЖИРНЫХ КИСЛОТ КАК ИНДУКТОРЫ СВОБОДНОГО ОКИСЛЕНИЯ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ Дубинин М.В., Танерова Е.А., Самарцев В.Н. ....	175
ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ БИМЕТАЛЛИЧЕСКИХ НАНОЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ ЗОЛОТА И СЕРЕБРА Жищинская Н.В., Борщовецкая В.Л., Шмараков И.А. ....	175
ЗАВИСИМОСТЬ ТЕНЗИОМЕТРИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ МОЛОКА ОТ ПРОЦЕНТНОГО СОДЕРЖАНИЯ ЖИРА И БЕЛКА Зарудная Е.Н., Зайцев С.Ю. ....	176
СОДЕРЖАНИЕ ДИОКСИНОВ И ДИОКСИНОПОДОБНЫХ ВЕЩЕСТВ В ПЕЧЕНИ И МОЛОКЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА Зарудная Е.Н., Прокушина К.С. ....	177
ДИНАМИКА МЕТИЛИРОВАНИЯ ПРОМОТОРА ГЕНА SDH2-2 СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ЩИТКАХ ПРИ ПРОРАСТАНИИ СЕМЯН КУКУРУЗЫ Зенищева М.А., Покусина Т.А., Селиванова Н.В., Федорин Д.Н., Епринцев А.Т. ....	177
ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ ГИДРОКСИАПАТИТА ИЗ КОСТНОЙ ТКАНИ ПТИЦ Зубкова Ю.В. ....	178
УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ БЕЛКОВ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ МЕДИ В ПЕЧЕНИ И КЛЕТКАХ ПОДКОЖНОГО ЖИРА КРЫС, ДЛИТЕЛЬНОЕ ВРЕМЯ ПОЛУЧАВШИХ С КОРМОМ ХЛОРИД СЕРЕБРА Канаш Л.А. ....	178
МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА К ЭКЗОПОЛИСАХАРИДУ <i>LYSOBACTER SP.XL1</i> Каратовская А.П., Руденко Н.В., Цфасман И.М., Ламан А.Г., Бровко Ф.А., Васильева Н.В. ....	179
ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ БЕЛКОВ ПРОМЕЖУТОЧНЫХ ФИЛАМЕНТОВ НА АТФ-ЗАВИСИМЫЙ ТРАНСПОРТ ИОНОВ $K^+$ И ПАРАМЕТРЫ ДЫХАНИЯ И ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС Коробейникова М.О., Горбачева О.С., Валуев Т., Хмиль Н.В., Минин А.А., Миронова Г.Д. ....	180
ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКАЯ СИСТЕМА НА ОСНОВЕ ЦИТОХРОМА P450 17A1 ДЛЯ СКРИНИНГА ИНГИБИТОРНОЙ АКТИВНОСТИ И ПОИСКА ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА ПРОСТАТЫ Кузиков А.В., Масамрех Р.А., Шумянцева В.В., Мишарин А.Ю., Арчаков А.И. ....	180
ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ NAD-НЕЗАВИСИМОЙ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ У НЕСЕРНОЙ ПУРПУРНОЙ БАКТЕРИИ <i>RHODOVULUM STERRENSE</i> ШТАММ A-20S ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПАХ ПИТАНИЯ Ларченков В.М., Целуйко Ж.А., Ковалёва Е.В., Миткевич А.В., Сорокина Т.В. ....	181
ПОДБОР УСЛОВИЙ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ПРОТЕИНАЗ C1r и C1s ИЗ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА Леонова Т.С., Умнякова Е.С. ....	181
УСТАНОВЛЕНИЕ СВЯЗИ МЕЖДУ ИЗМЕНЕНИЕМ ЭКСПРЕССИИ ПАРВАЛЬБУМИНА И ПРОДУКЦИЕЙ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В НЕЙРОНАХ Майоров С.А., Авхачева Н.В., Софин А.С., Пермяков С.Е., Пермяков Е.А. ....	182
ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РОЛИ ИЗОФЕРМЕНТОВ ЦИТОХРОМА P450 <i>SORANGIUM CELLULOSUM SO CE56</i> ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ Масамрех Р.А., Кузиков А.В., Шумянцева В.В., Хатри Й., Бернхардт Р., Арчаков А.И. ....	182
ИЗУЧЕНИЕ ЗАЩИТНЫХ СВОЙСТВ ГЛЮКУРАЛА ПРИ ПОВРЕЖДЕНИИ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ Матейкович П.А., Морозов В.И. ....	183

РАЗРАБОТКА СЕРИИ НОВЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПРОДУКТОВ НА ПРОТЕИНОВОЙ ОСНОВЕ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ Махортова Н.В., Винокуров А.Ю.....	184
АУТОАНТИТЕЛА К ПЛАЗМИНОГЕНУ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У МЫШЕЙ ЛИНИИ BALB/C Моисеева Н.В., Тихонова Н.Б., Гоуфман Е.И., Алексанкин А.П., Зарудная Е.Н. ....	184
РОЛЬ ЦИТОХРОМ b5 РЕДУКТАЗЫ В АКТИВАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ Никифорова А.Б., Куприянова Е.С., Круглов А.Г.....	185
СИСТЕМА ГЕМОГЛОБИНА И МЕМБРАНА ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ГИПЕРГЛИКЕМИИ <i>IN VITRO</i> Пестрякова А.А., Панарина А.А., Садыхова А.В., Кленова Н.А., Лебедева Е.А. ....	185
ПОРФИРИНАТЫ ПЕРЕХОДНЫХ МЕТАЛЛОВ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ЦИТОСТАТИКИ Пылина Я.И., Велегжанинов И.О., Шадрин Д.М., Шевченко О.Г., Худяева И.С., Белых Д.В. ....	186
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕТОДОВ ПРИГОТОВЛЕНИЯ МОНОМЕРОВ БЕТА-АМИЛОИДНОГО ПЕПТИДА Ромашова Ю.А., Хмелёва С.А., Радько С.П., Супрун Е.В. ....	186
РАСПРЕДЕЛЕНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА В ОТДЕЛАХ МОЗГА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБАХ ВВЕДЕНИЯ Скоморохова Е.А.....	187
ГЕН РИБОНУКЛЕАЗЫ <i>VACILLUS LICHENIFORMIS</i> И ЕГО БЕЛКОВЫЙ ПРОДУКТ Сокурченко Ю.В., Надырова А.И., Ульянова В.В., Ильинская О.Н. ....	187
ВЛИЯНИЕ ГЛЮКОКИНАЗЫ НА НАКОПЛЕНИЕ ЗАПАСНЫХ УГЛЕВОДОВ У <i>METHYLOMICROBIUM ALCALIPHILUM 20Z</i> Солнцева Н.П., Мустахимов И.И., Хмеленина В.Н., Розова О.Н., Троценко Ю.А.....	188
ВЛИЯНИЕ СФИНГОЗИНА НА СТИМУЛЯЦИЮ ДЫХАНИЯ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ ПРОДУКТАМИ $\omega$ - ОКИСЛЕНИЯ ЖИРНЫХ КИСЛОТ Степанова А.Е., Дубинин М.В., Самарцев В.Н. ....	188
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ИОНОВ СВИНЦА И МОЛЕКУЛ ПАВ НА ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ <i>SERATOPHILLUM DEMERSIUM</i> , С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА ПАМ- ФЛУОРИМЕТРИИ Степанова В.А., Шаповалова А.С., Шаланов В.В., Порочкин А.В.....	189
БИОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ СЕРОСОДЕРЖАЩИХ 3,5-ДИНИТРО-6-R-1,2,3,4-ТЕТРАГИДРОПИРИДИНОВ НА ПРОРОСТКИ ОВСА ПОСЕВНОГО <i>AVENA SATIVA L</i> Сурова И.И., Курочкина С.И., Атрощенко Ю.М.....	189
ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА ЦЕРУЛОПЛАЗМИНА (ЦП) В КЛЕТКАХ ЖИРОВОЙ ТКАНИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ДЕФИЦИТЕ ПЕЧЕНОЧНОГО ХОЛО-ЦП Суханова А.С.....	190
ДЛИТЕЛЬНАЯ ОБРАБОТКА КРЫС С НЕОНАТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-ГО ТИПА ИНТРАНАЗАЛЬНО ВВОДИМЫМИ ИНСУЛИНОМ И СЕРОТОНИНОМ ВОССТАНАВЛИВАЕТ АКТИВНОСТЬ ГИПОТАЛАМИЧЕСКИХ СИГНАЛЬНЫХ СИСТЕМ И МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ Сухов И.Б., Деркач К.В., Чистякова О.В., Шпаков А.О. ....	191
ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ СИСТЕМЫ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА У НАЗЕМНЫХ МИКРОСПОРИДИЙ Тимофеев С.А., Сендерский И.В., Царев А.А., Игнатъева А.Н., Долгих В.В. ....	191

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ЛИПИДОВ ВНУТРЕННЕЙ МЕМБРАНЫ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ИСКУССТВЕННОМ ГИПОБИОЗЕ Уманская А.А., Мельничук Д.А. ...	192
ЗАВИСИМОСТЬ АКТИВНОСТИ $\delta$ -АЛАД ОТ СОДЕРЖАНИЯ СВИНЦА В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ОВЕЦ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ Фролова Н.А., Кобялко В.О., Мирзоев Э.Б., Полякова И.В., Губина О.А. ....	192
АКТИВНОСТЬ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ИНТАКТНЫХ МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ГИПОТЕРМИИ Хизриева С.И., Гаджимусаева П.Н. ....	193
РЕКОМБИНАНТНЫЕ МИНИ-АНТИТЕЛА КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ БЕЛКОВ, ВОВЛЕЧЕННЫХ ВО ВЗАИМООТНОШЕНИЯ МИКРОСПОРИДИИ <i>PARANOSEMA LOCUSTA</i> С ЗАРАЖЕННОЙ КЛЕТКОЙ ХОЗЯИНА Царев А.А., Тимофеев С.А., Сендерский И.В., Долгих В.В. ....	193
ПРОИЗВОДНЫЕ ХЛОРОФИЛЛА А С ФРАГМЕНТАМИ ОЛИГОЭТИЛЕНГЛИКОЛЕЙ НА ПЕРИФЕРИИ МАКРОЦИКЛА КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ФС ДЛЯ ФДТ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ Шадрин Д.М., Пылина Я.И., Велегжанинов И.О., Шевченко О.Г., Старцева О.М., Белых Д.В. ....	194
ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ИОНОВ СВИНЦА И ФОСФАТ-АНИОНА НА КОНФОРМАЦИЮ КАРОТИНОИДОВ ТКАНЕЙ ВЫСШЕГО ВОДНОГО РАСТЕНИЯ <i>CERATOPHYLLUM DEMERSUM L</i> И <i>ELODEA CANADENSIS MICHX</i> МЕТОДОМ СПЕКТРОСКОПИИ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ СВЕТА Шаповалова А.С., Порочкин А.В., Шаланов В.А., Степанова В.А. ....	194
НОВАЯ ФОСФОНАТАЗА У ШТАММА-ДЕСТРУКТОРА ГЛИФОСАТА <i>ACHROMOBACTER SP.</i> KG 16 Эпиктетов Д.О., Свиридов А.В., Леонтьевский А.А. ....	195
<b>СЕКЦИЯ «ПОЧВОВЕДЕНИЕ И АГРОЭКОЛОГИЯ» .....</b>	<b>196</b>
МИНЕРАЛИЗАЦИЯ ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА СОВРЕМЕННЫХ И ПОГРЕБЕННЫХ КАШТАНОВЫХ ПОЧВ СУХОСТЕПНОЙ ЗОНЫ ПРИ РАЗНОМ УВЛАЖНЕНИИ Алексеев А.М., Ходжаева А.К. ....	196
К ВОПРОСУ О ПОСТАГРОГЕННОМ РАЗВИТИИ СЕРЫХ ЛЕСНЫХ ПОЧВ Баева Ю.И. ....	196
АГРОЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЗЕМЕЛЬ РИСОВЫХ МЕЛИОРАТИВНЫХ АГРОЛАНДШАФТОВ Гергель И.А. ....	197
КОМПЛЕКС МИКРОМИЦЕТОВ ЦЕЛИННОГО ЧЕРНОЗЕМА ВЫЩЕЛОЧЕННОГО Гулиева Д.З. ....	197
ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСКУССТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ГУМУСОВЫХ ВЕЩЕСТВ Доморацкая Д.А. ....	198
ВЛИЯНИЕ МИКРОКЛИМАТИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ НА МЕХАНИЗМЫ ЗАТРАВОЧНОГО ЭФФЕКТА В СОВРЕМЕННЫХ И ПОГРЕБЕННЫХ СЕРЫХ ЛЕСНЫХ ПОЧВАХ Журавлева А.И. ....	199
ВЛИЯНИЕ НАТУРАЛЬНЫХ СОРБЕНТОВ НА ФИЗИЧЕСКИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СЕРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВЫ, ЗАГРЯЗНЕННОЙ НЕФТЬЮ Зиннатшина Л.В. ....	199

ФОСФАТАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ КУЛЬТУРНЫХ СЛОЕВ АРХЕОЛОГИЧЕСКИХ ПАМЯТНИКОВ КАК ИНДИКАТОР ИХ СОСТОЯНИЯ Каширская Н.Н., Борисов А.В. ....	200
СТРУКТУРА ЦЕЛЛЮЛОЗОЛИТИЧЕСКОГО МИКРОБНОГО ПУЛА ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЫ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ КРЕМНИЙСОДЕРЖАЩИХ ПОРОД Козлов А.В. ....	200
ВЛИЯНИЕ МНОГОЛЕТНИХ ТРАВ НА АГРОЭКОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ СЕРЫХ ЛЕСНЫХ ПОЧВ В УСЛОВИЯХ ПРЕДКАМЬЯ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН Кольцова Т.Г., Андреева А.А., Сунгатуллина Л.М. ....	201
ВОЗДЕЙСТВИЕ МОДЕЛИРУЕМЫХ УСЛОВИЙ МАРСА НА СТРУКТУРУ СООБЩЕСТВ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ ПУСТЫННЫХ ПОЧВ Крючкова М.О. ....	202
ТЕМПЕРАТУРНАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ АКТИВНОСТИ ГИДРОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ В СОВРЕМЕННЫХ И ПОГРЕБЕННЫХ ПОЧВАХ Кузнецова И.Н. ....	202
ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРЫ ПОЧВЕННОГО ПОКРОВА ВОСТОКА ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ Лазарева М.А. ....	203
АНТАРКТИЧЕСКОЕ ПОЧВОВЕДЕНИЕ: ПРОБЛЕМЫ, ДОСТИЖЕНИЯ, ПЕРСПЕКТИВЫ Лупачев А.В. ....	203
ПОЧВЫ АРХЕОЛОГИЧЕСКОГО ПОСЕЛЕНИЯ «КАЛМЫКОВКА» ЛЕСОСТЕПНОЙ ЗОНЫ САМАРСКОГО ПОВОЛЖЬЯ Овчинников А.Ю. ....	204
ПРИМЕНЕНИЕ ГЕОИНФОРМАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ ДЕГРАДАЦИИ И НЕИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЗЕМЕЛЬ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОГО НАЗНАЧЕНИЯ Огородников С.С. ....	204
ОПРЕДЕЛЕНИЕ УГЛЕРОДА МИКРОБНОЙ БИОМАССЫ В ПРОФИЛЕ СЕРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВЫ ПРИРОДНЫХ И СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ЭКОСИСТЕМ Попова Т.А., Ходжаева А.К., Крамарева Т.Н. ....	205
ЭМИССИЯ CO <sub>2</sub> ПОЧВЫ ЛЕСОВ ПОДТАЕЖНОЙ И ЛЕСОСТЕПНОЙ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПОДЗОН ЕВРОПЕЙСКОЙ РОССИИ Роговая С.В., Иващенко К.В. ....	206
ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ ВЕРМИКОМПОСТА НА АГРОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЧЕРНОЗЕМА ОБЫКНОВЕННОГО И УРОЖАЙНОСТЬ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ПОЛЕВОГО ОПЫТА Сенкевич О.В. ....	206
УГЛЕРОД ВОДОРАСТВОРИМЫХ СОЕДИНЕНИЙ ЛЕСНЫХ ПОЧВ И ЕГО ИЗМЕНЕНИЕ В ХОДЕ ПОСТПИРОГЕННЫХ СУКЦЕССИЙ Старцев В.В., Дымов А.А. ....	207
ВЛИЯНИЕ ДОЗ МАРГАНЦЕВОГО МИКРОУДОБРЕНИЯ НА ЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ ЗЕРНА ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ Ткач Е.П. ....	207

ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ КУЛЬТУРНЫХ СЛОЕВ ГОРОДИЩА БОЛГАР ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТАХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТЕРРИТОРИИ Федотов А.Э.....	208
ДИНАМИКА ПОЧВЕННЫХ ЗАПАСОВ С И N ПОД ПЛАНТАЦИЯМИ БЫСТРОРАСТУЩИХ ФОРМ ДЕРЕВЬЕВ Фролова Г.Г., Припутина И.В.....	209
ФИЛОГЕОГРАФИЯ КОСМОПОЛИТНЫХ ВИДОВ ДОЖДЕВЫХ ЧЕРВЕЙ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИИ Шеховцов С.В., Базарова Н.Е., Голованова Е.В., Держинский Е.А., Пельтек С.Е.....	209
РАЗЛОЖЕНИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ И УГЛИСТЫХ ОСТАТКОВ В СЕРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВЕ И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА ЕЕ ДЫХАТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ Шульгина М.А., Сапронов Д.В. ....	210
ЭНДОФИТНЫЕ БАКТЕРИИ - ПЕРСПЕКТИВНЫЙ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ РЕСУРС ДЛЯ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА Щербаков А.В., Щербакова Е.Н., Чеботарь В.К. ....	210
СТРУКТУРУ МИКРОБИОМА НУТА ( <i>CICER ARIETINUM L.</i> ) И АКТИВНОСТЬ ЭКСУДАЦИИ КОРНЕВЫХ ЭКЗОМЕТАБОЛИТОВ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ БОБОВО-РИЗОБИАЛЬНОГО СИМБИОЗА Щербакова Е.Н., Андронов Е.Е., Гончар Л.Н., Чеботарь В.К. ....	211
<b>СЕКЦИЯ «БИОТЕХНОЛОГИЯ И ПРИБОРОСТРОЕНИЕ».....</b>	<b>212</b>
PERFECT ELECTROSPUN NANOMATS WITH NEARLY CALIBRATED HOLES Shlyapnikov Y.M., Mikheev A.Y., Morozov V.N. ....	212
ТЕСТ-СИСТЕМА АНАЛИЗА ПОЛИМОРФИЗМА D-ПЕТЛИ (МТДНК) ДОМАШНЕЙ СВИНЬИ <i>SUS SCROFA D</i> Акопян Н.А., Зиновьева Н.А., Костюнина О.В. ....	212
БАКТЕРИАЛЬНАЯ ЦЕЛЛЮЛОЗА КАК ОСНОВА БИОКОМПОЗИТНЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ КОСТНОЙ ИНЖЕНЕРИИ Архарова Н.А., Северин А.В., Хрипунов А.К., Клечковская В.В.....	212
ИНКАПСУЛИРОВАННЫЕ В ОРГАНОСИЛИКАТНУЮ МАТРИЦУ ДРОЖЖЕВЫЕ КЛЕТКИ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ БИОРАСПОЗНАЮЩЕГО ЭЛЕМЕНТА БПК-БИОСЕНСОРА Афонина Е.Л., Каманина О.А., Лаврова Д.Г., Понаморев О.Н. ....	213
КЛОНИРОВАНИЕ И ЭКСПРЕССИЯ GC БОГАТЫХ ГЕНОВ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРОТЕАЗ ИЗ АКТИНОМИЦЕТОВ Афошин А.С., Шадрин А.М., Леонтьевский А.А.....	214
СИНТЕЗ АРАХИДОНОВОЙ КИСЛОТЫ ГРИБАМИ <i>MORTIERELLA ALPINA</i> НА ОТХОДАХ ПРОИЗВОДСТВА БИОДИЗЕЛЬНОГО ТОПЛИВА Балахонова А.И., Миронов А.А. ....	214
БИОТРАНСФОРМАЦИЯ ХОЛЕСТАНОЛА МИКОБАКТЕРИЯМИ Барабوشкина Т.Г., Довбня Д.В., Донова М.В.....	215
К ОПТИМИЗАЦИИ ПОДГОТОВКИ ПОСЕВНОГО МАТЕРИАЛА <i>EREMOTHESCIUM ASHBYI</i> Безрукова Е.И., Князькова А.А. ....	215
МЕМБРАНОТРОПНЫЙ БИОРЕГУЛЯТОР, ВЫДЕЛЕННЫЙ ИЗ ГЕПАТОПАНКРЕАСА КРАБА: КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ Богданов В.В., Мальцев Д.И., Куликова О.Г., Ямскова В.П., Ямсков И.А.....	216

УЛУЧШЕННЫЙ СПОСОБ ИЗГОТОВЛЕНИЯ БИЛИАРНОГО СТЕНТА Бороздина Н.А. ....	217
СИНТЕЗ И СВОЙСТВА ЧЕТЫРЕХКОМПОНЕНТНЫХ ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТОВ Виноградова О.Н., Петерфельд Е.В. ....	217
НОВЫЙ ИНДУКТОР ТРАНСГЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ К РИЗОМАНИИ Виноградова С.В. ....	218
ОЦЕНКА СКОРОСТИ ОКИСЛЕНИЯ СУБСТРАТОВ РАЗЛИЧНЫМИ БИОКАТАЛИЗАТОРАМИ БТЭ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИЙ <i>GLUCONOBACTER OXYDANS</i> Возчикова С.В., Алферов С.В. ....	218
АНТИБИОТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ АКТИНОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПЕЩЕР ПРИБАЙКАЛЬЯ И СИБИРИ Войцеховская И.В., Аксёнов-Грибанов Д.В., Протасов Е.С., Мадьярова Е.В., Димова М.Д., Мирманов Р.Ж., Тимофеев М.А. ....	219
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРАЙМЕРОВ «ВСТЫК» ДЛЯ ПРЕОДОЛЕНИЯ ИНГИБИРОВАНИЯ ПЦР-АМПЛИФИКАЦИИ Галимова А.А., Сахабутдинова А.Р., Гарафутдинов Р.Р. ....	219
ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ КЛЕТКАМИ ЧЕЛОВЕКА ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ПЛАЗМИДНЫМИ И ВИРУСНЫМИ КОНСТРУКЦИЯМИ Гатина Д.З., Гаранина Е.Е., Лайков А.В., Романова Ю.Д., Салафутдинов И.И. ....	220
КОМБИНАТОРНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СОЗДАВАЕМЫХ ИММУНОАФФИННЫХ КОЛОНОК ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ АНАЛИЗА ПРОТЕОМА СЫВОРОТКИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА Горяйнова О.С., Иванова Т.И., Тиллиб С.В. ....	220
ОСНОВНЫЕ ЭТАПЫ КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ В УСЛОВИЯХ <i>IN VITRO</i> ДЛЯ СОХРАНЕНИЯ РЕДКИХ И ИСЧЕЗАЮЩИХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ Гуля Н.И., Маслова Е.В., Петрова И.В. ....	221
ПРОДУКТИВНОСТЬ ДРОЖЖЕЙ ПРИ КОНВЕРСИИ ТВЕРДЫХ ОТХОДОВ Жабакова А.Б., Абдулжанова М.А., Кули Ж.Т., Кистаубаева А.С. ....	221
МИКСОТРОФНЫЙ РОСТ <i>TETRAELEMIS VIRIDIS</i> ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ИСТОЧНИКА УГЛЕРОДА ОРГАНИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ Жондарева Я.Д. ....	222
РАЗРАБОТКА ОБОРУДОВАНИЯ ДЛЯ БИОРЕМЕДИАЦИИ ПОЧВ С ПРИНУДИТЕЛЬНОЙ АЭРАЦИЕЙ Заборская О.Ю., Заборская А.Ю., Крамм Э.А. ....	223
ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРЫ 5'-НЕТРАНСЛИРУЕМОЙ ОБЛАСТИ ЦЕЛЕВОГО ГЕНА И ЭЛЕМЕНТОВ ЭКСПРЕССИОННОГО ВЕКТОРА НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА ТКАНЕВОГО АКТИВАТОРА ПЛАЗМИНОГЕНА ЧЕЛОВЕКА В КЛЕТКАХ ЯИЧНИКА КИТАЙСКОГО ХОМЯЧКА Ильин И.С., Орлова Н.А., Ходак Ю.А., Воробьев И.И. ....	223
РАЗРАБОТКА МАТРИЦЫ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ ДЛЯ ИММОБИЛИЗАЦИИ МИЦЕЛИЯ БАЗИДИОМИЦЕТОВ <i>LENTINULA EDODES</i> (BERK.) PEGLER И <i>FOMITOPSIS OFFICINALIS</i> (VILL.) BONDARTSEV AND SINGER Каширин В.В., Гаврюшина И.А., Габайдуллин А.В., Петрухин И.Ю. ....	224

СИНТЕЗ ТРЕЙСЕРОВ С ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МЕТКОЙ 5-ДАТАФ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФТОРХИНОЛОНОВ МЕТОДОМ ПФИА Киряков В.С., Мочульская Н.Н., Еремин С.А. ....	224
ДИФФЕРЕНЦИРОВКА ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПУПОВИННОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА В МЕГАКАРИОЦИТЫ И ТРОМБОЦИТЫ Ключников Д.Ю., Языкова М.Ю., Ходаков В.В., Тюмина О.В. ....	225
СПОСОБЫ АЭРОБНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ БАКТЕРИЙ <i>VACILLUS SUBTILIS</i> (ШТАММ Ч13) С ЦЕЛЬЮ УВЕЛИЧЕНИЯ ВЫХОДА МИКРОБНОЙ БИОМАССЫ Ковалев Д.С., Щербачев А.В. ....	226
ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ АМПЛИФИКАЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КАССЕТ В ГЕНОМЕ КЛЕТОК-ПРОДУЦЕНТОВ ЛЮТЕИНИЗИРУЮЩЕГО ГОРМОНА ПРИ КОЭКСПРЕССИИ ПАР СОВМЕСТИМЫХ ВЕКТОРОВ Кондрашова М.П., Орлова Н.А., Воробьев И.И., Хомак Ю.А., Ковнир С.В. ....	226
ИССЛЕДОВАНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ СВЕТА НА МИКРОВОДОРОСЛИ <i>SPIRULLINA PLATENSIS</i> Косалбаев Б.Д., Ахметкалиева А., Тастамбек К. ....	227
ГЕНОТИПИРОВАНИЕ КУР ( <i>GALLUS GALLUS</i> ) РАЗЛИЧНЫХ ПОРОД И КРОССОВ РОССИИ ПО МХ1 ГЕНУ Кудина Е.П. ....	228
ТВЕРДОФАЗНАЯ ФЕРМЕНТАЦИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ В БЕЛКОВЫЕ КОРМОВЫЕ ДОБАВКИ Кули Ж.Т., Жабакова А.Б., Кистаубаева А.С., Абдулжанова М.А. ....	228
РАЗРАБОТКА БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО СПОСОБА ПОЛУЧЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО АНАЛОГА ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ИНТЕРЛЕЙКИНА-15 Лыкошин Д.Д., Костромина М.А., Есипов Р.С. ....	229
НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОНТОГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ <i>VOITRYCHIUM MULTIFIDUM</i> (S.G. GMEL.) RUPR. Малахова К.В., Зонтиков Д.Н., Марамохин Э.В. ....	229
КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ЭПИФИТНОГО ЛИШАЙНИКА <i>LOBARIA PULMONARIA</i> (L.) HOFFM. В УСЛОВИЯХ <i>IN VITRO</i> Марамохин Э.В., Зонтиков Д.Н., Малахова К.В. ....	230
ОЦЕНКА ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ ЖИВОТНЫХ ПРИ КОРРЕКЦИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГИПОТИРЕОЗА ЙОДОСОДЕРЖАЩИМИ БАД К ПИЩЕ Маслов И.В., Сордонова Е.В. ....	231
ДОППЛЕРОГРАФИЧЕСКАЯ СТЕРЕОМОДЕЛЬ ВНУТРИСЕРДЕЧНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ ПЛОДА Медведева Д.А., Казанцев А.П. ....	231
МОЛЕКУЛЯРНАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОТИПОВ ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ПО АЛЛЕЛЬНЫМ ВАРИАНТАМ WAХУ-ГЕНОВ Миков Д.С., Давоян Э.Р., Агаева Е.В., Зубанова Ю.С., Болдаков Д.М., Давоян Р.О. ....	232
РАЗРАБОТКА КАНДИДАТНОЙ СУБСТАНЦИИ РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА CRM197 Мировская А.А., Богомоллова Е.А., Добровольская О.А. ....	232
ЭНДОКСИЛАЗА БАКТЕРИИ <i>CELLULOMONAS FLAVIGENA</i> : ПОЛУЧЕНИЕ ПРОДУЦЕНТА И ХАРАКТЕРИСТИКА ФЕРМЕНТА Нагель А.С., Ковалевская Ж.И., Белова О.В., Леонтьевский А.А. ....	233

ПОЛУЧЕНИЕ ФЕРМЕНТНОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ГРИБА <i>PENICILLIUM VERRUCULOSUM</i> , ОБОГАЩЕННОГО ЭНДО- $\beta$ -1,4-ГЛЮКАНАЗОЙ II (Ce15A) Немашкалов В.А., Вахрушева А.В., Бубнова Т.В., Мытыс В.Ю., Беккаревич А.О., Кошелев А.В. ....	233
ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ СОСТАВОВ ИСКУССТВЕННЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД НА СКОРОСТЬ ДОСТИЖЕНИЯ ЦЕЛЕВОГО ВОЗРАСТА И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ГУСЕНИЦ НЕПАРНОГО ШЕЛКОПРЯДА К ВИРУСУ ЯДЕРНОГО ПОЛИЭДРОЗА Охлопкова О.В., Моисеева А.А. ....	234
РАЗРАБОТКА СХЕМЫ ОЧИСТКИ СВИНОГО РЕКОМБИНАНТНОГО $\alpha$ -ИНТЕРФЕРОНА Павлова Ю.В., Потапович М.И., Прокулевич В.А. ....	235
ВЛИЯНИЕ PGPR НА УСТОЙЧИВОСТЬ ТОМАТОВ И ОГУРЦОВ К ФИТОПАТОГЕНАМ <i>IN VITRO</i> Павловец Ю.Ю., Шульжик А.С., Лагодич О.В. ....	235
НОВЫЙ ФОРМАТ ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНОГО ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО АНАЛИЗА И ЕГО РЕАЛИЗАЦИЯ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ АФЛАТОКСИНА В1 Петракова А.В., Урусов А.Е., Жердев А.В., Возняк М.В., Дзантиев Б.Б. ....	236
ИССЛЕДОВАНИЕ ПОДХОДОВ К ЭКСТРАКЦИИ И ПРЯМОЙ ПЕРЕЭТЕРИФИКАЦИИ ЛИПИДОВ МИКРОВОДОРΟΣЛЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИОННЫХ ЖИДКОСТЕЙ ДЛЯ ПРОЦЕССОВ ПОЛУЧЕНИЯ БИОДИЗЕЛЬНОГО ТОПЛИВА Пилигаев А.В., Сорокина К.Н., Пармон В.Н. ....	236
ОПТИМИЗАЦИЯ ЭТАПА ПОЛУЧЕНИЯ ПОСЕВНОЙ КУЛЬТУРЫ ПРИ МАСШТАБИРОВАНИИ ТЕХНОЛОГИИ БИОСИНТЕЗА ТАКРОЛИМУСА (FK-506) Пошехонцева В.Ю., Фокина В.В., Суходольская Г.В., Шутов. А.А., Донова М.В. ....	237
СЕМЕНА ПШЕНИЦЫ И РЕДИСА В СИЛЬНОМ ЭЛЕКТРИЧЕСКОМ ПОЛЕ: СТИМУЛЯЦИЯ И КЛАССИФИКАЦИЯ Лазукин А.В., Сердюков Ю.А., Разнотовская К.А., Любушкина И.В., Кривов С.А. ....	237
БЕЛКИ OGT4, SOX2, KLF4, C-MYC, NANOG В ОПРЕДЕЛЕНИИ СВОЙСТВ ОПУХОЛЕВЫХ СТЕВЛОВЫХ КЛЕТОК КАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА Рахматуллина А.Р., Мифтахова Р.Р., Мингалева Р.Н., Ризванов А.А. ....	238
РАЗРАБОТКА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ МУТАЦИИ В ГЕНЕ GART, АССОЦИИРОВАННОМ С ГАПЛОТИПОМ ФЕРТИЛЬНОСТИ NN4 Романенкова О.С., Гладырь Е.А., Костюнина О.В., Зиновьева Н.А. ....	238
РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ДРОЖЖЕВОГО БЕЛКА <i>CANDIDA MALTOSE</i> , ВЛИЯЮЩЕГО НА ИММУННЫЙ СТАТУС ЖИВОТНЫХ Рустамов Р.Д. ....	239
ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ РЕКОМБИНАНТНОЙ ЭСТЕРАЗЫ БАКТЕРИИ <i>UREIBACILLUS THERMOSPHERAERICUS</i> Самойлова Ю.В., Сорокина К.Н., Пармон В.Н. ....	240
НОВЫЙ БИОРЕАКТОР ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МЕТАНОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ Сафонов А.С., Редикюльцев Ю.В., Ширшиков Н.В., Гаврилов А.Б. ....	240
ЩАДЯЩАЯ ДЕЛИПИДИЗАЦИЯ КАК ОСНОВНОЙ ФАКТОР СОХРАНЕНИЯ ОСТЕОКОНДУКТИВНОСТИ БИОМАТЕРИАЛОВ ДЛЯ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ Сенотов А.С., Фадеева И.С., Кирсанова П.О., Фадеев Р.С., Просвирин А.А., Горбачев Д.П., Кузьмин М.В., Фесенко Н.И., Лекишвили М.В., Акатов В.С. ....	241



ПЕЧАТНЫЕ ЭЛЕКТРОДЫ, МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ГЛЮКОЗООКСИДАЗОЙ, ИММОБИЛИЗОВАННОЙ В ПРОВОДЯЩИЙ БЕЛКОВЫЙ ГИДРОГЕЛЬ, КАК ОСНОВА БИОСЕНСОРА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛЮКОЗЫ Скворцова Л.С., Коина Е.А., Каманин С.С., Арляпов В.А. ....	242
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ УГЛЕВОД-СВЯЗЫВАЮЩЕГО МОДУЛЯ БАКТЕРИЙ THERMOTOGA MARITIMA ДЛЯ ОЧИСТКИ ФЬЮЖН-БЕЛКОВ, СОДЕРЖАЩИХ АНТИМИКРОБНЫЕ ПЕПТИДЫ Совгир Н.В., Нагорная А.А., Прокулевич В.А. ....	242
ПОЛУЧЕНИЕ ГИБРИДНОГО АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО БЕЛКА ESC-C/LYSKNIS Тарашкевич Ю.С., Совгир Н.В., Жидецкий А.В., Прокулевич В.А. ....	243
ВЛИЯНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА ГРИБНОЙ ЛАККАЗЫ НА ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ДРЕВЕСИНЫ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ОСИНЫ Тугбаева А.С., Ковалицкая Ю.А., Шестибратов К.А. ....	243
АМАРАНТ КАК ПЕРСПЕКТИВНАЯ КОРМОВАЯ КУЛЬТУРА ДЛЯ ВОЗДЕЛЫВАНИЯ Тухтабаева Ф.М., Хошимжоновна Н.Н. ....	244
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ЦИТОКИНОВ ДЛЯ УСИЛЕНИЯ РЕНЕРАТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА БИОМАТЕРИАЛОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ПРИ ЗАМЕЩЕНИИ ДЕФЕКТОВ КОСТНОЙ ТКАНИ И СОСУДОВ РЕЦИПИЕНТА Фадеева И.С., Кузьмин М.В., Сенотов А.С., Горбачев Д.П., Кирсанова П.О., Фадеев Р.С., Фесенко Н.О., Акатов В.С. ....	245
СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ДВУХ ЛИНИЙ КАЛЛУСНОЙ КУЛЬТУРЫ SONIUM MACULATUM L. Филонова М.В., Чурин А.А., Шилова И.В. ....	246
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НАНОТРУБОК ГАЛЛУАЗИТА В КАЧЕСТВЕ НАНОКОНТЕЙНЕРА ДЛЯ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО БАКТЕРИАЛЬНОГО ФЕРМЕНТА Ходжаева В.С., Ульянова В.В., Фахруллин Р.Ф., Ильинская О.Н. ....	246
ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧНОСТИ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ГЛАЗНЫХ ПРЕПАРАТОВ МЕТОДАМИ IN VITRO Хорольская Ю.И., Александрова О.И. ....	247
ОСОБЕННОСТИ МОРФОГЕНЕЗА В КУЛЬТУРЕ ВЕГЕТАТИВНЫХ ОРГАНОВ МЯТЫ IN VITRO Чайковский В.А. ....	247
РАЗРАБОТКА МАТЕРИАЛА С ТРОМБОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ НА ОСНОВЕ ОКСИГИДРОКСИДА АЛЮМИНИЯ Чапурина Ю.Е., Виноградов В.В. ....	248
ДЕЙСТВИЕ МЕТИЛЖАСМОНАТА НА СОДЕРЖАНИЕ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ ФЕНОЛЬНОЙ ПРИРОДЫ В КЛЕТКАХ СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ ECHINACEA PALLIDA Черепко М. А. ....	248
ДВУХУРОВНЕВЫЕ СИСТЕМЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ – НОВЫЙ ПОДХОД К СЕЛЕКЦИИ КЛЕТОК С АДИПОГЕННЫМ ПОТЕНЦИАЛОМ Черноруцкий М.В. ....	249
ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНОВ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗ БАКТЕРИЙ ШТАММА ENTEROCOCCUS FAECALIS BIM B-1012 – ПЕРСПЕКТИВНОГО ПРОДУЦЕНТА МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ Шонина М.Ю., Галкина А.М., Лагодич А.В. ....	250

ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ НАПРЯЖЕНИЯ В МТЭ ЭЛЕКТРОГЕННЫМИ КУЛЬТУРАМИ СЕМЕЙСТВА ENTEROVACTER Юрьев Д.А.....	250
ПОЛУЧЕНИЕ ОЧИЩЕННОГО РЕКОМБИНАНТНОГО ФЬЮЖН-БЕЛКА, СОДЕРЖАЩЕГО N-КОНЦЕВОЙ ФРАГМЕНТ АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА ЭСКУЛЕНТИНА-1А Янушкевич Д.М., Совгир Н.В., Потапович М.И., Прокулевич В.А.....	251
<b>СЕКЦИЯ «ФИЗИОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ И БИОМЕДИЦИНА».....</b>	<b>252</b>
ВЛИЯНИЕ УМЕРЕННОЙ ГИПОТЕРМИИ РАЗНОЙ ДЛИТЕЛЬНОСТИ НА ЦИТОКИНЕТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЭРИТРОЦИТАРНОГО БАЛАНСА КРОВИ КРЫС Аль-Рабии М.А.М., Койсултанова З.К., Муртазаева А.З.....	252
ВЛИЯНИЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ ПОЧКИ НА ВЫРАЖЕННОСТЬ АЦЕТИЛИРОВАНИЯ БЕЛКОВ КЛЕТКИ У МОЛОДЫХ И СТАРЫХ ЖИВОТНЫХ Андрианова Н.В., Янкаускас С.С., Плотников Е.Ю., Зоров Д.Б. ....	252
ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА И ЛИГАНДА TSPO, РК11195 НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ И ИНДУКЦИЮ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ КЛЕТОК НЕЙРОБЛАСТОМЫ МЫШИ N1E-115 Бабурин Ю.Л., Мякишева С.Н., Азарашвили Т.С., Одинокова И.В., Крестинин Р.Р., Ломовский А.И., Крестинина О.В.....	253
ВЛИЯНИЕ БЛОКАДЫ ГИСТАМИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ДО И ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ СТРЕССА У КРЫС Батянина О.В. ....	253
УВЕЛИЧЕНИЕ РАЗМЕРА КВАНТОВОГО ВЫБРОСА АЦЕТИЛХОЛИНА ПРИ АКТИВАЦИИ PAR-1 РЕЦЕПТОРОВ В ЗРЕЛЫХ МОТОРНЫХ СИНАПСАХ МЫШИ Белоусова Ю.В. ....	254
ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА В НЕЙРОНАХ И АСТРОЦИТАХ ПРИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ РАДАХЛОРИНА Бережная Е.В., Негинская М.А. ....	255
ВЛИЯНИЕ КОРВИТИНА НА ХОЛЕРЕЗ У КРЫС В УСЛОВИЯХ ДОКСИЦИКЛИНОВОЙ НАГРУЗКИ Борисевич В.О., Весельский С.П., Ляшевич А.М., Решетник Е.Н. ....	255
КОМПЛЕКСНЫЙ АНАЛИЗ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СТАТУСА, ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО рН, ВЯЗКОСТИ И УЛЬТРАСТРУКТУРЫ ЦИТОСКЕЛЕТА НЕДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ КОСТНО-МОЗГОВЫХ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА Быстрова А.С., Мелешина А.В., Дуденкова В.В., Клементьева Н.В., Загайнова Е.В.....	256
АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ НЕКОТОРЫХ ЦИТОКИНОВ С ЛЕГОЧНЫМИ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ РАБОТНИКОВ УГОЛЬНЫХ ШАХТ Волобаев В.П., Лесников А.И. ....	256
СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ И ИХ ПРОЕКЦИЯ НА МОРФОЛОГИЧЕСКУЮ КАРТИНУ СЛЮННОЙ ЖИДКОСТИ СТУДЕНТОВ РАЗНЫХ ЭТНОСОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ЭКЗАМЕНАЦИОННОГО СТРЕССА Высоцкая А.Г., Щербатюк Т.Г.....	257
ПОСТАКТИВАЦИОННОЕ УВЕЛИЧЕНИЕ РАЗМЕРА КВАНТА МЕДИАТОРА В НЕРВНО-МЫШЕЧНЫХ СИНАПСАХ МЫШИ Голикова Е.А., Богачева П.О.....	257

СОДЕРЖАНИЕ ЦИНКА В ГРАНУЛОЦИТАХ КРОВИ ЗОЛОТИСТЫХ ХОМЯЧКОВ С АЛЛОКСАНОВЫМ ДИАБЕТОМ Головченко Т.Р. ....	258
ПОДАВЛЯЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ЦИС-ВАКЦЕНИЛ АЦЕТАТА НА ДВИГАТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ САМЦОВ ДРОЗОФИЛЫ Гончарова А.А. ....	259
ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ВАЗОПРЕССИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ У КРЫС ЛИНИИ КРУШИНСКОГО-МОЛОДКИНОЙ В НОРМЕ И В ХОДЕ АУДИОГЕННОГО СУДОРОЖНОГО ПРИПАДКА Горбачёва Е.Л., Никитина Л.С. ....	259
МОДЕЛЬ ДЕПРЕССИВНОГО СОСТОЯНИЯ, ВЫЗВАННОГО РАННИМ СТРЕССОМ: ПОВЕДЕНИЕ, НЕЙРОГЕНЕЗ, НЕЙРОТРОФИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ Горбунова А.А., Тишкина А.О. ....	260
ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНО-НАПРАВЛЕННОГО АНТИОКСИДАНТА SKQ1 НА ПРОЦЕСС ОСТРОГО ВОСПАЛЕНИЯ Дворянинова Е.Е. ....	260
РОЛЬ ERK И MEK КИНАЗ В АКТИВАЦИИ ПРОЦЕССОВ РЕГЕНЕРАЦИИ У ПЛОСКИХ ЧЕРВЕЙ ПЛАНАРИЙ Ермаков А.М., Ермакова О.Н. ....	261
ИММУННЫЙ СТАТУС И ЕГО КОРРЕКЦИЯ У ЯЩЕРИЦ-ЖЕЛТОПУЗИКОВ (PSEUDOPUS APODUS) В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ Желанкин Р.В., Макарян Э.А. ....	262
CD39+ TREG-КЛЕТКИ И СИГНАЛЬНЫЙ ПУТЬ АДЕНОЗИН-А2А-РЕЦЕПТОР В РАЗВИТИИ ИММУННОЙ СУПРЕССИИ ПРИ КОЛОРЕКТАЛЬНОМ РАКЕ Жулай Г.А., Чуров А.В., Кравченко П.Н., Романов А.А., Олейник Е.К., Олейник В.М. ....	262
MIND-FITNESS КАК МЕТОД ПРОФИЛАКТИКИ СТРЕССОВОГО ПЕРЕНАПРЯЖЕНИЯ Захарова О.В., Маракасова А.А., Мерзлякова О.Ю. ....	263
РОЛЬ КОРТИКОЛИБЕРИНА И ГЛЮКОКОРТИКОИДНЫХ ГОРМОНОВ В РАЗВИТИИ ПОСТСТРЕССОВЫХ ТРЕВОЖНЫХ СОСТОЯНИЙ У КРЫС И ИХ КОРРЕКЦИИ ГИПОКСИЧЕСКИМ ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЕМ Зенько М.Ю. ....	263
РЕПАРАТИВНАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ СЕМЕННИКОВ И СОСТОЯНИЕ ИХ ТУЧНОКЛЕТОЧНОЙ ПОПУЛЯЦИИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ПРЕДНИЗОЛОНА Иванова И.Г. ....	264
ОЦЕНКА ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ЛЕВОМИЦЕТИНА НА МОДЕЛИ КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЫ СНО-К1 Искендерова Н.Э., Лаврик А.А., Буркова В.В. ....	264
ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА SOD2 A16V В КОНТЕКСТЕ ПОДВЕРЖЕННОСТИ ПРОФЕССИОНАЛЬНОМУ ФЛЮОРОЗУ РАБОЧИХ АЛЮМИНИЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВ Калюжная Е.Э., Волобаев В.П., Казицкая А.С. ....	265
ВЛИЯНИЕ ГИПОКИНЕЗИИ И ХОЛОДОВОГО СТРЕССА НА МОРФОЛОГИЮ МЫШЦ M.SOLEUS И M.EDL ЛЕСНОЙ СОНИ DRYOMYS NITEDULA Тяпкина О.В., Китаева К.В., Гусев О.А. ....	266

ИДЕНТИФИКАЦИЯ МОЛЕКУЛ МЕЖКЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИИ КЛЕТОК ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА, ОТВЕТСТВЕННЫХ ЗА ФОРМИРОВАНИЕ ФЕНОТИПА ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ Фадеев Р.С., Кобякова М.И., Соловьева М.Е., Захаров С.Г., Фадеева И.С., Голенков А.К., Акатов В.С. ...	267
МЕТАЛЛ-ВОССТАНАВЛИВАЮЩИЕ, МЕТАЛЛ-СВЯЗЫВАЮЩИЕ И АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ФЛАВОНОИДОВ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ Козина В.И., Шаталин Ю.В., Шубина В.С. ....	267
СТАРЫЙ ОПЫТ И НОВЫЕ НЕЙРОНЫ: ВЛИЯНИЕ ОБУЧЕНИЯ НА НЕЙРОГЕНЕЗ В ОБОНЯТЕЛЬНОЙ ЛУКОВИЦЕ МЫШИ Кокорина А.А., Кудабаяева М.С., Крутенкова Е.П., Широкова В.В., Китаева Е.С., Немирович-Данченко Н.М. ....	268
ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНОГО ТИАЗОЛИДИНОНА НА ПСИХОМОТОРНУЮ АКТИВНОСТЬ КРЫС В ТЕСТЕ ОТКРЫТОЕ ПОЛЕ Колесникова Т.О., Хацко С.Л., Обыденнов К.Л., Моржерин Ю.Ю. ....	269
ДЕПО-УПРАВЛЯЕМЫЙ ВХОД КАЛЬЦИЯ НАРУШЕН В КЛЕТКАХ НЕЙРОБЛАСТОМЫ МЫШИ (NEURO-2A), МОДЕЛИРУЮЩИХ БОЛЕЗНЬ ХАНТИНГТОНА Колобкова Ю.А., Вигонт В.А. ....	269
ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ПУРИНЕРГИЧЕСКИХ РЕЦЕПТОРОВ В МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА Котова П.Д. ....	270
ВЛИЯНИЕ ПЕРОКСИРЕДОКСИНА 6 И РОСТОВЫХ ФАКТОРОВ НА СКОРОСТЬ РЕГЕНЕРАЦИИ ЭПИТЕЛИЯ В ОТКРЫТЫХ РАНАХ Кочкина А.В., Новоселов В.И., Музафаров Е.Н., Темнов А.А. ....	270
ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ РЕГУЛЯТОРНЫХ БЕЛКОВ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПОРЫ ПРИ СТАРЕНИИ Крестинин Р.Р., Бабурина Ю.Л., Одинокова И.В., Азарашвили Т.С., Ломовский А.И., Крестинина О.В. .	271
ЭНДОТОКСИНЕМИЯ ВЫЗЫВАЕТ ИЗМЕНЕНИЕ СКОРОСТИ МЕТАБОЛИЗМА ДОФАМИНА В КЛЕТКАХ ЦНС Крицкая Д.В. ....	272
МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СУСТАВНОГО ХРЯЩА В УСЛОВИЯХ СТРУКТУРНОЙ МОДИФИКАЦИИ СИНОВИАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ У КРЫС Крылов П.А. ....	272
ВЛИЯНИЕ ВЫБОРА КОГНИТИВНОЙ СТРАТЕГИИ НА УСПЕШНОСТЬ ОБУЧЕНИЯ СТУДЕНТОВ Кундупьян О.Л., Кундупьян Ю.Л., Бибов М.Ю. ....	273
ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКА КОЛОНИИ МШАНОК: АНАЛИЗ НА УРОВНЕ ПРОТЕОМА Кутюмов В.А., Мальцева А.Л., Котенко О.Н., Островский А.Н. ....	273
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕТОДОВ ОЦЕНКИ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ АНТИРАБИЧЕСКИХ ВАКЦИН Лаврик А.А. ....	274
МОТОРНАЯ АСИММЕТРИЯ И ВЕЛИЧИНА ЛАТЕНТНОГО ПЕРИОДА НАХОЖДЕНИЯ СКРЫТОЙ ПЛАТФОРМЫ ПРИ ПРОСТРАНСТВЕННОМ ОБУЧЕНИИ В ВОДНОМ ЛАБИРИНТЕ МОРРИСА У КРЫС ДВУХ ЛИНИЙ, РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ПО ПОРОГУ ВОЗБУДИМОСТИ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ Левина А.С. ....	275

ХАРАКТЕРИСТИКА КОНФИГУРАЦИИ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МИОКАРДА МОРСКИХ РЫБ Борисова М.А., Леонидова С.В. ....	275
АУТОРЕГУЛЯЦИЯ СЕКРЕЦИИ МЕДИАТОРА В НОВООБРАЗУЕМЫХ МОТОРНЫХ СИНАПСАХ МЫШИ С УЧАСТИЕМ ХОЛИНА Леонов В.А., Богачева П.О. ....	276
ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ООЦИТАХ КОРОВ ПРИ ИХ КУЛЬТИВИРОВАНИИ IN VITRO Лопухов А.В., Сингина Г.Н. ....	276
ЭФФЕКТЫ БЛОКАДЫ КАЛЬЦИНЕВРИНА НА ПРОЦЕССЫ ЭКЗОЦИТОЗА И ЭНДОЦИТОЗА СИНАПТИЧЕСКИХ ВЕЗИКУЛ В ДВИГАТЕЛЬНЫХ НЕРВНЫХ ОКОНЧАНИЯХ МЫШИ Мавлиева А.Ф. ....	277
КЛЕТочНАЯ МОДЕЛЬ ТРАНСЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО ТРАНСПОРТА МОЛЕКУЛ СЫВОРОТКИ КРОВИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЭНДОТЕЛИОЦИТОВ ЛИНИИ EA.HY926 Мальцева О.Н., Танянский Д.А. ....	277
ОСОБЕННОСТИ ФИЗИОЛОГИИ МАЛОГО КРУГА КРОВООБРАЩЕНИЯ У БЕЛЫХ КРЫС Мамбетпаева Б.С., Бекбаев А.Ж. ....	278
ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ГОРМОНОВ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ У НАСЕЛЕНИЯ ГОРОДА СТЕРЛИТАМАК Маркина В.О., Гильванова Э.Р., Курамшина З.М. ....	278
МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА МОРФОЛОГИИ МИКРОГЛИИ Мартыанова Е.К., Тишкина А.О. ....	279
СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ, РЕГУЛИРУЮЩИЕ СИНТЕЗ БЕЛКА В m.SOLEUS КРЫСЫ НА РАЗНЫХ СРОКАХ РЕАДАПТАЦИИ ПОСЛЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РАЗГРУЗКИ Мирзоев Т.М., Тыганов С.А., Петрова И.О. ....	280
CA <sup>2+</sup> АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК САЗ ПОЛЯ СРЕЗОВ ГИППОКАМПА КРЫС ПОЗДНЕГО (P21-25) НЕОНАТАЛЬНОГО ПЕРИОДА ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ВОЗБУЖДАЮЩИХ НЕЙРОТРАНСМИТТЕРОВ (АТФ, L- ГЛУТАМАТ) Митаева Я.И., Можеров А.М., Мухина И.В. ....	280
ОБМЕН ВЕЩЕСТВ И ТИРЕОИДНЫЙ ПРОФИЛЬ У КОРОВ С ГИПОФУНКЦИЕЙ ЯИЧНИКОВ В ПЕРВЫЙ ТРИМЕСТР ЛАКТАЦИИ Митяшова О.С., Соломахин А.А., Смекалова А.А., Лебедева И.Ю. ....	281
ГИСТОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ОБРАЗЦОВ ПЕЧЕНИ КРЫС В НОРМЕ И ПРИ АЛЛОКСАНОВОМ ДИАБЕТЕ Моисеенко А.В., Линов А.В., Матвиенко Н.В., Картавцева Л.С., Селиванова Н.В., Полякова-Семёнова Н.Д., Епринцев А.Т. ....	281
НОРМАЛИЗАЦИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ МАТОЧНЫМ МОЛОЧКОМ И УБИХИНОНОМ-10 ПРИ АРИТМИИ Морозов И.Д., Крылова Е.В. ....	282
ВЛИЯНИЕ СЕЛЕН-СОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС Мосенцов А.А., Овсянникова Т.Н., Дяченко В.Д., Хмиль Н.В., Миронова Г.Д. ....	283

ЗАВИСИМОСТЬ АКТИВНОСТИ СЕПТАЛЬНЫХ НЕЙРОНОВ В УСЛОВИЯХ IN VITRO ОТ СКОРОСТИ ПРОТОКА ИНКУБАЦИОННОЙ СРЕДЫ Мурай В.М., Мысин И.Е., Мальков А.Е., Попова И.Ю. ....	283
ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ КАЛЬЦИЕВОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ В ОТВЕТАХ НЕЙРОНОВ И АСТРОЦИТОВ НА ФОТОДИНАМИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ РАДАХЛОРИНА Негинская М.А., Бережная Е.В. ....	284
ХАРАКТЕРИСТИКА РЕГЕНЕРАТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫХ КОНСТРУКТОВ НА ОСНОВЕ КЛЕТОЧНЫХ ПЛАСТОВ ИЗ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА Нимирицкий П.П., Сагарадзе Г.Д., Дусь Т.А., Григорьева О.А., Макаревич П.И., Парфёнова Е.В., Ткачук В.А. ....	284
РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ СЕТЧАТКИ ГЛАЗА В УСЛОВИЯХ ОРГАНОТИПИЧЕСКОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ IN VITRO И ПРИ ПОВРЕЖДЕНИИ СЕТЧАТКИ IN VIVO У НИЗШИХ И ВЫСШИХ ПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ Новикова Ю.П., Поплинская В.А., Григорян Э.Н. ....	285
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МАРГАНЦЕВАЯ ЭНЦЕФАЛОПАТИЯ: ПРИЗНАКИ НЕЙРО- И ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ Обламская И.С. ....	285
ВЛИЯНИЕ ВАЗОАКТИВНЫХ КОМПОНЕТОВ КОСМЕТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ НА МИКРОЦИРКУЛЯЦИЮ В КОЖЕ ЧЕЛОВЕКА Оводова А.И., Савченко С.А., Осипова А.А., Коняева Т.Н. ....	286
ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА СТАННИНА В ГИППОКАМПЕ КРЫС ПРИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ТРИМЕТИЛОЛОВОМ Першина Е.В., Архипов В.И. ....	286
ВЛИЯНИЕ СЕРОТОНИНА НА ТЕРМОРЕГУЛЯЦИЮ КРЫСЯТ ПРИ ОХЛАЖДЕНИИ Польская А.И., Захарова Н.М. ....	287
СЕЛЕКТИВНЫЙ БЛОКАТОР NR2B/NMDA РЕЦЕПТОРОВ И АКТИВАЦИЯ НЕЙРОГЕНЕЗА RO25-6981 МОДИФИЦИРУЕТ ПРОСТРАНСТВЕННУЮ ПАМЯТЬ ЧЕРЕЗ ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ У КРЫС Ратмиров А.М., Соловьева О.А., Грудень М.А., Сторожева З.И., Шерстнев В.В. ....	288
ХРОНИЧЕСКОЕ НАРУШЕНИЕ УТИЛИЗАЦИИ ГЛЮКОЗЫ В МОЗГЕ КАК ПРИЧИНА СУДОРОЖНОЙ АКТИВНОСТИ Самохина Е.И., Мысин И.Е., Попова И.Ю. ....	288
МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЛИМФОЦИТОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ МИТОГЕНОВ Сладкова Е.А. ....	289
КОРРЕЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ МОЗГА В СОСТОЯНИИ ПОКОЯ ПО ФМРТ ДАННЫМ С БАЛЛАМИ ОПРОСНИКА ARSQ Сушинская-Тетерева А.О., Балаев В.В., Мартынова О.В. ....	289
УЧАСТИЕ КАЛЬМОДУЛИНКИНАЗЫ II ТИПА В РЕГУЛЯЦИИ СЕКРЕЦИИ МЕДИАТОРА В НЕРВНО-МЫШЕЧНЫХ СИНАПСАХ МЫШИ Тарасова Е.О., Гайдуков А.Е., Балезина О.П. ....	290
ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСПРЕССИОННОГО ПРОФИЛЯ ГЕНОВ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА (TLRS, CXCL12, CCR4) В МИГРИРУЮЩИХ КЛЕТКАХ ОПУХОЛЕВОЙ ЛИНИИ U937 Филина А.Б., Свитич О.А. ....	291

ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ МЕХАНИЗМОВ РЕШЕНИЯ МАТЕМАТИЧЕСКИХ ПРИМЕРОВ НА СЛОЖЕНИЕ И УМНОЖЕНИЕ ДВУЗНАЧНЫХ ЧИСЕЛ Фомина А.С.....	291
ОЦЕНКА ЧИСЛА КЛЕТОК МИКРОГЛИИ В МОЗГЕ КРЫС СТЕРЕОЛОГИЧЕСКИМ МЕТОДОМ: ПРОВЕРКА ПРИМЕНИМОСТИ МЕТОДА Фролова О.А.....	292
ВИЗУАЛИЗАЦИЯ УЛЬТРАТОНКИХ ПЕРЕСТРОЕК АЛЬФА-АКТИНИНА В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ХИМИОТЕРАПИИ Фурман О.Е., Клементьева Н.В., Загайнова Е.В., Лукьянов К.А., Мишин А.С. ....	292
МОДУЛЯЦИЯ ВХОДА $Ca^{2+}$ ВО ВКУСОВЫХ КЛЕТКАХ ПРИ ВОЗМОЖНОМ УЧАСТИИ ГЕПТАСПИРАЛЬНОГО РЕЦЕПТОРА ВНЕКЛЕТОЧНОГО $Ca^{2+}$ Черкашин А.П., Фадеев П.Ю. ....	293
ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ГОМОЦИСТЕИНА В РАЗЛИЧНЫХ СТРУКТУРАХ МОЗГА В НОРМЕ И ПРИ МЕТИОНИНОВОЙ НАГРУЗКЕ Черноштан К.В., Милютина Ю.П., Залозная И.В., Салтыкова Е.Д., Щербицкая А.Д. ....	294
ОЦЕНКА РАННЕГО ОТВЕТА ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК НА ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ПО ИЗМЕНЕНИЮ УРОВНЯ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО pH Чичагова А.А., Дружкова И.Н., Дуденкова В.В., Игнатова Н.И., Лукина М.М., Ширманова М.В., Загайнова Е.В. ....	294
СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ, АКТИВИРУЕМЫЕ ПРОЛАКТИНОМ, В ООЦИТ-КУМУЛЮСНЫХ КОМПЛЕКСАХ ПРИ ПОДДЕРЖАНИИ КАЧЕСТВА СТАРЕЮЩИХ ЯЙЦЕКЛЕТОК Шедова Е.Н., Сингина Г.Н., Тарадайник Т.Е., Лебедева И.Ю.....	295
АНАЛИЗ ФАРМАКОКИНЕТИКИ МОЛЕКУЛЯРНОГО РОТОРА VODIPY-C10 И МИКРОВЯЗКОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК IN VIVO Шимолина Л.Е., Ширманова М.В., Куимова М.К., Клапшина Л.Г., Загайнова Е.В. ....	296
ОЦЕНКА УРОВНЯ ТРАНСКРИПЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСПРЕССИОННЫХ МИШЕНЕЙ БЕЛКА НЕСФАТИН-1 ПРИ ВНУТРИБРЮШИННОМ ВВЕДЕНИИ ЕГО СИНТЕТИЧЕСКИХ АНАЛОГОВ БЕЛЫМ КРЫСАМ Шпилова А.А., Рудько И.О.....	296
ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ GDNF НА СОХРАНЕНИЕ СТРУКТУРНОГО И ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ НЕЙРОННЫХ СЕТЕЙ В УСЛОВИЯХ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ Шишкина Т.В., Мищенко Т.А., Митрошина Е.В., Астраханова Т.А., Мухина И.В., Ведунова М.В. ....	297
ВОССТАНОВЛЕНИЕ МОТОРНОГО ПОВЕДЕНИЯ ЗОЛОТЫХ РЫБОК В УСЛОВИЯХ ОБРАТИМОЙ МОНОКУЛЯРНОЙ ДЕПРИВАЦИИ Штанчаев Р.Ш., Пенькова Н.А., Алилова Г.А., Михайлова Г.З. ....	297
ПРИМЕНЕНИЕ ФОТОСТИМУЛЯЦИИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ЛИМБИЧЕСКИХ СТРУКТУР МОЗГА В НОРМЕ И ПРИ ГИПЕРВОЗБУЖДЕНИИ Шубина Л.В., Кичигина В.Ф., Бондарь А.Т.....	298
ВЛИЯНИЕ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ НА СОДЕРЖАНИЕ КАТЕХОЛАМИНОВ В НАДПОЧЕЧНИКАХ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС Щербицкая А.Д., Черноштан К.В., Милютина Ю.П. ....	299

ПСИХОЛОГИЧЕСКИЙ СТРЕСС КАК ФАКТОР РАЗВИТИЯ ИНФЕКЦИОННОЙ ПАТОЛОГИИ В РОТОВОЙ ПОЛОСТИ Яблочкина Е.С., Жолдыбаева Б.С., Горлов В.И. ....	299
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АМИЛОИДНЫХ СВОЙСТВ ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ ИЗОФОРМ ТАЙТИНА IN VITRO Якупова Э.И., Бобылёв А.Г., Вихлянцев И.М. ....	300
<b>СЕКЦИЯ «БИОМЕДИЦИНА И БИОФАРМАЦЕВТИКА» .....</b>	<b>301</b>
THE STUDY OF GENES POTENTIAL INVOLVED IN CARDIOVASCULAR DISEASES Abdusa D., Palii I. ....	301
BACILLARY PROTEASES AS POTENTIAL AGENTS FOR ATHEROSCLEROSIS PREVENTION Danilova Iu.V., Khaitlina S. Yu., Sharipova M.R. ....	301
АНАЛИЗ БИОРАСПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕННО-ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА АНТИОНКОРАН-М Алексеев И.В., Сасс А.В., Безбородова О.А., Немцова Е.Р., Якубовская Р.И., Свердлов Е.Д. ....	302
ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ОЖОГОВЫХ РАН С ПРИМЕНЕНИЕМ ГИДРОХЛОРИДА АСКОРБАТА ХИТОЗАНА НА МОДЕЛИ КРЫС Альзубаиди А.Ф.А., Малинкина О.Н., Ковалева Я.О., Зудина И.В., Шиповская А.Б. ....	302
HER2-СПЕЦИФИЧНЫЙ ЛИПОСОМАЛЬНЫЙ ПРЕПАРАТ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЭКЗОТОКСИНА А ДЛЯ НАПРАВЛЕННОЙ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ Антонова Н.О., Гурьев Е.Л., Третьяков А.А., Юдинцев А.В., Воденеев В.А., Балалаева И.В., Деев С.М., Звягин А.В. ....	303
ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНЫХ МЕХАНИЗМОВ НЕЙРОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ НЕЙРОТРОФИЧЕСКОГО ФАКТОРА BDNF В НОРМЕ И ПРИ ГИПОКСИИ Астраханова Т.А., Ведунова М.В., Митрошина Е.В., Мухина И.В. ....	304
ИММОБИЛИЗОВАННЫЙ ФИЦИН – ДЕСТРУКТОР МИКРОБНЫХ БИОПЛЕНОВ Байдамшина Д.Р., Тризна Е.Ю., Холявка М.Г., Каюмов А.Р. ....	304
ХИТОЗАНОВЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ - ПЕРСПЕКТИВНЫЕ АГЕНТЫ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ Беланова А.А., Золотухин П.В. ....	305
МОДЕЛИРОВАНИЕ СТРЕССОВОГО НЕДЕРЖАНИЯ МОЧИ У САМОК КРЫС SD МЕТОДОМ ДВУСТОРОННЕЙ ЭЛЕКТРОХИРУРГИЧЕСКОЙ КОАГУЛЯЦИИ СРАМНОГО НЕРВА Белоус Г.И., Туховская Е.А., Мурашев А.Н., Фатхудинов Т.Х. ....	305
НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ С ЛИПИДНЫМИ МЕМБРАНАМИ Будянская Л.В., Садченко А.О., Пуговкин А.Ю., Касян Н.А., Ващенко О.В. ....	306
ИДЕНТИФИКАЦИЯ НОВЫХ ГЕНОВ, ВОВЛЕЧЕННЫХ В РЕПАРАЦИЮ ДНК И РЕГУЛИРУЮЩИХ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ КЛЕТОК К ЦИСПЛАТИНУ Гапонова А.В., Киямова Р.Г., Серебрянский И.Г. ....	307
МОНОНУКЛЕАРНЫЕ КЛЕТКИ ПУПОВИННОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА, ТРАНСДУЦИРОВАННЫЕ РЕКОМБИНАНТНЫМ АДЕНОВИРУСОМ, КО-ЭКСПРЕССИРУЮЩИМ ГЕНЫ VEGF165 И FGF2, ЭКСПРЕССИРУЮТ АСТРО-ГЛИАЛЬНЫЙ ФЕНОТИП ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ТРАНСГЕННЫМ МЫШАМ С ФЕНОТИПОМ БОКОВОГО АМИОТРОФИЧЕСКОГО СКЛЕРОЗА Гаранина Е.Е., Мухамедшина Я.О., Ризванов А.А., Исламов Р.Р. ....	307



РОЛЬ ПЕРОКСИРЕДОКСИНА VI В КОРРЕКЦИИ МИКРОЦИРКУЛЯЦИОННЫХ НАРУШЕНИЙ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА ПРИ ИШЕМИЧЕСКИ/РЕПЕРФУЗИОННОМ ПОРАЖЕНИИ Гордеева А.Е., Тихонова И.В., Шарапов М.Г., Темнов А.А., Новоселов В.И. ....	308
ВОССТАНОВЛЕНИЕ ПРОЦЕССОВ КРОВЕТВОРЕНИЯ У КРЫС ПРИ СИМПТОМАХ ОСТРОЙ ЛУЧЕВОЙ БОЛЕЗНИ ПОД ДЕЙСТВИЕМ АНТИРЕТИКУЛЯРНОЙ ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ СЫВОРОТКИ (АРЦС) Гуч Д.Е., Иванов В.Л. ....	308
ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ И ДИНАМИКИ ЭКСПРЕССИИ CD126 ПРИ ПРОГРЕССИРОВАНИИ ХОБЛ Виткина Т.И., Лобанова Е.Г., Денисенко Ю.К., Давыдова К.А. ....	309
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ НАЦИОНАЛЬНОЙ КОМАНДЫ БЕЛАРУСИ ПО ПОЖАРНО-СПАСАТЕЛЬНОМУ СПОРТУ Жур К.В., Кундас Л.А., Головкова И.В., Питомец С.П., Моссэ И.Б. ....	310
КОНЦЕПЦИЯ ПРИМЕНЕНИЯ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ИЗ ЖИРОВОЙ ТКАНИ ПРИ ТРАВМЕ СПИННОГО МОЗГА Журавлева М.Н., Мухамедшина Я.О., Закирова Е.Ю., Масгутова Г.А. ....	310
ВЛИЯНИЕ ФТОРХИНОЛОНОВ НА КАТАЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ДНК-ГИРАЗЫ И ТОПОИЗОМЕРАЗЫ IV STARPHYLOCOCCLUS AUREUS Замальдинова А.Э., Гарипов М.Р., Штырлин Н.В., Каюмов А.Р. ....	311
ИЗУЧЕНИЕ НЕЙРОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА ЦЕРЕБРОЛИЗИН НА МОДЕЛИ ПЕРМАНЕНТНОЙ ОККЛЮЗИИ СРЕДНЕЙ МОЗГОВОЙ АРТЕРИИ У КРЫС W1STAR Исмаилова А.М., Туховская Е.А., Мурашев А.Н. ....	311
СОЗДАНИЕ БИОКАТАЛИЗАТОРОВ ПРОТИВ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ ТОКСИНОВ НА ОСНОВЕ СКОНСТРУИРОВАННОЙ БИБЛИОТЕКИ АКТИВНОГО ЦЕНТРА БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ Карцева О.В. ....	312
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СТЕКОЛКРИСТАЛЛИЧЕСКОГО ОСТЕОЗАМЕЩАЮЩЕГО МАТЕРИАЛА БИОСИТ СР-«ЭЛКОР» НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ И ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК ОСТЕОГЕННОЙ ПРИРОДЫ Касьянова Е.С., Александрова С.А. ....	313
РАЗРАБОТКА НОВОГО ТИПА МУЛЬТИФУНКЦИОНАЛЬНЫХ МНОГОКОМПОНЕНТНЫХ БИОСЕНСОРНЫХ СИСТЕМ ШИРОКОГО НАЗНАЧЕНИЯ Ким А.Л., Мусин Е.В., Тихоненко С.А. ....	313
ВЛИЯНИЕ КОМПОНЕНТОВ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА НА СИНТЕЗ ПОРОФОРМИРУЮЩЕГО ТОКСИНА hlyII В КЛЕТКАХ В. CEREUS Ковалевская Ж.И., Саямов В.И., Сиунов А.В., Шадрин А.М., Нагель А.С., Холод Н.С., Бударина Ж.И., Глазунова О.А., Солонин А.С. ....	314
ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ВОДОРАСТВОРИМОГО МЕТАНОФУЛЛЕРЕНА C <sub>60</sub> [C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub> ((OH) <sub>4</sub> ] <sub>6</sub> НА МИТОХОНДРИАЛЬНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ЛИМФОЦИТОВ И ТРОМБОЦИТОВ В ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА Колганова Е.А., Тарасова Г.Р., Калачева Н.В., Черепнев Г.В., Губская В.П., Фазлеева Г.М. ....	314
ПРИМЕНЕНИЕ RHEWAS КАТАЛОГА В ИЗУЧЕНИИ ПРОЛАПСА ТАЗОВЫХ ОРГАНОВ Колобков Д.С., Хаджиева М.Б. ....	315

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СПОСОБНОСТИ К ОБРАЗОВАНИЮ КОЛОНИЙ У РАЗНЫХ ТИПОВ КЛЕТОК КОНЕЧНОСТИ КРОЛИКА С ХОНДРОГЕННЫМ ПОТЕНЦИАЛОМ Копелев П.В., Александрова С.А.....	316
КИНЕТИЧЕСКИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ФИЦИНА – НАТИВНОГО И ИММОБИЛИЗОВАННОГО НА СРЕДНЕМОЛЕКУЛЯРНОМ ХИТОЗАНЕ Королева В.А., Холявка М.Г., Ольшанникова С.С., Сазыкина С.М. ....	316
ХАРАКТЕРИСТИКА АНГИОГЕННЫХ КОМПОНЕНТОВ ИЗ ЯДА ЩИТОМОРДНИКА Мазур Е.Ю., Садыков Э.С., Султаналиева Н.М., Юнусова Э.С.....	317
АНТИПРОЛИФЕРАТИВНЫЙ И АПОПТОЗ-ИНДУЦИРУЮЩИЙ ПОТЕНЦИАЛ БИНАЗЫ В ОТНОШЕНИИ КЛЕТОК НЕЛА Макеева А.В., Зеленихин П.В. ....	317
СОЗДАНИЕ ИММУНОГЕНА ПРОТИВ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА НА ОСНОВЕ ХИМЕРНОГО РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА L2E7 Малахов И.С., Аль-Шехадат Р.И., Духовлинов И.В. ....	318
АКТИВНОСТЬ КАТАЛАЗЫ И ИНТЕНСИВНОСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ГЛЮКОКОРТИКОИДНОЙ ОСТЕОРЕЗОРБЦИИ У КРЫС НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ АЛЛОГЕННОГО ГИДРОКСИАПАТИТА Маркелова Д.Ю., Даниэль М.А., Жандарова К.А. ....	318
ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ РЕКОМБИНАНТНОГО ФРАГМЕНТА АЛЬФА- ФЕТОПРОТЕИНА (357-590 А.К.) С ДОПОЛНИТЕЛЬНОЙ (POLYGLU21) ВСТАВКОЙ Моллаев М.Д., Фаустова М.Р., Никольская Е.Д., Яббаров Н.Г. ....	319
ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССОВ РАЗРУШЕНИЯ ОБОЛОЧКИ И ВЫХОДА БЕЛКА ИЗ МИКРОКАПСУЛ, СОСТОЯЩИХ ИЗ НЕБИОДЕГРАДИРУЕМЫХ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТОВ, В СВЯЗИ С ПРОБЛЕМОЙ СОЗДАНИЯ ГАЗОТРАНСПОРТНОЙ СИСТЕМЫ ЧЕЛОВЕКА Мусин Е.В., Ким А.Л., Кочеткова О.Ю., Тихоненко С.А. ....	320
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ S100, PMP2, PMP22 В СПИННОМОЗГОВЫХ ГАНГЛИЯХ ПОСЛЕ АУТОНЕРВНОЙ ПЛАСТИКИ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА ПРИ СТИМУЛЯЦИИ РЕГЕНЕРАЦИИ МЕЗЕНХИМНЫМИ СТВОЛОВЫМИ КЛЕТКАМИ ЖИРОВОЙ ТКАНИ Мухаметова Л.Р., Масгутова Г.А., Масгутов Р.Ф., Гаранина Е.Е., Ризванов А.А. ....	320
ПОЛУЧЕНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В СОСТАВЕ ДНК-ВАКЦИНЫ ХИМЕРНОГО ГЕНА НАVG-1-8, КОДИРУЮЩЕГО ПОЛИПЕПТИД, СОДЕРЖАЩИЙ ОСНОВНЫЕ АНТИГЕННЫЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ АЛЬФА, БЕТА И ГАММА-ГЕРПЕСВИРУСОВ ЧЕЛОВЕКА Назаров А.С., Богомоллова Е.Г., Добровольская О.А.....	321
ОЦЕНКА ГЕПАТОПРОТЕКТИВНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИМИДИНА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЧЕТЫРЕХХЛОРИСТОГО УГЛЕРОДА Назаров Н.Г., Зобов В.В., Выштакалюк А.Б., Резник В.С., Семенов В.Э.....	321
ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСНОГО СОЕДИНЕНИЯ ВКЛЮЧЕНИЯ ДИГИДРОКВЕРЦЕТИН-В-ЦИКЛОДЕКСТРИНА НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА IN VITRO Наумов А.А., Поцелуева М.М. ....	322
ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ТРИТЕРПЕНОВЫХ А КОНДЕНСИРОВАННЫХ АЗОЛОВ Небогатиков В.О., Толмачева И.А., Галайко Н.В., Назаров А.В., Гришко В.В. ....	322

ИЗБИРАТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ НООТРОПНОГО ПРЕПАРАТА «СЕМАКС» В СТРЕССОРНЫХ И НЕ СТРЕССОРНЫХ УСЛОВИЯХ Немец В.В., Виноградова Е.П., Лукина А.М., Соболев В.Е. ....	323
ПОИСК НОВЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ДЛЯ СНИЖЕНИЯ СТЕПЕНИ ПОСТЛУЧЕВЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ Никитина М.Ю. ....	324
ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ЭФФЕКТА КВЕРЦЕТИНА И ГИНЕСТЕЙНА НА КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЕ HELA Нурматова М., Артыкбаева Г.М., Ялалова И.Р., Хашимова З.С. ....	324
G-КВАДРУПЛЕКСЫ В ПРОМОТОРНЫХ ОБЛАСТЯХ ОНКОГЕНОВ: МИШЕНЬ ДЛЯ КООПЕРАТИВНОГО ПОДАВЛЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ Оглоблина А.М., Жуликов Я.А., Алексеевский А.В., Якубовская М.Г. ....	325
РАЗРАБОТКА НОВОГО КРОВЕЗАМЕНИТЕЛЯ НА ОСНОВЕ ГЕМОГЛОБИНА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ Орехова В.А. ....	325
СОЗДАНИЕ АНТИТЕЛ К ГАЛЕКТИНУ-3 ДЛЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ И ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ЦЕЛЕЙ Павлова Е.В., Казаков А.С. ....	326
РАЗРАБОТКА НОВОГО ПОДХОДА ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ АНТИДОТОВ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ ФОС НА IN VIVO МОДЕЛЯХ Паликов В.А., Паликова Ю.А., Дьяченко И.А., Смирнов И.В., Мурашев А.Н. ....	327
ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПОЛИПЕПТИДНОГО АНАЛЬГЕТИКА, СЕЛЕКТИВНО ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩЕГО С TRPA-1 РЕЦЕПТОРАМИ Паликова Ю.А., Паликов В.А., Дьяченко И.А., Мурашев А.Н. ....	327
«ЭФФЕКТ МОЛОКА» ПРИ СРАВНЕНИИ ПОВЕДЕНИЯ ПОТОМСТВА КОНТРОЛЬНЫХ И ПОДСАЖЕННЫХ К ИММУНИЗИРОВАННЫМ К S100 ЖИВОТНЫХ Перепеченова Н.А., Клокова К.В., Морозов С.Г., Сидякин А.А., Захарова И.А., Давыдов Д.М., Лобанов А.В. ....	328
ИССЛЕДОВАНИЕ ПОСТУПЛЕНИЯ И ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ ПОРФИРАЗИНОВЫХ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ БЕЛКИ Пескова Н.Н., Шилиягина Н.Ю., Соколова Е.А., Брилкина А.А., Балалаева И.В. ....	329
СИНТЕЗ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫХ МИКРОКАПСУЛ, МОДИФИЦИРОВАННЫХ НАНОЧАСТИЦАМИ ДИОКСИДА ЦЕРИЯ Попова Н.Р., Попов А.Л. ....	329
ФУНКЦИОНАЛИЗАЦИЯ ПОВЕРХНОСТИ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА НАНОТРУБКАМИ ГАЛЛУАЗИТА Рожина Э.В., Коннова С.А., Данилушкина А.А., Тарасова Е.Ю., Фахруллин Р.Ф. ....	330
ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА НА СТАТУС МЕДИ У МЫШЕЙ Рожкова Н.А., Соснин И.М. ....	330
МЕТАБОЛИЗМ КОСТНОЙ ТКАНИ КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ГЛЮКОКОРТИКОИДНОЙ РЕЗОРБЦИИ И ВВЕДЕНИИ АЛЛОГЕННОГО ГИДРОКСИАПАТИТА Романова Д.А., Горченкова М.Ю., Ерина Н.М., Агафонова А.И. ....	331
СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ В ОТНОШЕНИИ ОПУХОЛЕЙ ФЕНИЛЭТИЛИЗОТИОЦИОНАТА И «ТИАЦЕНА» НА ФОНЕ НАЗНАЧЕНИЯ КАНЦЕРОГЕННОГО АГЕНТА N-	

НИТРОЗОАМИНА Румянцева Т.С. ....	332
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СВЕТА НА МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК Рысцов Г.К., Чернов А.С. ....	332
ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОТОКОЛА ПРОИЗВОДСТВА И КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА КОНДИЦИОНИРОВАННОЙ СРЕДЫ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ/СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЖИРОВОЙ ТКАНИ ЧЕЛОВЕКА Сагарадзе Г.Д., Григорьева О.А., Басалова Н.А., Нибирицкий П.П., Внукова А.А., Сысоева В.Ю., Калинина Н.И., Акопян Ж.А., Камалов Д.М., Суслина С.Н., Ефименко А.Ю., Ткачук В.А. ....	333
О МОЛЕКУЛЯРНОЙ ОСНОВЕ ГЕМОЛИЗА ЭРИТРОЦИТОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ БИЯДЕРНЫХ ТЕТРАНITРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА – ДОНОРОВ ОКСИДА АЗОТА Соколова Е.М., Нешев Н.И., Психа Б.Л., Руднева Т.Н., Санина Н.А. ....	333
ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУММЫ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В СУХОМ ЭКСТРАКТЕ «АНГИОНОРМ» И ЛЕКАРСТВЕННОМ РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ, ВХОДЯЩЕМ В ЕГО СОСТАВ Стручков П.А., Белобородов В.Л., Савватеев А.М., Колхир В.К., Воскобойникова И.В. ....	334
НОВЫЙ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ СПОСОБ СНИЖЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ АММИАКА В КРОВИ Тихонова Л.А., Косенко Е.А., Каминский Ю.Г. ....	335
АНТИМИКРОБНЫЙ ПЕПТИД АРЕНИЦИН-1 КАК ИНГИБИТОР СИСТЕМЫ КОМПЛЕМЕНТА Умнякова Е.С., Леонова Т.С. ....	335
ОЦЕНКА ИНТЕНСИВНОСТИ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ФАГОЦИТОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ГЛЮКОНАТОВ 3d-МЕТАЛЛОВ ПРИ ИНДУЦИРОВАННОМ ИММУНОДЕФИЦИТЕ Усачев С.А., Князева О.А. ....	336
ПОЛУЧЕНИЕ ПОЛИМЕРНЫХ СУБМИКРОННЫХ ФОРМ НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСА ЖЕЛЕЗА (III) С ТЕТРАФЕНИЛПОРФИРИНОМ Фаустова М.Р., Жунина О.А., Моллаев М.Д., Никольская Е.Д. ....	336
ВЛИЯНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АДЕНОВИРУСА, НЕСУЩЕГО ГЕН КОСТНОГО МОРФОГЕНЕТИЧЕСКОГО БЕЛКА 2, НА ОСТЕОГЕННУЮ ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК IN VITRO Хамидуллина Л.Р., Журавлева М.Н., Гаранина Е.Е. ....	337
ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА NRF2 И ЕГО НУКЛЕОЦИТОПЛАЗМОТИЧЕСКОГО РЕГУЛЯТОРА KEAP1 Христиненко А.Ю., Полозников А.А., Газарян И.Г., Лежнин Ю.Н., Смирнова Н.А. ....	338
ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ГИДРОХЛОРИДА АСКОРБАТА ХИТОЗАНА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ВЗП Чемодурова А.А., Токмакова Е.В., Альзубаиди А.Ф.А., Зудина И.В., Ксенофонтова О.Ю. ....	338
ВЛИЯНИЕ ТЕСТОСТЕРОНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ГЛИКОПРОТЕИНА-Р Щулькин А.В., Черных И.В., Якушева Е.Н., Гацаного М.В. ....	339
ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ EGFR-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ МУТАЦИЙ ПРИ АДЕНОКАРЦИНОМЕ ЛЕГКОГО У НАСЕЛЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН Шигапова Л.Х., Еникеев Р.Ф., Гордиев М.Г., Гусев О.А. ....	340

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЦИТОФЛАВИНА ПРИ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЕ НА ПРОЦЕССЫ МЕТАБОЛИЗМА И ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ Шумилова А.В., Филиппенко Е.С. ....	340
ХАРАКТЕРИСТИКА МОДУЛЯТОРОВ АНГИОГЕНЕЗА ЯДА ГЮРЗЫ ( <i>VIPERA LEVETINA TURANICA</i> CH.) Юнусова Э.С., Садыков Э.С., Шкинев А.В., Султаналиева Н.М. ....	341
НОВОЕ ВЕЩЕСТВО С АНТИАМНЕСТИЧЕСКИМ ЭФФЕКТОМ НА ОСНОВЕ ГАМК Якимова Т.Н. ....	341
ИММОРТАЛИЗАЦИЯ И ИСЛЕДОВАНИЕ ДИФФЕРЕНЦИРОВОЧНОГО ПОТЕНЦИАЛА МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК Яппарова О.Н. ....	342
<b>СЕКЦИЯ «ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ И ФОТОБИОЛОГИЯ» .....</b>	<b>343</b>
ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ ОТДЕЛЬНЫХ КАРОТИНОИДОВ В СВЕТОСОБИРАЮЩИХ КОМПЛЕКСАХ LH2 ИЗ ПУРПУРНЫХ СЕРНЫХ БАКТЕРИЙ Ашихмин А.А., Большаков М.А., Махнева З.К., Москаленко А.А. ....	343
ОТНОШЕНИЕ СОИ К ПОЧВЕННО-КЛИМАТИЧЕСКИМ УСЛОВИЯМ УЗБЕКИСТАНА Байкабилов Д.К., Сафаров А.К. ....	343
ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРОВ И РАЗЛИЧНЫХ ГАЗОВЫХ СРЕД НА АКТИВНОСТЬ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ЛИПОКСИГЕНАЗЫ В РАСТЕНИЯХ Бердникова О.С., Титова А.П., Ершова А.Н. ....	344
ИЗУЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ АБСЦИЗОВОЙ КИСЛОТЫ В ПРОРОСТКАХ ЯЧМЕНЯ ПОСЛЕ ГАММА-ОБЛУЧЕНИЯ СЕМЯН СТИМУЛИРУЮЩИМИ ДОЗАМИ Битаршвили С.В., Волкова П.Ю., Гераськин С.А. ....	344
ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА ФОРМИРОВАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ПШЕНИЦЫ Бойко Е.В., Головацкая И.Ф. ....	345
ФОТОСИНТЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ФОРМИРОВАНИЯ УРОЖАЯ РИСА В ПОСЕВАХ РАЗЛИЧНОЙ ГУСТОТЫ Брагина О.А. ....	346
ВЛИЯНИЕ ХЛОРИДА НАТРИЯ НА АЦИДОФИЦИРУЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ КОРНЕЙ ПРОРОСТКОВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ Верчук А.Н., Яковец О.Г. ....	346
КРАТКОСРОЧНАЯ АДАПТАЦИЯ СВЕТОСОБИРАЮЩЕЙ СИСТЕМЫ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ К УСЛОВИЯМ ОСВЕЩЕНИЯ Ветошкина Д.В., Борисова М.М., Козулева М.А., Иванов Б.Н. ....	347
ВЛИЯНИЕ ФИТОГОРМОНОВ НА АКТИВНОСТЬ ФОТОСИНТЕЗА, ЕГО РЕГУЛЯЦИЮ ЭЛЕКТРИЧЕСКИМИ СИГНАЛАМИ И ФОРМИРОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ К ТЕМПЕРАТУРНОМУ СТРЕССУ Гаспирович В.В., Морозова Е.Н., Сурва Л.М., Мудрилов М.А., Синицына Ю.В., Середнева Я.В., Сухов В.С., Воденев В.А. ....	347
АНАЛИЗ ПОЛНОЙ НУКЛЕОТИДНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ХЛОРОПЛАСТНОГО ГЕНОМА МИКОГЕТЕРОТРОФНОГО РАСТЕНИЯ <i>MONOTROPA HYPOPITYS</i> Груздев Е.В., Кадников В.В., Белецкий А.В., Марданов А.В., Равин Н.В. ....	348

АДАПТИВНЫЕ МЕХАНИЗМЫ УСТЬИЧНОГО АППАРАТА ЛИСТЬЕВ <i>TRIGLOCHIN MARITIMA</i> L. НА ПРИЛИВНО-ОТЛИВНОЙ ЗОНЕ СЕВЕРНЫХ МОРЕЙ Гуляева Е.Н., Марковская Е.Ф. ....	348
ВЛИЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА СОДЕРЖАНИЕ ДИЕНОВЫХ КОНЬЮГАТОВ В КОРНЕПЛОДАХ СТОЛОВОЙ СВЕКЛЫ Гурина В.В., Нестёркина И.С. ....	349
ОСМОТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> ПРИ ХЛОРИДНОМ ЗАСОЛЕНИИ Данилова Е.Д., Малофий М.К., Ефимова М.В. ....	350
ФАКТОРНЫЙ АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА СОРТОВ ЯЧМЕНЯ ПО ИЗОЭНЗИМАМ, МАРКИРУЮЩИМ УСТОЙЧИВОСТЬ К СВИНЦУ Дикарев А.В., Дикарев В.Г., Дикарева Н.С. ....	350
ВЛИЯНИЕ ОТСУТСТВИЯ АЛЬФА-КАРБОАНГИДРАЗЫ 4 НА РАБОТУ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ ЭЛЕКТРОН-ТРАНСПОРТНОЙ ЦЕПИ В РАСТЕНИЯХ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> Журикова Е.М., Игнатова Л.К., Мудрик В.А., Иванов Б.Н. ....	351
ПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭКЗОГЕННОЙ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА РАСТЕНИЯ ОГУРЦА В УСЛОВИЯХ ГИПОТЕРМИИ Игнатенко А.А., Репкина Н.С. ....	351
СОРТОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПО СОДЕРЖАНИЮ ПИГМЕНТОВ ФОТОСИНТЕЗА В ПЛАСТИНКЕ ПЕРВОГО ЛИСТА ОЗИМОЙ РЖИ Каргатова А.М., Степанов С.А. ....	352
ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ LYSM-РЕЦЕПТОР-ПОДОБНОЙ КИНАЗЫ K1 ГОРОХА В РАЗВИТИИ СИМБИОЗА С КЛУБЕНЬКОВЫМИ БАКТЕРИЯМИ Кириенко А.Н., Долгих Е.А. ....	352
ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО ОТВЕТА РАСТЕНИЙ ВИНОГРАДА РАЗЛИЧНОГО ФИТОСАНИТАРНОГО СОСТОЯНИЯ Колмыков А.Е., Сундырева М.А. ....	353
УРОВЕНЬ ОН-РАДИКАЛОВ В РАСТЕНИИ <i>TRITICUM VULGARE</i> ПОСЛЕ ИНКУБАЦИИ С НАНОЧАСТИЦАМИ ОКСИДА НИКЕЛЯ CuO Короткова А.М., Лебедев С.В. ....	353
СТИМУЛЯЦИЯ ОБРАЗОВАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В КАЛЛУСАХ ШАЛФЕЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО И ЭХИНАЦЕИ ПУРПУРНОЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ ХЛОРХОЛИНХЛОРИДА Кривелева А.Н. ....	354
ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ СТЕВИОЗИДА НА РОСТОВЫЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ КЛЕТОК КОРНЕЙ ПШЕНИЦЫ Куприянова В.В., Невмержицкая Ю.Ю., Тимофеева О.А. ....	355
ДЕЛЕНИЕ И РАСТЯЖЕНИЕ КЛЕТОК КОРНЯ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ТАБАКА С ГЕТЕРОЛОГИЧНЫМ ГЕНОМ IAAM Лаврентьева В.В. ....	355
УЧАСТИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА И АЗОТА В РОСТЕ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР, РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ПО ГОРМОНОЗАВИСИМОСТИ Лугманова А.Ф., Сибгатуллина Г.В. ....	356

РЕГУЛЯЦИЯ СОЛЕУСТОЙЧИВОСТИ ПРОРОСТКОВ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> 24-ЭПИБРАССИНОЛИДОМ Малофий М.К., Коломейчук Л.В., Ефимова М.В. ....	356
ИЗМЕНЕНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЛИСТА ГОРОХА ПРИ РАСПРОСТРАНЕНИИ ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО СИГНАЛА Морозова Е.Н., Сухов В.С. ....	357
ДИНАМИКА ПРОРАСТАНИЯ МУТАНТНЫХ ЛИНИЙ С НАРУШЕННОЙ РЕЦЕПЦИЕЙ ЦИТОКИНИНОВ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> ПРИ ХЛОРИДНОМ ЗАСОЛЕНИИ Мурган О.К., Дорошенко А.С., Ефимова М.В. ....	358
ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ДОНОРНЫХ ПАР, СОДЕРЖАЩИХ ДИХЛОРФЕНОЛИНДОФЕНОЛ ИЛИ N,N,N',N'-ТЕТРАМЕТИЛ-1,4-Р-ФЕНИЛЕНДИАМИН, С КИСЛОРОДОМ И ФОТОСИСТЕМОЙ 1 Петрова А.А., Козулева М.А. ....	358
ВЛИЯНИЕ ПАРА-АМИНОБЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ НА СОЛЕУСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ( <i>TRITICUM AESTIVUM L.</i> ) Петрова А.А., Белозерова А.А. ....	359
АКТИВНОСТЬ ПЕРЕКИСЬ - РАСЩЕПЛЯЮЩИХ ФЕРМЕНТОВ В УЗЛЕ КУЩЕНИЯ РАСТЕНИЙ ТРИТИКАЛЕ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЛУБИНЫ ЕГО ЗАЛЕГАНИЯ Платовский Н.Н., Здиорук Н.В. ....	359
ДЕГИДРОАСКОРБАТ РЕДУКТАЗЫ ИЗ СЕМЕЙСТВА ГЛУТАТИОН-S-ТРАНСФЕРАЗ РИСА Приказюк Е.Г., Емельянов В.В. ....	360
ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА ЦИРКОНА ДЛЯ УСТРАНЕНИЯ РОСТА И РАЗВИТИЯ РАСТЕНИЙ ГОРОХА ( <i>PISUM SATIVUM L.</i> ) Рыбовалова И.А., Чмелёва С.И. ....	360
ВЛИЯНИЕ <i>VACILLUS SUBTILIS</i> НА СОДЕРЖАНИЕ ПРОЛИНА В ПОБЕГАХ ПШЕНИЦЫ ПРИ ПОЧВЕННОЙ ЗАСУХЕ Саттарова Л.Р., Курамшина З.М. ....	361
ВЛИЯНИЕ ТЕПЛОВОГО ШОКА НА СОДЕРЖАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ В ПРОРОСТКАХ ТРИТИКАЛЕ ПРИ ЗАСОЛЕНИИ Свиридович М.М., Яковец О.Г. ....	362
ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ МЕТАБОЛИЗМ УГЛЕРОДА В СТРУКТУРНЫХ ЭЛЕМЕНТАХ КОЛОСА Синенко О.С., Киселева И.С. ....	362
ПОВЫШЕНИЕ ХОЛОДОУСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ ( <i>TRITICUM AESTIVUM L.</i> ) ПОД ДЕЙСТВИЕМ РЕГУЛЯТОРА РОСТА ЦИРКОН Соловей Я.Н., Кучер Е.Н., Чмелёва С.И. ....	363
ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ АДАПТАЦИИ К СТРЕССОРАМ ЛЕТНЕГО ПЕРИОДА РАЗЛИЧНЫХ СОРТО-ПОДВОЙНЫХ КОМБИНАЦИЙ ВИНОГРАДА Сундырева М.А. ....	363
ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ КУКУРУЗЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЦИНКА Тафий М.Д., Вакерич М.М., Белчгази В.И., Николайчук В.И. ....	364
ВЛИЯНИЕ БИКАРБОНАТА НА СКОРОСТЬ ФОТОФОСФОРИЛИРОВАНИЯ ТИЛАКОИДОВ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ Федорчук Т.П., Опанасенко В.К., Борисова М.М., Ветошкина Д.В., Иванов Б.Н. ....	364

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРА РОСТА РАСТЕНИЙ ЭПИН-ЭКСТРА НА РОСТ И РАЗВИТИЕ ЯЧМЕНЯ Фурсова А.И., Шплихалова А.В., Кучер Е.Н., Чмелева С.И. ....	365
ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПЕРСПЕКТИВНЫХ СОРТОВ СОИ Сафаров А.К., Хаккулова Н.Б. ....	366
ВЛИЯНИЕ $\gamma$ -ИЗЛУЧЕНИЯ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ Чурюкин Р.С., Волкова П.Ю., Казакова Е.А., Гераськин С.А. ....	366
МЕТАБОЛОМНОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ У СРЕДНЕВОЛОКНИСТЫХ СОРТОВ ХЛОПЧАТНИКА ВИДА <i>GOSSYPIUM HIRSUTUM L</i> ПРИ ВОДНОМ ДЕФИЦИТЕ Шавкиев Ж.Ш., Бозоров Т.А., Набиев С.М., Хамдуллаев Ш.А., Усманов Р.М. ....	367
ИССЛЕДОВАНИЕ КОНФИГУРАЦИИ КАРОТИНОИДОВ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ОТД. <i>PINOPHYTA</i> И ОТД. <i>MAGNOLIOPHYTA</i> С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА РАМАНОВСКОЙ СПЕКТРОСКОПИИ Шаланов В.В., Порочкин А.В., Шаповалова А.С., Степанова В.А. ....	367
ДЕЙСТВИЕ ТРЕГАЛОЗЫ НА ПЕРЕНОС ЭЛЕКТРОНА В ПРЕПАРАТАХ ФС2 Яныкин Д.В., Хоробрых А.А., Мамедов М.Д., Климов В.В. ....	368
<b>СЕКЦИЯ «ЭКОЛОГИЯ».....</b>	<b>369</b>
ENERGY AND WATER RESOURCES OF A SEASONAL TROPICAL FOREST Kuricheva O., Avilov V., Dinh Ba Duy, Kurbatova J. ....	369
INVASIVE TERRESTRIAL SNAIL <i>STENOMPHALIA RAVERGIERY</i> (MOLLUSCA, GASTROPODA, PULMONATA): ESTIMATION OF DEMOGRAPHIC AND MORPHOLOGICAL PARAMETERS OF POPULATION IN BELGOROD Adamova V.V. ....	369
РОЛЬ КОРООТВАЛОВ В СОХРАНЕНИИ ЧИСЛЕННОСТИ ОХРАНЯЕМОГО ВИДА ЖУКА – НОСОРОГА Аканаева А.Н. ....	370
МИКРОФРАГМЕНТЫ ДРЕВЕСНОЙ РАСТИТЕЛЬНОСТИ КАК МЕСТООБИТАНИЯ НАПОЧВЕННЫХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ В ГОРОДЕ Алексанов В.В., Галемина И.Е. ....	370
ЯДОВИТЫЕ ГРИБЫ ЗАПОВЕДНИКА «КАЛУЖСКИЕ ЗАСЕКИ» Алексеев А.С. ....	371
ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ ВЫБРОСОВ АВТОТРАНСПОРТА НА ВОЗДУШНУЮ СРЕДУ ГОРОДА С ПОМОЩЬЮ АНАЛИЗА СНЕЖНОГО ПОКРОВА Арефьева А.А., Панченко А.А., Курамшина З.М. ....	372
ИССЛЕДОВАНИЕ СОРБЦИОННЫХ СВОЙСТВ ЛИГНОСУЛЬФОНАТА Ахлиманова А.С., Хитрин С.В. ....	372
БРИОМОНИТОРИНГ СОСТОЯНИЯ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА В ТУЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ Бабичева Д.Е., Горелова С.В., Игнатова Т.Ю., Фронтасьева М.В., Вергель К.Н. ....	373
ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ ДАННЫЕ О МАКРОМИЦЕТАХ УЧАЛИНСКОГО РАЙОНА РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН Балагтдинова Р.Р., Михайлова В.А., Петрова М.В. ....	373
ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ ПРЕДПРИЯТИЯ ОАО «ЦС ДАЛЬЗАВОД» НА АКВАТОРИЮ БУХТЫ ЗОЛОТОЙ РОГ Баранова Ю.А. ....	374



ОЦЕНКА БИОЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПОЧВОГРУНТОВ ПОЛИГОНА ТБО «САЛАРЬЕВО» Бекк В.В., Жандарова Ю.А. ....	375
ХАОТИЧЕСКАЯ ДИНАМИКА СООБЩЕСТВ ЗООПЛАНКТОНА ЭКОТОНОВ МАЛЫХ ПРИТОКОВ РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА Болотов С.Э., Мухортова О.В. ....	375
МАТЕРИАЛЫ ПО ПАРАЗИТОФАУНЕ ЧЕРНОМОРСКОГО ЛОБАНА ( <i>MUGIL CEPHALUS</i> ) Бортников Е.С., Шевкоплясова Н.Н. ....	376
ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ВОДЫ РЕКИ ДЗКНАГЕТ ПО СТРУКТУРЕ СООБЩЕСТВА МАКРОЗООБЕНТОСА Бошян Т.В. ....	376
СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СТРАТЕГИЙ ЭНЕРГООБЕСПЕЧЕНИЯ ДВУХ ПОПУЛЯЦИЙ <i>GAMMARUS LACUSTRIS</i> SARS В УСЛОВИЯХ ТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕССА Верещагина К.П., Шатилина Ж.М., Задереев Е.С., Гурков А.Н., Тимофеев М.А. ....	377
РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ ПРОМЫСЛОВОГО МОЛЛЮСКА <i>MERCENARIA STIMPSONI</i> (BIVALVIA, VENERIDAE) У БЕРЕГОВ ПРИМОРСКОГО КРАЯ (ЯПОНСКОЕ МОРЕ) Власенко Р.В. ....	378
ИЗУЧЕНИЕ РАЗВИТИЯ ЩИТНЕЙ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ СРЕДЫ Воршева А.В. ....	378
РОЛЬ ЗООПЛАНКТОНА В САМООЧИЩЕНИИ МАЛОЙ РЕКИ Г. НИЖНЕГО НОВГОРОДА Гаврилко Д.Е. ....	379
БИОЦЕНОТИЧЕСКИЕ СВЯЗИ ТЕРМИТОВ РОДА <i>ANACANTHOTERMES</i> Ганиева З.А., Хамраев А.Ш. ....	379
ТЕМПЕРАТУРНЫЕ НОРМЫ РАЗВИТИЯ КЛОПА <i>PALOMENA PRASINA</i> (HETEROPTERA; PENTATOMIDAE) В ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ Гусев И.А., Лопатина Е.Б. ....	380
ДРЕВЕСНО-КУСТАРНИКОВЫЕ РАСТЕНИЯ В ПИТАНИИ РЕЧНОГО БОБРА ( <i>CASTOR FIBER</i> ) В КАЛУЖСКОЙ ОБЛАСТИ Девятов А.И., Карпухин С.Е., Алексеев А.С. ....	381
ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ РЕКУЛЬТИВАЦИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ЭЙХОРНИИ ( <i>EICHORNIA CRASIPES</i> ) Живалина Ю.А. ....	381
НАХОДКИ ВИДОВ-ВСЕЛЕНЦЕВ ЗООПЛАНКТОНА НА РЕЧНОЙ ЧАСТИ ЧЕБОКСАРСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА И В УСТЬЕВОМ УЧАСТКЕ РЕКИ ОКИ (НИЖЕГОРОДСКАЯ ОБЛАСТЬ) В 2015 ГОДУ Жихарев В.С., Кудрин И.А. ....	382
ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ СТИМУЛЯТОРА РОСТА «РАФИТУР» (РФУ) НА РЯДЕ ТЕСТ-ОБЪЕКТОВ Зайцева О.В. ....	382
СТРУКТУРА НАСЕЛЕНИЯ ПТИЦ БЕРЕЗОВЫХ ЛЕСОВ В ДОЛИНАХ РЕК СЕВЕРО-ЗАПАДА ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ Зацаринный И.В., Варюхин В.С., Ефремова Е.С. ....	383

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕПРОДУКТИВНОЙ БИОЛОГИИ <i>HORDEUM L.</i> Имирсинова А.А., Эрматова Г.З., Миржалолова М.З. ....	383
ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА ИЗОФЕРМЕНТНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ В ПОПУЛЯЦИЯХ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ Казакова Е.А., Волкова П.Ю., Гераськин С.А. ....	384
СЕМЕННАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ И МАССА СЕМЯН МАЛОЛЕТНИКОВ И ИХ СРАВНЕНИЕ С МНОГОЛЕТНИМИ РАСТЕНИЯМИ Казанцева Е.С., Богатырев В.А., Лидер Е.Н. ....	385
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ РАЗЛИЧИЙ ПО ПРИСПОСОБЛЕННОСТИ НА ИСХОД КОНКУРЕНЦИИ ДВУХ ВИДОВ (КЛЕТОЧНО-АВТОМАТНАЯ МОДЕЛЬ) Калмыков Л.В., Калмыков А.В., Калмыков В.Л. ....	385
ИЗМЕНЕНИЕ ЧИСЛЕННОСТИ ПОСЕЛЕНИЙ РЕЧНОГО БОБРА ( <i>CASTOR FIBER</i> ) В БЕРЕЗИЧЕСКОМ ЛЕСНИЧЕСТВЕ НАЦИОНАЛЬНО ПАРКА «УГРА» Карпухин С.Е., Девятков А.И., Алексеев А.С. ....	386
ДОБАВЛЕНИЕ МИНЕРАЛЬНЫХ ФОРМ АЗОТА ВЛИЯЕТ НА МИНЕРАЛИЗАЦИЮ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОПАДОВ И ЛЕСНЫХ ПОДСТИЛОК Квиткина А.К., Ларионова А.А. ....	386
ЭНЕРГИЯ ПРОРАСТАНИЯ ПОЛБЫ-ДВУЗЕРНЯНКИ ПРИ УСЛОВИИ ПРЕДПОСЕВНОЙ ОБРАБОТКИ СЕМЯН СЕРНОКИСЛЫМ КУПРУМОМ Киш Ю.Ю., Вакерич М.М., Николайчук В.И. ....	387
ВЛИЯНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОЛЕННОСТИ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ НА НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ СТРЕСС-РЕАКЦИИ ГОЛАРКТИЧЕСКОГО ВИДА АМФИПОД <i>GAMMARUS LACUSTRIS SARS</i> Кондратьева Е.С., Верещагина К.П., Гурков А.Н., Бедулина Д.С., Тимофеев М.А. ....	387
ОЦЕНКА АЛЛЕЛОПАТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СЕМЯН ИНВАЗИОННЫХ РАСТЕНИЙ Коростелева Т.П., Дербуш О.Г., Романенкова А.А. ....	388
ВЫЯВЛЕНИЕ СВЯЗИ МЕЖДУ АКТИВНОСТЬЮ ТИРОЗИНАЗЫ ГЕМОЛИМФЫ И ЭКОЛОГИЧЕСКИМ СТАТУСОМ МЕДИ У ПРЕСНОВОДНЫХ ЛЕГОЧНЫХ МОЛЛЮСКОВ <i>PLANORBARIUS CORNEUS</i> Кудрявцева П.С. ....	388
ВРЕМЕННАЯ ДИНАМИКА ЧАСТОТЫ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ В ПОПУЛЯЦИЯХ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ, ПОДВЕРЖЕННЫХ ХРОНИЧЕСКОМУ ОБЛУЧЕНИЮ Кузьменков А.Г., Васильев Д.В. ....	389
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОСОРЕБЦИОННОЙ ВОЗМОЖНОСТИ ИММОБИЛИЗОВАННОЙ МИКРОФЛОРЫ ДЛЯ ОЧИСТКИ СТОЧНЫХ ВОД Кулишов С.А., Лыков И.Н. ....	390
ИЗМЕНЯЕТСЯ ЛИ УРОЖАЙ СЕМЯН АЛЬПИЙСКИХ РАСТЕНИЙ ПРИ ДОЛГОВРЕМЕННОМ ВНЕСЕНИИ ФОСФАТОВ? Лавренов Н.Г., Онипченко В.Г. ....	390
ГУМИНОВЫЕ ВЕЩЕСТВА ТОРФОВ РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ТУЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ И ИХ ДЕТОКСИЦИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА ПО ОТНОШЕНИЮ К ИОНАМ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ Леонтьева М.М., Богатырев Ю.В. ....	391

ИНВАЗИВНЫЕ ВИДЫ РАСТЕНИЙ И ИХ РАСПРОСТРАНЕНИЕ, НА ПРИМЕРЕ БОРЩЕВИКА СОСНОВСКОГО Лизунова И.Е. ....	391
ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ У БАЙКАЛЬСКИХ ЭНДЕМИЧНЫХ АМФИПОД <i>GMELENOIDES FASCIATUS</i> В УСЛОВИЯХ ГРАДИЕНТНОГО ПОВЫШЕНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ Лубяга Ю.А., Емшанова В.А., Мадьярова Е.В., Аксенов-Грибанов Д.В., Тимофеев М.А. ....	392
МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭКОЛОГИЯ И ФИЛОГЕНИЯ СИНАНТРОПНЫХ ФОРМ ДОМОВЫХ МЫШЕЙ <i>MUS MUSCULUS</i> Мальцев А.Н. ....	393
ВЫСОТНО-ПОЯСНОЕ РАСПРОСТРАНЕНИЕ ЖУЖЕЛИЦ РОДА <i>CARABUS</i> L., 1758 (COLEOPTERA: CARABIDAE) В СЕВЕРНОЙ ОСЕТИИ-АЛАНИИ Марютин Д.В. ....	393
ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПРИДОРОЖНЫХ ТЕРРИТОРИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ ПАЛИНОИНДИКАЦИИ Машихина Ю.В. ....	394
ГИБРИДНЫЕ ЗОНЫ МЛЕКОПИТАЮЩИХ. СТРУКТУРА, ЛОКАЛИЗАЦИЯ, РАЗВИТИЕ Миронова Т.А. ....	394
ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ГОРОДСКИХ ПОЧВ Митракова Н.В. ....	395
БИОЛОГИЯ И ЭКОЛОГИЯ ЦЕНОПОПУЛЯЦИЙ <i>ACONITUM EXCELSUM</i> В РАЗЛИЧНЫХ СООБЩЕСТВАХ ДЕРЕВНИ ИРГИЗЛА БУРЗЯНСКОГО РАЙОНА Насырова Р.Р., Карпов Д.Н. ....	396
МЕЖПОПУЛЯЦИОННОЕ СРАВНЕНИЕ ЛЕЙКОГРАММ ЗЕЛЁНЫХ ЛЯГУШЕК ВОДОЁМОВ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕТИЧЕСКОГО ТИПА НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ ЗА 2011-2015 ГГ. Николаев В.Ю. ....	396
АЛЬГОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ ЗАТОПЛЕННЫХ УЧАСТКОВ ОЗЕРА СЕВАН Овсепян А.А. ....	397
ХАРАКТЕРИСТИКА ПУЛОВ И ПОТОКОВ ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА В СРЕДНЕТАЕЖНОМ СОСНЯКЕ ЧЕРНИЧНОМ НА ЭТАПЕ ПРИСПЕВАНИЯ Осипов А.Ф. ....	397
ИЗМЕНЧИВОСТЬ СЕЯНЫХ БОБОВО-ЗЛАКОВЫХ СЕНОКОСОВ В РЕЗУЛЬТАТЕ ПОСЛЕДЕЙСТВИЯ ЭКСТРЕМАЛЬНОЙ ЗАСУХИ В ПОСЛЕДУЮЩИЕ ГОДЫ Охлопкова Ю.Ф. ....	398
ОЦЕНКА ГЕОЭКОЛОГИЧЕСКИХ РИСКОВ СТРОИТЕЛЬСТВА И ЭКСПЛУАТАЦИИ ЛИНИЙ ЭЛЕКТРОПЕРЕДАЧ Пайметова В.Э., Булыгина Н.А., Краева Е.М. ....	398
ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРЫ ЖЕНСКОГО ГАМЕТОФИТА <i>NICOTIANA TABACUM</i> L., ИНДУЦИРОВАННЫЕ ЭКСТРЕМАЛЬНЫМИ ТЕМПЕРАТУРАМИ Парфирова И.В., Лобанова Л.П., Колесова А.Ю. ....	399
ВЗАИМОСВЯЗЬ РАДИАЛЬНОГО ПРИРОСТА СТВОЛОВ И ВОССТАНОВЛЕНИЯ КРОН ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО В ПОЙМЕННОЙ ДУБРАВЕ ЮЖНОЙ ЛЕСОСТЕПИ Поляков А.С., Каплина Н.Ф. ....	400

ИССЛЕДОВАНИЕ КОНФОРМАЦИИ КАРОТИНОИДОВ В ЛИСТЬЯХ ДЕРЕВЬЕВ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ РАЗЛИЧНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ЗОН Г.САРАНСКА С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА КОМБИНИРОВАННОГО РАССЕЙНИЯ СВЕТА Порочкин А.В., Шаланов В.В., Шаповалова А.С., Степанова В.А. ....	400
ОБ ЭПИДЕМИОЛОГИИ ОПИСТОРХОЗА В РЕЧИЦКОМ РАЙОНЕ Протасовицкая Я.В., Протасовицкая Р.Н. ....	401
МЕХАНИЗМЫ ВЫЖИВАНИЯ ДОЖДЕВЫХ ЧЕРВЕЙ (СЕМ. LUMBRICIDAE) В ГРАДИЕНТЕ ЗАГРЯЗНЕНИЯ МЕДЕПЛАВИЛЬНЫМ ПРОИЗВОДСТВОМ Резниченко И.С. ....	402
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ ВОДНЫХ РЕСУРСОВ РЕК ГОРОДА СТЕРЛИТАМАКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИНФУЗОРИИ <i>PARAMECIUM CAUDATUM</i> Романова А.Р., Тихонова С.В., Атнагулова Р.Р. ....	402
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ ВОДНЫХ РЕСУРСОВ ГОРОДА СТЕРЛИТАМАК Романова А.Р., Тихонова С.В., Буляккулова Л.У. ....	403
СЕЗОННЫЕ ЦИКЛЫ РАЗВИТИЯ И ИХ РЕГУЛЯЦИЯ У БАБОЧЕК-НИМФАЛИД (NYMPHALIDAE) Рыжкова М.В., Лопатина Е.Б. ....	403
ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ И ЭКОНОМИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ МЕТОДА СОРБЦИОННОЙ БИОРЕМЕДИАЦИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ Слюсаревский А.В., Зиннатшина Л.В. ....	404
МЕЖГОДОВАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ВЗАИМОСВЯЗИ NDVI С КОМПОНЕНТАМИ ДЫХАНИЯ ПОЧВЫ В ГРАДИЕНТЕ ПРОМЫШЛЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ Сморкалов И.А. ....	404
ИЗУЧЕНИЕ И ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ВОДЫ ВОДОХРАНИЛИЩ АХПАРА И ЕРЕВАНСКОЕ ОЗЕРО ПО МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМ И ФИТОПЛАНКТОННЫМ ПОКАЗАТЕЛЯМ Степанян Л.Г., Кобелян Р.О., Гамбарян Л.Р. ....	405
МОРФОЛОГИЯ И АНАТОМИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ СЕМЯН РОДОВ <i>DRYPIS</i> MICH. EX.L.И <i>ACANTHOPHYLLUM</i> С.А. MEY. УСЛОВИЙ В ФЕРГАНСКОЙ ДОЛИНЕ Мадумаров Т.А., Рузматов Э.Ю., Низомова Б.Б. ....	406
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ-ДЕСТРУКТОРОВ УГЛЕВОДОРОДОВ (НА ОСНОВЕ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ РАЗРАБОТОК) ДЛЯ БИОРЕМЕДИАЦИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ ТЕРРИТОРИИ ОБЪЕКТА ШЫМКЕНТСКОГО НЕФТЕПРОВОДНОГО УПРАВЛЕНИЯ (ШНУ) Тастамбек К.Т., Косалбаев Б.Д., Ерназарова А.К., Акимбеков Н.Ш. ....	406
ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ ЛОКАЛЬНОЙ ВИБРАЦИИ НА ОРГАНИЗМ ГОРНОРАБОЧИХ НА ОСНОВЕ МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ Темиргалиева Г.Н. ....	407
К ИЗУЧЕНИЮ ЦЕНОПОПУЛЯЦИЙ БОЯРЫШНИКА ТУРКЕСТАНСКОГО ( <i>CRATAEGUS TURKESTANICA</i> POJARK.) В ГОРАХ КУНГУРБУКА ЧАТКАЛЬСКОГО ХРЕБТА Тожибоев М.У., Расулова О., Бурикулов А.Т. ....	407

ВЛИЯНИЕ ПОЛИВАРИАНТНОСТИ ОНТОГЕНЕЗА НА ПОПУЛЯЦИОННУЮ ДИНАМИКУ ЧЕРНИКИ ОБЫКНОВЕННОЙ – МОДЕЛЬНЫЙ ЭКСПЕРИМЕНТ Фролов П.В., Зубкова Е.В., Шанин В.Н.....	408
АССОЦИАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ ДЛЯ ДЕГРАДАЦИИ НЕФТЕЙ, СОДЕРЖАЩИХ ПРЕИМУЩЕСТВЕННО ТВЕРДЫЕ ПАРАФИНЫ Фунтикова Т.В., Филонов А.Е. ....	408
ИЗМЕНЕНИЕ ДИНАМИЧЕСКОЙ ПЛОТНОСТИ ГЕРПЕТОБИОНТНОЙ МЕЗОФАУНЫ НА ОЧАГЕ КОРОЕДА ТИПОГРАФА ( <i>IPS TYROGRAPHUS</i> ) В ЕЛЬНИКЕ Харичкин Д.А., Марютин Д.В., Алексеев А.С. ....	409
GENERAL SPECIES OF PHYTOPLANKTON COMMUNITY OF THE MAIN TRIBUTARIES OF LAKE SEVAN BASED ON INDEX OF FREQUENCY OCCURRENCE Хачикян Т.Г., Мамян А.С., Гамбарян Л.Р. ....	409
О РАСПРОСТРАНЕНИИ И ВИДОВОМ СТАТУСЕ ПРУДОВОЙ НОЧНИЦЫ ( <i>MYOTIS DASYCHEME</i> VOIE, 1825) В ТВЕРСКОЙ ОБЛАСТИ Христенко Е.А.....	410
ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ВОДОЕМОВ НА ОСНОВЕ МАРКЕРНЫХ БЕЛКОВ СО1 ИНДИКАТОРНЫХ ГИДРОБИОНТОВ Хусаинов А.М., Фролова Л.Л.....	410
ОСОБЕННОСТИ РАЗМЕРНОЙ СТРУКТУРЫ ПАЛЕВОГО МОРСКОГО ЕЖА ( <i>STRONGYLOCENTROTUS PALLIDUS</i> ) В ЗАЛИВЕ ПЕТРА ВЕЛИКОГО (ЯПОНСКОЕ МОРЕ) Чалиенко М.О., Дробязин Е.Н. ....	411
СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ КЛЕТЧНОГО СОСТАВА КОСТНОГО МОЗГА ОЗЕРНЫХ ЛЯГУШЕК ( <i>PELOPHYLAX RIDIBUNDUS</i> ) УРБАНИЗИРОВАННОЙ ТЕРРИТОРИИ Романова Е.Б., Шаповалова К.В.....	412
ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕССА И ПАРАЗИТАРНОЙ ИНВАЗИИ НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ У ЛЕГОЧНОГО МОЛЛЮСКА <i>LUMNAEA STAGNALIS</i> РАЗНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ РЕСП. БЕЛАРУСЬ Хомич А.С., Бодиловская О.А., Широкова Ю.А., Шапова Е.П., Лубяга Ю.А., Емшанова В.А., Аксенов-Грибанов Д.В.....	412
ЛИЧИНКИ ЭНДЕМИЧНЫХ БАЙКАЛЬСКИХ РУЧЕЙНИКОВ <i>VAICALINA THAMASTOIDES</i> НЕ ПРОЯВЛЯЮТ ВЫРАЖЕННУЮ СТРЕСС-РЕАКЦИЮ НА ВВЕДЕНИЕ ИНКАПСУЛИРОВАННОГО PH-СЕНСОРА SNARF-1 Щапова Е.П., Гурков А.Н., Белоусова И.А., Бадурев Б.К., Верещагина К.П., Тимофеев М.А. ....	413
ТРЕМАТОДОФАУНА БРЮХОНОГИХ МОЛЛЮСКОВ СООБЩЕСТВ ПЛОТНЫХ ПОСЕЛЕНИЙ <i>MYTILUS EDULIS</i> (MOLLUSCA: BIVALVIA): ВЛИЯЮТ ЛИ МИДИИ НА РАСПРОСТРАНЕНИЕ ПАРАЗИТОВ? Щенков С.В., Сказина М.А.....	413
ХАОТИЧЕСКАЯ ДИНАМИКА ПАРАМЕТРОВ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ ДЕТЕЙ ПРИ СМЕНЕ КЛИМАТИЧЕСКИХ ПОЯСОВ Эльман К.А., Горбунов Д.В., Срыбник М.А., Горбунова Д.С. ....	414
ФИТОЦЕНОТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА <i>HELICHRYSUM MARACANDICUM</i> M.POP.EX. KIRP. Юлдашев А.С., Эралиев Ш., Ахмаджонов К. ....	414

**Научное издание**

**БИОЛОГИЯ – НАУКА XXI ВЕКА: 20-я Международная Пушинская школа-конференция молодых ученых (Пушино, 18 - 22 апреля 2016 г.).**

**Сборник тезисов.**

**Пушино, 2016.**

Подписано в печать 31.01.2016. Формат 60x84 1/16  
Гарнитура Times. Печ. л. 60,75.  
Тираж 200 Заказ № 2530.

Отпечатано в типографии ООО «Буки Веди»  
На оборудовании Konica Minolta  
119049, г. Москва, Ленинский проспект, д. 4, стр. 1А  
Тел.: (495) 926-63-966 [www.bukivedi.com](http://www.bukivedi.com), [info@bukivedi.com](mailto:info@bukivedi.com)

ISBN 978-5-9908139-0-8



В оформлении обложки использованы фотографии участников  
фотоконкурса "Стихии науки":

Мишкель Екатерины, Беликовой Дарьи, Стукалова Антона, Макоедова Анатолия