

ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН  
Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических  
исследований Российской академии наук»  
Совет молодых ученых и специалистов ИТЭБ РАН  
ФГБУН Институт белка РАН



## **СБОРНИК ТЕЗИСОВ**

**23-ой Международной Пушкинской школы-конференции  
молодых ученых  
«БИОЛОГИЯ - НАУКА XXI ВЕКА»**

15-19 апреля 2019, г. Пушкино



УДК 57.08; 573.4; 574.24; 574.6; 577.1; 577.2; 577.3; 578,5; 579,6; 581.1; 591.1; 631.4  
**БИОЛОГИЯ – НАУКА XXI ВЕКА: 23-я Международная Пушинская школа-конференция молодых ученых. 15 - 19 апреля 2019 г., Пушино. Сборник тезисов, 2019. – 434 с.**

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, экскурсии в научные лаборатории институтов Пушинского научного центра, научные и творческие конкурсы, культурная и спортивная программа.

ISBN 978-5-91874-045-3



9 785918 740453 >



## СОДЕРЖАНИЕ

### Экология

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ В КОЛОНИЯХ НАЗЕМНОГО МОЛЛЮСКА-ВСЕЛЕНЦА <i>XEROPICTA DERBENTINA</i> (GASTROPODA, PULMONATA, HYDROMPHIDAE) Адамова В.В.....	39
СОДЕРЖАНИЕ РТУТИ В ОРГАНАХ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ В РАЙОНАХ ВОЛОГОДСКОЙ ОБЛАСТИ С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ РАЗВИТИЯ ПРОМЫШЛЕННОСТИ Андреева А.В., Иванова Е.С., Хабарова Л.С.....	40
ОЦЕНКА ПАРАЗИТОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ ТАРАНИ <i>RUTILUS RUTILUS</i> (LINNAEUS, 1758) ИЗ ЕЙСКОГО И БЕЙСУГСКОГО ЛИМАНОВ В ПРЕДНЕРЕСТОВЫЙ ПЕРИОД 2018 ГОДА Бортников Е.С., Хорошельцева В.Н.....	41
МЕЖГОДОВЫЕ И СЕЗОННЫЕ РАЗЛИЧИЯ В ЯЙЦЕПРОДУКЦИИ У <i>SARABUS ARCENSIS</i> HERBST, 1784 (COLEOPTERA, SARABIDAE) В ЛЕСАХ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЧАСТИ МЕЩЁРЫ Бочаров А.А., Титова Н.В., Трушицына О.С.....	42
ВОЗРАСТНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ АЛЛОЗИМНЫХ ЛОКУСОВ В БЕЛГОРОДСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ МОЛЛЮСКА <i>BREPHULOPSIS CYLINDRICA</i> Адамова В.В., Быльченко А.А.....	42
ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПРИЗНАКИ ЛИСТЬЕВ НА ЗАПОВЕДНЫХ И ИСПОЛЪЗУЕМЫХ ЛУГАХ ЦЕНТРАЛЬНО-ЛЕСНОГО ЗАПОВЕДНИКА Гаврилова Т.М., Чередниченко О.В., Елумеева Т.Г.....	43
ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОСТАВА ЭПИКУТИКУЛЯРНОГО СЛОЯ ЛИЧИНОК КОЛОРАДСКОГО ЖУКА ( <i>LEPTINOTARSA DECEMLINEATA</i> ) НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ МЕЖЛИНОЧНОГО ПЕРИОДА Ганина М.Д.....	44
СПОСОБНОСТЬ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ ТОРФОВ СТАБИЛИЗИРОВАТЬ ЭМУЛЬСИИ НЕФТИ И НЕФТЕПРОДУКТОВ Герцен М. М.....	45
АНАТОМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ, ПЛОТНОСТЬ И ОРИЕНТАЦИЯ УСТЬИЦ СТЕБЛЕЙ НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ПОРЯДКА <i>LAMIALES BROMHEAD</i> В СВЯЗИ С ФОРМИРОВАНИЕМ БЕЗЛИСТНОЙ ЖИЗНЕННОЙ ФОРМЫ Десятиркина И.А.....	46
ЗАКОНОМЕРНОСТИ ОСЕННЕЙ РЕТРАНСЛОКАЦИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ ИЗ ЛИСТЬЕВ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ Железнова О.С.....	47
РЕДКИЕ ВИДЫ ПТИЦ ПРОЕКТИРУЕМОГО ЗАКАЗНИКА «ПАЗОВСКИЙ» (ПЕЧЕНГСКИЙ РАЙОН, МУРМАНСКАЯ ОБЛ.) Зацаринный И.В., Шаврина У.Ю.....	48
ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ СВЕДЕНИЯ ПО ФИЛОГЕОГРАФИИ ГОЛОГО ЗЕМЛЕКОПА <i>HETEROCERPHALUS GLABER</i> Землемерова Е. Д.....	49



ПРИМЕНЕНИЕ ДИСТАНЦИОННЫХ МЕТОДОВ В ИССЛЕДОВАНИИ МИГРАЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ПЕЛАГИЧЕСКОЙ АМФИПОДЫ <i>MACRONESTORUS BRANICKII</i> (ДУВ.) Карнаухов Д.Ю., Теплых М.А., Бирицкая С.А., Долинская Е.М., Зилов Е.А.....	50
БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЧВ И ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ЕЛОВЫХ ЛЕСОВ ПЕЧОРО-ИЛЫЧСКОГО ЗАПОВЕДНИКА Квиткина А.К., Смирнов Н.С.....	50
ЗАГРЯЗНЕНИЕ ХЛОРООРГАНИЧЕСКИМИ ПЕСТИЦИДАМИ ЭКОСИСТЕМЫ АЗОВСКОГО МОРЯ В 2018 Г. Котов С.В.....	51
ВЛИЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА ПОКАЗАТЕЛИ АОС В ТКАНЯХ ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА <i>ANODONTA CYGNEA</i> L. Курпе С.Р., Суховская И.В., Кочнева А.А.....	52
СКОЛЬКО ЛЕТ ЖИВУТ <i>MASOMA CALCAREA</i> (GMELIN) В БЕЛОМ МОРЕ: ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВОЗРАСТА ПО ВНЕШНЕЙ МОРФОЛОГИИ И СПИЛАМ РАКОВИНЫ Лисицына К.Н., Герасимова А.В.....	53
ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МИКРОВОДОРОСЛИ <i>CHLORELLA</i> SP. ДЛЯ СНИЖЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ТЯЖЁЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ Мамедова Л.В., Худокормов А.А., Волченко Н.Н., Самков А.А.....	54
ОСОБЕННОСТИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ДЕГРАДАЦИИ КОМПОЗИЦИОННЫХ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ Мельникова А.А., Орехова В.А., Комарова Л.Н.....	55
ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОГЕННОСТИ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫХ МИКРОКАПСУЛ В ПЕРВИЧНОЙ КУЛЬТУРЕ ГЕМОЦИТОВ АМФИПОД Назарова А.А., Гурков А.Н., Щапова Е.П., Тимофеев М.А.....	56
БИОИНДИКАЦИОННАЯ ОЦЕНКА НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННОГО ВОДОЕМА Перминова В.В., Носков Ю.А., Воробьев Д.С.....	57
ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ КОМПЛЕКСА ФАКТОРОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ НА СТРУКТУРУ КАРОТИНОИДОВ ЛИСТЬЕВ <i>CERATOFILLUM DEMERSUM</i> L. И <i>BETULA PENDULA</i> ROTH. Порочкин А.В., Макурина О.Н.....	58
МЕХАНИЗМЫ ВОСПРОИЗВОДСТВА МЕЖВИДОВЫХ ГИБРИДОВ ЗЕЛЁНЫХ ЛЯГУШЕК КОМПЛЕКСА <i>PELOPHYLAX ESCULENTUS</i> В ПОПУЛЯЦИОННЫХ СИСТЕМАХ ПОЛЬШИ: ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ Рюмин С.С., Дедух Д.В.....	59
ПИТАНИЕ МОЙВЫ ( <i>MALLOTUS VILLOSUS</i> ) В КАНДАЛАКШСКОМ ЗАЛИВЕ БЕЛОГО МОРЯ Смирнова К.А., Демчук А.С., Бахвалова А.Е., Полякова Н.В., Иванов М.В., Иванова Т.С., Лайус Д.Л.....	60
ТРАНСПОРТ ЦЕОЛИТОВЫХ НАНОЧАСТИЦ В ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОМ ТРАКТЕ МЫШИ Степанова Т.А., Панайт А.И., Суворов О.А., Кузнецов А.Л., Погорелова М.А.....	61



РАЗНООБРАЗИЕ ТОНАЛЬНЫХ СИГНАЛОВ БЕЛУХ ( <i>DELPHINAPTERUS LEUCAS</i> ) СОЛОВЕЦКОГО РЕПРОДУКТИВНОГО СКОПЛЕНИЯ (ПО МАТЕРИАЛАМ ПОЛЕВОГО СЕЗОНА 2018 Г.) Таганова М.М., Беликов Р.А.....	61
НОЧНОЕ МИГРАЦИОННОЕ СООБЩЕСТВО ОЗ. БАЙКАЛ В НАЧАЛЕ НОЧИ В ПОЗДНЕОСЕННИЙ ПЕРИОД Теплых М.А., Долинская Е.М., Бирицкая С.А., Карнаухов Д.Ю., Зилов Е.А.....	62
СОСТОЯНИЕ ДРЕВЕСНЫХ ЗЕЛЕННЫХ НАСАЖДЕНИЙ В ЗОНЕ АКТИВНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ АВТОТРАНСПОРТА НА ПРИМЕРЕ Г. ИЖЕВСКА Федоров А.М.....	63
РТУТЬ В ТКАНЯХ РЫЖЕЙ ЛИСИЦЫ ИЗ РАЙОНОВ ВОЛОГОДСКОЙ ОБЛАСТИ С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ РАЗВИТИЯ ПРОМЫШЛЕННОСТИ Хабарова Л.С.....	64
О ЗАРАЖЕННОСТИ КАРПА <i>CYPRINUS CARPIO</i> (LINNAEUS, 1758) МОНОГЕНЕЯМИ РОДА <i>DASTYLOGYRUS</i> (DIESING, 1850) Хорошельцева В.Н., Бортников Е.С.....	65
КАЧЕСТВО ПЫЛЬЦЫ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ, ПРОИЗРАСТАЮЩЕЙ В РАЗЛИЧНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ Г. ВОРОНЕЖА Чугреев М.Ю.....	66
ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА ФЛУКТУИРУЮЩЕЙ АСИММЕТРИИ НАДКРЫЛИЙ ЖУЖЕЛИЦ ТУЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ Шатрова Т.О.....	67
ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ХЛОРОФИЛЛА "А" В ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЯХ РЕКИ ТЕМЕРНИК Экилик В.С., Ермакова Я.С.....	68
ЭВОЛЮЦИЯ ПАРАМЕТРОВ ЖИЗНЕННОГО ЦИКЛА <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> В РЕЗУЛЬТАТЕ ОТБОРА НА ПОЗДНЕЕ РАЗМНОЖЕНИЕ Яковлева Е.Ю.....	68

### Секция "Почвоведение и аэгроэкология"

ВЛИЯНИЕ МИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА РАСТИТЕЛЬНЫЙ И ПОЧВЕННЫЙ ПОКРОВ ВЫРАБОТАННЫХ ТОРФЯНИКОВ ВЕРХОВОГО ТИПА ПРИ ВОЗДЕЛЫВАНИИ ГОЛУБИКИ ВЫСОКОРОСЛОЙ Антохина С.П., Яковлев А.П., Булавко Г.И., Картыжова Л.Е., Алещенкова З.М.....	69
ИЗМЕНЕНИЕ КАРБОНАТНОГО СОСТОЯНИЯ ЗАЛЕЖНЫХ ПОЧВ (НА ПРИМЕРЕ ЗАКАЗНИКА «СТЕПЬ ПРИАЗОВСКАЯ», РОСТОВСКАЯ ОБЛАСТЬ) Булышева А.М., Хохлова О.С., Мякшина Т.Н.....	70
БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЧЕРНОЗЕМА ЮЖНОГО ПРИ РАЗЛОЖЕНИИ РАСТИТЕЛЬНОГО СУБСТРАТА Гритчин М.В., Каменева И.А.....	71
СЕЗОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЫ Железова А.Д., Чернов Т.И., Тхакахова А.К., Ксенофонтова Н.А., Никитин Д.А., Кутовая О.В.....	72



ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ ГИДРОЛАЗНЫХ И ОКСИДОРЕДУКТАЗНЫХ ФЕРМЕНТОВ ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ЛЕГКОСУГЛИНИСТОЙ ПОЧВЫ ПОД ДЕЙСТВИЕМ БЕНТОНИТОВОЙ ГЛИНЫ Козлов А.В.....	73
ИЗМЕНЕНИЕ СВОЙСТВ ЛУГОВО-ЧЕРНОЗЕМНЫХ ПОЧВ ПОД ВЛИЯНИЕМ ПРОДУКТОВ ЭРОЗИИ ОТВАЛОВ СУЛЬФИДСОДЕРЖАЩИХ ПОРОД Костин А.С., Кречетов П.П.....	74
НАКОПЛЕНИЯ РВ И СD В УРОЖАЕ ЗЕРНОВЫХ И ПРОПАШНЫХ КУЛЬТУР ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СИСТЕМАХ УДОБРЕНИЙ НА ЧЕРНОЗЕМНЫХ ПОЧВАХ Курбаков Д.Н., Кузнецов В.К.....	75
ПОЧВЫ РАЗЛИЧНЫХ АГРОКЛИМАТИЧЕСКИХ РАЙОНОВ ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ Лазарева М.А.....	76
ПОЧВЕННО-ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЕЛЕНИЯ «ОРОШАЕМОЕ» СТЕПНОЙ ЗОНЫ НИЖНЕГО ЗАВОЛЖЬЯ Овчинников А.Ю.....	77
АКТИВНАЯ МИКРОБНАЯ БИОМАССА ДРЕВНИХ И СОВРЕМЕННЫХ ПОЧВ АРХЕОЛОГИЧЕСКИХ ПАМЯТНИКОВ НА СЕРЫХ ЛЕСНЫХ ПОЧВАХ ЦЕНТРАЛЬНОЙ РОССИИ Петросян А.А., Плеханова Л.Н.....	77
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПОЧВОГРУНТОВ КРЕМИРОВАННЫХ ЗАХОРОНЕНИЙ НА ФОНЕ СЕРЫХ ЛЕСНЫХ ПОЧВ Петросян А.А., Плеханова Л.Н....	78

### **Секция "Биомедицина и биофармацевтика"**

ИЗУЧЕНИЕ ФРАКЦИЙ ФОСФОЛИПИДОВ КРОВИ БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ Артыкбаева Г.М., Саатов Т.С.....	79
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ГИСТОНОВ ДЛЯ ДОСТАВКИ ПЛАЗМИДНОЙ ДНК В КЛЕТКИ ОПУХОЛЕЙ Атрощик Е.А., Потапов В.К., Зиновьева М.В., Алексеенко И.В.....	80
ИЗУЧЕНИЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОГО, АНТИАПОПТОТИЧЕСКОГО И ПРОЛИФЕРАТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ КСИМЕДОНА, L-АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ И КОНЬЮГАТА КСИМЕДОНА С L-АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТОЙ Беляев Г.П., Выштакалюк А.Б., Гумарова Л.Ф., Парфенов А.А., Хасаншина Л.Р., Повышева Т.В., Семенов В.Э., Галяметдинова И.В., Зобов В.В.....	81
РОЛЬ МОНООКСИДА УГЛЕРОДА В РЕГУЛЯЦИИ КАЛЬЦИЙ-ЗАВИСИМОЙ ГИПЕРПОЛЯРИЗАЦИИ МЕМБРАНЫ ЭРИТРОЦИТОВ Бирулина Ю.Г., Казакова Н.А., Балданова Ю.Ч., Петрова И.В.....	82
СОЗДАНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ЛИНИЙ ИНДУЦИРОВАННЫХ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА, НЕСУЩИХ ТРАНСГЕН ПРОГРАММИРУЕМОЙ НУКЛЕАЗЫ ASCPF1 (CAS12A) Вартанова В.А., Коваленко В.Р...83	83



ПОМОГУТ ЛИ ЛИПОСОМЫ С НАНОЧАСТИЦАМИ МАГНЕТИТА ДЛЯ МРТ-ДИАГНОСТИКИ ВЫРАЖЕННОСТИ EPR-ЭФФЕКТА В ОПУХОЛЯХ ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ	Водопьянов С.С., Власова К.А., Науменко В.А., Абакумов М.А., Мажуга А.Г.....	84
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТРАНСФИЦИРУЮЩИХ СИСТЕМ ДЛЯ ДОСТАВКИ siRNA В КУЛЬТУРЫ НЕК-293 И ММСК	Галицына Е.В., Бухарова Т. Б., Гольдштейн Д. В.....	85
ИЗУЧЕНИЕ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ РИАМИЛОВИРА С ОСЕЛЬТАМИВИРОМ НА МОДЕЛИ ГРИППОЗНОЙ ПНЕВМОНИИ МЫШЕЙ	Глубокова Е.А., Карташова Н.П., Фалынскова И.Н., Махмудова Н.Р., Ленёва И.А., Макарова О.В., Мхитаров В.А., Джалилова Д.Ш.....	86
ЗАЩИТНЫЙ ЭФФЕКТ ПЕРОКСИРЕДОКСИНА 2 ПРИ ИШЕМИЧЕСКИ – РЕПЕРФУЗИОННОМ ПОРАЖЕНИИ ПОЧЕК	Гончаров Р.Г., Шарапов М.Г.....	87
ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЛЕЙКОЦИТОВ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ НОВЫХ АНТИМИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ	Волкова Л.В., Гришина Т.А.....	88
ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСПРЕССИИ TRAIL-РЕЦЕПТОРОВ У МАКРОФАГОПОДОБНЫХ КЛЕТОК ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА	Евстратова Я.В., Кобякова М.И., Фадеев Р.С., Акатов В.С., Кирсанова П.О.....	89
ВЛИЯНИЕ ИНЪЕКЦИЙ АЛЛОГЕННОГО ГИДРОКСИАПАТИТА НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ КОСТНОЙ ТКАНИ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОСТЕОРЕЗОРБЦИИ	Ерина Н.М., Романова Д.А., Даниэль М.А., Горченкова М.Ю., Глотов А.А., Власов М.Ю., Писарева Е.В., Волова Л.Т., Скрипачева О.В., Дорошенко Е.А., Тимченко Е.В., Нефедова И.Ф.....	90
ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕЦИФИКИ ТКАНЕВОЙ ИНТЕГРАЦИИ МАТЕРИАЛОВ С ПОЛЯРНОЙ СТРУКТУРОЙ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА	Звягина А.И., Кирсанова П.О., Фадеева И.С., Минайчев В.В., Одинцова О.А., Акатов В.С.....	91
ПРОГАСТРИН КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ МАРКЕР В ДИАГНОСТИКЕ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ	Золотых М.А., Гафурбаева Д.У., Филина Ю.В., Садикова Г.И., Ахунзянов А.А., Мифтахова Р.Р., Ризванов А.А.....	92
ИССЛЕДОВАНИЕ ОСАЖДЕНИЯ ЗАРЯЖЕННОГО АЭРОЗОЛЯ В ЛЕГКИХ МЫШЕЙ	Канев И.Л., Шляпникова Е.А., Михеев А.Ю., Шляпников Ю.М., Морозов В.Н.....	92
ВЛИЯНИЕ НА ИММУНУЮ СИСТЕМУ СУБСТАНЦИИ ИЗ ПЕПТИДНЫХ СОЕДИНЕНИЕ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ВИРУСНОМ ГЕПАТИТЕ	Кахаров Б.А., Джураева Ш.И.....	93
АНТИПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ГЛИКОПРОТЕИДОВ CUSCUTA EUROPEAE	Кахорова К.А., Хашимова Г.Я., Рахматуллаев Э.А., Хащимова З.С.....	94



ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ P2Y-РЕЦЕПТОРОВ В ПРОЦЕССЕ АДИПОГЕННОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК Котова П.Д.....	95
АСТАКСАНТИН ИНДУЦИРУЕТ ОТКРЫТИЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПОРЫ В МИТОХОНДРИЯХ СЕРДЦА КРЫС Крестинин Р.Р., Бабурина Ю.Л., Одиноква И.В., Сотникова Л.Д., Крестинина О.В.....	96
ИССЛЕДОВАНИЕ БИСОВМЕСТИМОСТИ И ОСТЕОГЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА КОМПОЗИЦИЙ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНОВОГО И КОЛЛАГЕНОВОГО ГИДРОГЕЛЕЙ, ИМПРЕГНИРОВАННЫХ RНVMP-2, НА МОДЕЛЯХ КРЫС Кузнецова В.С., Васильев А.В., Бухарова Т.Б., Загоскин Ю.Д., Григорьев Т.Е., Осидак Е.О., Фатхудинова Н.Л., Галицына Е.В., Бабиченко И.И., Домогатский С.П., Чвалун С.Н., Гольдштейн Д.В., Кулаков А.А.....	96
ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ БАНКОВ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ-ПРОДУЦЕНТА АНТИТЕЛА К СТЛА-4 В СООТВЕТСТВИИ С РЕКОМЕНДАЦИЯМИ IСН Кузнецова Я.А., Таранов А.И., Басовский Ю.И.....	97
РАЗРАБОТКА МОДЕЛИ ВТОРИЧНОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИИ, ИНДУЦИРОВАННОЙ S.PNEUMONIA, ПОСЛЕ ГРИППОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ ЛАБОРАТОРНЫМ И ПАНДЕМИЧЕСКИМ ШТАММАМИ ВИРУСА ГРИППА H1N1 Ленева И.А., Егоров А.Ю., Фалынскова И.Н., Махмудова Н.Р., Карташова Н.П., Глубокова Е.А., Вартанова Н.О., Поддубиков А.В.....	98
ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ INDOLINE-3,3-PYRROLIZIN M215 И M216 НА ПОВЕДЕНЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ВЗРОСЛЫХ ОСОБЕЙ DANIO RERIO В ТЕСТЕ «NOVEL TANK»: ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ Леонтьева Е.А., Бытов М.В., Хацко С.Л., Барков А.Ю., Коротаев В.Ю.....	99
3-ЦИАНО-4-МЕТИЛ-2,6-ДИОКСОПИРИДИН-5-АМИНОЕНОНЫ – НОВЫЙ КЛАСС ИНГИБИТОРОВ GSK3-В КИНАЗЫ Лысенко А.С., Якименко Д.Д., Тилинин М.С., Самохвалова М.С., Малышева И. А.....	100
СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПОДАВЛЕНИЯ ЛПС-ИНДУЦИРОВАННОЙ СЕКРЕЦИИ ЦИТОКИНОВ АНТАГОНИСТОМ TLR4 И ИНГИБИТОРОМ P38 МАРК Морозова А.А., Радзюкевич Я.В., Кабанов Д.С., Прохоренко И.Р.....	101
УЧАСТИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК В ВОССОЗДАНИИ НИШИ СТВОЛОВЫХ И ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК IN VITRO Новоселецкая Е.С., Сагарадзе Г.Д., Басалова Н.А., Григорьева О.А., Нибирицкий П.П., Макаревич П.И., Ефименко А.Ю.....	102
ИССЛЕДОВАНИЕ ХЕЛАТИРУЮЩИХ СВОЙСТВ NDCTR1 И РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ЕГО ВЫДЕЛЕНИЯ Орлов Ю.А.....	103
СТРУКТУРА И СВОЙСТВА БИОПЛЁНОК НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА И ПОЛИВИНИЛОВОГО СПИРТА, ПОЛУЧЕННЫХ В СРЕДЕ СВЕРХКРИТИЧЕСКОГО	





ДИОКСИДА УГЛЕРОДА Петленко А.А., Чащин И.С., Крашенников С.В., Абрамчук С.С., Анучина Н.М., Григорьев Т.Е., Бакулева Н. П.....	104
НОВЫЙ ТЕРАНОСТИЧЕСКИЙ АГЕНТ НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ЦЕРИЯ, ДОПИРОВАННЫХ ГАДОЛИНИЕМ Попов А.Л., Баранчиков А.Е., Иванова О.С., Ермаков А.М., Савинцева И.В., Колманович Д.Д., Аккизов А.Ю., Попова Н.Р., Шекунова Т.О., Иванов В.К.....	105
СЕЛЕКТИВНАЯ ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ НАНОКРИСТАЛЛИЧЕСКОГО ТРИОКСИДА ВОЛЬФРАМА IN VITRO Шекунова Т.О., Иванова О.С., Ермаков А.М., Савинцева И.В., Колманович Д.Д., Аккизов А.Ю., Баранчиков А.Е., Попов А.Л.....	106
АНАЛИЗ МЕТАБОЛОМА СЫВОРОТКИ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГХ-МС С ЦЕЛЬЮ ВЫЯВЛЕНИЯ БИОМАРКЕРОВ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИХ РЕГУЛЯТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ НА КЛЕТОЧНОЙ МОДЕЛИ ЗАБОЛЕВАНИЯ Салль Т.С., Демьянова Е.В., Щербакова Е.С., Жахов А.В., Ищенко А.М., Ситкин С.И., Вахитов Т.Я.....	106
РАЗРАБОТКА ПОДХОДОВ ПРИЦЕЛЬНОЙ ЭЛИМИНАЦИИ АУТОРЕАКТИВНЫХ Т- И В-ЛИМФОЦИТОВ Скрябина М.Н., Карагяур М.Н.....	107
ИЗМЕНЕНИЕ БИОФИЗИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЭРИТРОЦИТОВ В УСЛОВИЯХ АКТИВАЦИИ ПУРИНЕРГИЧЕСКОЙ СИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ Сладкова Е.А.....	108
АКТИВАЦИЯ АЛЬФА2-АДРЕНЕРГИЧЕСКИХ РЕЦЕПТОРОВ ЗАЩИЩАЕТ КЛЕТКИ МОЗГА ОТ СИНДРОМА ГИПЕРВОЗБУДИМОСТИ И ГИБЕЛИ ПРИ ИШЕМИИ Туровская М.В., Гайдин С.Г., Мальцева В.Н., Туровский Е. А.....	109
ИССЛЕДОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КОАГУЛЯЦИОННОГО ЗВЕНА ГЕМОСТАЗА МЫШЕЙ CD 1 НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ ПАКЛИТАКСЕЛА Филонова М. В., Федорова Е.П., Чурин А.А.....	110
СПОСОБ ОЦЕНКИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ Р-ГЛИКОПРОТЕИНА В ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОМ БАРЬЕРЕ Черных И.В., Щулькин А.В., Мыльников П.Ю., Гацанога М.В., Сеидкулиева А.А.....	111
ИССЛЕДОВАНИЕ ПРЕПАРАТОВ ПИРИМИДИНОВОГО РЯДА НА КЛЕТОЧНОМ И ОРГАНИЗМЕННОМ УРОВНЕ НА МОДЕЛИ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЛАНАРИЙ GIRARDIA TIGRINA Чешаева А.О., Нефедова С.Е., Порфирьев А.Г., Тирас Х. П.....	112
ЛИЗИС БАКТЕРИЙ РОДОВ PSEUDOMONAS И BACILLUS С ПОМОЩЬЮ ФАГОСПЕЦИФИЧЕСКИХ ПЕПТИДАЗ Шадрин В.С., Мачулин А.В., Чернышов С.В., Дорофеева Л.В., Микулинская Г.В.....	113
РОЛЬ АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИНА В РЕГУЛЯЦИИ ПРОЛИФЕРАЦИИ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ Т-ХЕЛПЕРОВ 17 ТИПА (TH17) Шардина К.Ю., Тимганова В.П., Бочкова М.С., Заморина С.А.....	114



АНАЛИЗ ТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА КОМБИНАЦИИ ВЕЩЕСТВ ДИЭТИЛДИТИОКАРБАМАТА И ГИДРОКСИКОБАЛАМИНА Шошина О.О., Соловьева М.Е., Акатов В.С.....115

УРОВЕНЬ МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОВ, СВЯЗАННЫХ С ТЯЖЕСТЬЮ СПИНАЛЬНОЙ МЫШЕЧНОЙ АТРОФИИ Штыкалова С.В., Маретина М.А., Цыганова Н.А., Егорова А.А., Валетдинова К.Р., Закиян С.М., Баранов В.С., Киселев А.В.....116

РАЗРАБОТКА ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА НА ОСНОВЕ КОСТНОЙ КРОШКИ И МИКРОРАЗМЕРНОГО ГИДРОКСИАПАТИТА Минайчев В.В., Кирсанова П. О., Сенотов А.С., Фадеева И.С., Звягина А. И., Одинцова О.А., Акатов В.С.....117

ПОВЫШЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ КЛЕТОК ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА К ДЕЙСТВИЮ ГЕНОТОКСИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ АКТИВАЦИИ ГОМОТИПИЧЕСКОЙ МЕЖКЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИИ Кобякова М.И., Сенотов А.С., Евстратова Я.В., Краснов К.С., Кирсанова П.О., Акатов В.С., Фадеев Р.С.....118

ВЛИЯНИЕ НАНОТОПОЛОГИИ НА МОРФОЛОГИЮ НЕЙРОНАЛЬНЫХ КЛЕТОК Антонова О.Ю., Кочеткова О.Ю., Евстратова Я.В., Михеев А.Ю.....119

### **Секция "Биотехнология и приборостроение"**

ОЦЕНКА РЕГЕНЕРАЦИОННОЙ И ТРАНСФОРМАЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ КАРТОФЕЛЯ КАЗАХСТАНСКОЙ И ЗАРУБЕЖНОЙ СЕЛЕКЦИИ Александрова А.М., Карпова О.В., Ерискина Е.А., Жиенова И.Т., Крылдаков Р.В., Полимбетова Н.С., Искаков Б.К.....120

ВЛИЯНИЕ МХА SPHAGNUM L. НА РИЗОГЕНЕЗ EX VITRO РАСТЕНИЙ-РЕГЕНЕРАНТОВ VACCINIUM SPP. Божидай Т.Н.....121

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЦЕЛЛЮЛОЗОЛИТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА МИКРОМИЦЕТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ АГРОЦЕНОЗОВ КАЗАХСТАНА Бражникова Е.В., Мукашева Т.Д., Игнатова Л.В.....122

ИЗУЧЕНИЕ ПАТОГЕННОСТИ МУТАЦИЙ ГЕНА CFTR НА МОДЕЛИ КИШЕЧНЫХ ОРГАНОИДОВ Булатенко Н.В., Ефремова А.С., Бухарова Т.Б., Петрова Н.В., Каширская Н.Ю., Кондратьева Е.И., Девришев Д.А., Гольдштейн Д.В.....123

СОЗДАНИЕ БЕЛКОВЫХ ПОКРЫТИЙ ИЗ СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА НА ПОВЕРХНОСТИ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ И РАЗРАБОТКА ПОДХОДОВ К ИССЛЕДОВАНИЮ ИХ УСТОЙЧИВОСТИ Бычкова А.В., Лопухова М.В., Садыкова Э.З., Костанова Е.А., Шалупов А.И., Вассерман Л.А., Абдуллина М.И., Колотаев А.В., Хачатрян Д.С.....124

ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ШУНГИТА ДЛЯ ИММОБИЛИЗАЦИИ КЛЕТОК ЛАСТОВАСИЛЛУС АСИДОФИЛУС Васильева А.В., Сидорова Н.А.....125



РАЗРАБОТКА ПРОГРАММЫ ОЦЕНКИ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ПАРАМЕТРОВ РАСТЕНИЙ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИХ АКТИВНОСТЬ ФОТОСИСТЕМЫ 2	Васильева А.Г., Сивашева Т.Н., Креславский В.Д.....	126
ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА CPF1, ВХОДЯЩЕГО В СИСТЕМУ CRISPR/CAS, ИЗ БАКТЕРИИ MORAXELLA BOVIS	Васиховская В.А., Романенко М.В., Нетёсов С.В.....	127
ПРИМЕНЕНИЕ СИСТЕМЫ ИЗ ЧЕТЫРЁХ ЦИФРОВЫХ МИКРОМАНИПУЛЯТОРОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ ОДИНОЧНЫХ КАРДИОМИОЦИТОВ	Волжанинов Д.А., Мячина Т.А., Бутова К.А., Хохлова А.Д.....	128
ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТОВ РАСТЕНИЙ SALVIA TESQUICOLA KLOK. ET ROVED И S. PRATENSIS L. (LAMIACEAE)	Глодик Т.В., Семькина В.В., Маслова Е.В.....	129
ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ СВЕТОДИОДНОГО ОСВЕЩЕНИЯ НА ДИНАМИКУ РОСТА И РАЗВИТИЯ SOLANUM TUBEROSUM L. В КУЛЬТУРЕ IN VITRO	Дяченко Я.В., Маслова Е.В., Яценко В.М., Ромаданова Н.В.....	129
ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТЕЙ И ПЕРСПЕКТИВ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ: БИОФАБРИКАЦИЯ ПОЛЫХ ОРГАНОВ	Евстратова Е.С., Елисеева Ю.И., Филимонова А.Н., Шегай П.В.....	130
ОРГАНЫ-НА-ЧИПЕ КАК АЛЬТЕРНАТИВА ТРАДИЦИОННЫМ МОДЕЛЯМ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР И ЖИВОТНЫХ	Елисеева Ю.И., Шегай П.В., Евстратова Е.С., Филимонова А.Н.....	131
ИЗУЧЕНИЕ МОРФОГЕННО-РЕГЕНЕРАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА ПРОСА ПРУТЬЕВИДНОГО В КУЛЬТУРЕ IN VITRO	Жумабек А.Т., Рахимжанова А.О., Беккужина С.С., Манабаева Ш.А.....	132
РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ МИКРОКЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ И ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ КОК-САГЫЗА (TARAXACUM КОК-SAGHYS RODIN)	Иванова А.С., Вербицкая А.А., Гапоненко А.К.....	133
ОПТИМИЗАЦИЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОПЕСТИЦИДОВ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИЙ РОДА BACILLUS	Козицын А.Е.....	134
АГРОБАКТЕРИАЛЬНАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ РЯСКИ МАЛОЙ (LEMNA MINOR) ГЕНОМ ГИРУДИНА VAR. 1	Козлов О.Н., Митюшкина Т.Ю., Тарасенко И.В., Шалойко Л.А., Фирсов А.П., Долгов С.В.....	135
СОЗДАНИЕ УНИВЕРСАЛЬНОЙ РЕЦИПИЕНТНОЙ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ САЙТ-СПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕКОМБИНАЦИИ	Козлова Е.С., Козлов А.Е., Доронин А.Н., Басовский Ю.И., Соловьев В.В.....	136
ГЕН MEDICAGO TRUNCATULA M2WOX9-1 В СОМАТИЧЕСКОМ ЭМБРИОГЕНЕЗЕ	Красноперова Е.Ю., Творогова В.Е., Лутова Л.А.....	137



ОЦЕНКА МИКРОБНОГО СОСТАВА КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ С ПОМОЩЬЮ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ Курина И.О., Тяхт А.В., Клименко Н.С., Демиденко А.В., Гачковская А.М., Бережная Ю.А., Алексеев Д.Г.....	137
ПРИМЕНЕНИЕ АППАРАТНО-ПРОГРАММНЫХ СРЕДСТВ ARDUINO ДЛЯ ПОСТРОЕНИЯ ПРОСТЫХ ИЗМЕРИТЕЛЬНЫХ ПРИБОРОВ В ЭКСМЕРИМЕНТАХ С МИКРОБНЫМИ ТОПЛИВНЫМИ ЭЛЕМЕНТАМИ (МТЭ) Лазукин А.А., Волченко Н.Н., Самков А.А., Архипова А.С., Худокормов А А.....	138
РАЗРАБОТКА ТКАНЕИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ НА ОСНОВЕ АМНИОТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ЭПИТЕЛИЯ РОГОВИЦЫ Машель Т.В., Александрова О.И., Гаврилюк И.О., Блинова М.И.....	139
ВЫДЕЛЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНЫХ ПРОДУЦЕНТОВ БИОЦЕЛЛЮЛОЗЫ Нагметова Г.Ж., Курманбаев А.А.....	140
РАЗРАБОТКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО БИОРЕАКТОРА ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ ПРОЦЕССОВ БИОТРАНСФОРМАЦИИ ВОДОРОДА В МЕТАН ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ТРЁХ РАЗЛИЧНЫХ КОНСТРУКЦИЙ БИОРЕАКТОРОВ Нечаева А.И., Бояршин К.С., Сенченков В.Ю., Мердинг М., Ламмерс Г., Батлуцкая И.В.....	141
РЕГУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА ПОЛИАМИНОВ В ШТАММАХ ACREMONIUM CHRYSOGENUM РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ Нураева Г.К., Хомутов М.А., Жгун А.А.....	142
ЭЛЕКТРОСПИННИНГ СМЕСЕЙ ИЗ ПОЛИЛАКТИДА И ГЛОБУЛЯРНЫХ БЕЛКОВ Павлова Е.Р., Графская Е.Н., Багров Д.В., Клинов Д.В.....	143
РАЗРАБОТКА АДРЕСНОЙ СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА Пельтек А.А., Муслимов А.Р., Зюзин А.Р., Тимин А.С.....	144
ВЛИЯНИЕ СООТНОШЕНИЯ C:N В СРЕДЕ НА СИНТЕЗ ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТОВ В КУЛЬТУРЕ БАКТЕРИЙ SUPRIAVIDUS EUTROPHUS В-10646 Петровская О.Д., Петровская О.Д., Барановский С.В.....	145
НИЗКОТЕМПЕРАТУРНАЯ КОНСЕРВАЦИЯ ЦИАНОБАКТЕРИЙ (SPIRULINA, ARTHROSPIRA) Петрухина Д.И.....	146
ПОЛУЧЕНИЕ И АНАЛИЗ ТРАНСГЕННОГО КАРТОФЕЛЯ С БЕЛКОВЫМ РН-СЕНСОРОМ RT-GFP Печёрина А.А., Агеева М.Н., Гринберг М.А., Здобнова Т.А., Брилкина А.А.....	147
ИССЛЕДОВАНИЕ ПАРАМЕТРОВ КУЛЬТИВАЦИИ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ СНО С-Р1.3-FSH-G4 - ПРОДУЦЕНТА РЕКОМБИНАНТНОГО ФОЛЛИКУЛОСТИМУЛИРУЮЩЕГО ГОРМОНА ЧЕЛОВЕКА Синегубова М.В., Ковнир С.В., Орлова Н.А., Ползиков М.А., Воробьёв И.И.....	148



ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНЫХ И ПРОТИВОМИКРОБНЫХ СВОЙСТВ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ КОМПОНЕНТОВ SOLANUM NIGRUM L. Стеценко Д.С., Клепикова А.В., Астафьева О.В.....	149
ЛИМИТАЦИЯ ЭЛЕКТРОГЕНЕЗА МИКРОБНОГО ТОПЛИВНОГО ЭЛЕМЕНТА МАССОПЕРЕНОСОМ В АНОДНОЙ КАМЕРЕ Филиппова К.А., Самков А.А., Волченко Н.Н., Лазукин А.А., Худокормов А.А.....	150
КО-ЭКСПРЕССИЯ ШАПЕРОНОВ КАК СТРАТЕГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ РАСТВОРИМЫХ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ В КЛЕТКАХ E. COLI Хасанов И.В., Потапович М.И., Прокулевич В.А.....	151
ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ БЕНТОСНЫХ МИКРОБНЫХ ТОПЛИВНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ПРОТОЧНОГО ТИПА В УСЛОВИЯХ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ТОКСИЧНЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ Хижняк Е.И., Волченко Н.Н., Самков А.А., Лазукин А.А., Худокормов А.А.....	152
ПРИМЕНЕНИЕ ГИДРОГРАНУЛ В КАЧЕСТВЕ НАПОЛНИТЕЛЯ ДЛЯ ИММОБИЛИЗАЦИИ МЕТАНОГЕННОЙ МИКРОФЛОРЫ В БИОРЕАКТОРЕ СО СТРУЙНЫМ ТЕЧЕНИЕМ Ходжаев Ю.Р.У., Бояршин К.С., Hofstede G., Lammers G.....	153
ДОПЛЕРОМЕТРИЯ ДИАСТОЛИЧЕСКОГО ОТНОШЕНИЯ ЛЕВОГО ИЛИ ПРАВОГО ЖЕЛУДОЧКА СЕРДЦА ПЛОДА ЧЕЛОВЕКА ПРИ ДОМАШНЕМ МОНИТОРИРОВАНИИ Черкашина Л.А., Минаев Н.С., Минаев И.С., Казанцев А.П.....	154
ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КОМАГАТОЕВБАСТЕР RNAETICUS ВКПМ В-13015 НА СИНТЕЗ НАНОЦЕЛЛЮЛОЗЫ Шкоденко Л.А., Мигунова А.В., Ткаченко А.А.....	155
ДИНАМИКА РОСТА RHYLLOBACTERIUM IFRIQIYENSE 6 В УСЛОВИЯХ ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ Якубовская А.И., Каменева И.А.....	156

### **Секция "Биохимия"**

МОДИФИКАЦИИ МОЛЕКУЛЫ ФИБРИНОГЕНА, ВЫЗВАННЫЕ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫМ ОКИСЛЕНИЕМ Азарова Д.Ю., Зарудная Е.Н., Юрина Л.В., Васильева А.Д., Розенфельд М.А.....	157
ОСОБЕННОСТИ ПРОТЕОМНОГО СОСТАВА МИКРОВЕЗИКУЛ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ НК-92 Александрова Е.П., Балабас О.А., Лобов А.А.....	158
РОЛЬ СТАТУСА МЕТИЛИРОВАНИЯ СРР-ОСТРОВКОВ ПРОМОТОРОВ ГЕНОВ OGDH-1, OGDH-2, OGDH-3 В РЕГУЛЯЦИИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ 2-ОКСОГЛУТАРАТДЕГИДРОГЕНАЗНОГО КОМПЛЕКСА В ЩИТКАХ КУКУРУЗЫ ZEA MAYS L. ПРИ ЕЕ ПРОРАСТАНИИ Анохина Г.Б., Дедов Я.И., Оя П.С.....	159
ИЗМЕНЕНИЕ СОСТАВА ФОСФОЛИПИДОВ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ КРЫС ПРИ УМЕРЕННОЙ ГИПОТЕРМИИ Бейбалаева А.К.....	160



ПЕПТИДЫ И МАЛЫЕ БЕЛКИ ЭКЗОСОМ ПЛАЦЕНТЫ ЧЕЛОВЕКА Бехтерева А.К....	161
МЕХАНИЗМ ОГРАНИЧЕНИЯ ПОЛИМЕРИЗАЦИИ МОНОМЕРНОГО ФИБРИНА НОВЫМ ПРИРОДНЫМ ПЕПТИДОМ Бояринцев Д.И., Калинин Е.П., Буслаева Н.Н.....	161
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АКТИВНЫХ КОМПОНЕНТОВ ЭКСТРАКТОВ ПЛОДОВ ARONIA MELANOCARPA И SORBUS AUCUPARIA Бушмелева К.Н., Вышкательюк А.Б., Теренжев Д.А., Казимова К.Ш., Растегаев Е.К.....	162
АНАЛИЗ ПОЛНОЦЕННОСТИ КОРМЛЕНИЯ ЛОШАДЕЙ ПО БИОХИМИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ КРОВИ Быстрякова М.С., Зарудная Е.Н.....	163
ГИПОХЛОРИТ-ИНДУЦИРОВАННАЯ ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ ПЛАЗМИНОГЕНА Васильева А.Д., Юрина Л.В., Щеголихин А.Н., Индейкина М.И., Леонова В.Б., Бирюкова М.И., Константинова Т.С., Бугрова А.Е., Кононихин А.С., Николаев Е.Н., Розенфельд М.А.....	164
ВЗАИМОСВЯЗЬ ПЛОТНОСТИ МОЧИ ЖИВОТНЫХ С ОБРАЗОВАНИЕМ НЕРАСТВОРИМЫХ ОСАДКОВ Воронина О.А., Царькова М.С.....	165
N-АЦИЛДОФАМИНЫ: НОВОЕ ПОЛЕ ДЛЯ ПОИСКА АНТИНЕОПЛАСТИЧЕСКИХ АГЕНТОВ Гамисония А.М., Акимов М.Г., Бобров М.Ю., Грецкая Н.М., Безуглов В.В....	166
РОЛЬ ИЗОФЕРМЕНТОВ ДЕКАРБОКСИЛИРУЮЩЕЙ МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В АДАПТИВНОЙ РЕАКЦИИ КЛЕТОЧНОГО МЕТАБОЛИЗМА ПРИ ГИПОКСИИ Гатауллиной М.О., Грибанова А.Е.....	167
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА С ЦЕРУЛОПЛАЗМИНОМ <i>IN VITRO</i> Грищук И.В., Ильичева Е.Ю.....	168
ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ИНТАКТНЫХ МИТОХОНДРИЙ ЛЕТАТЕЛЬНЫХ МЫШЦ ПЧЁЛ ( <i>APIS MELLIFERA L.</i> ) Деревщикова М.И., Саблина И.И., Сыромятников М.Ю.....	169
СВОЙСТВА И ФУНКЦИИ КЛЮЧЕВЫХ ФЕРМЕНТОВ СЕРИНОВОГО ЦИКЛА Егорова С.В., Бут С.Ю.....	169
ПОЛУЧЕНИЕ HSP90-СПЕЦИФИЧЕСКИХ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ И ОЦЕНКА ИХ ПОТЕНЦИАЛА ДЛЯ СОЗДАНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ИММУНОТОКСИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ Жмурина М.А., Снигирева А.В., Петренко В.С., Жалимов В.К., Врублевская В.В., Скарга Ю.Ю., Моренков О.С.....	170
ВЛИЯНИЕ СОВМЕСТНОГО ВВЕДЕНИЯ ВИТАМИНОВ С И Е НА СОДЕРЖАНИЕ ТИОЛОВЫХ ГРУПП В БЕЛКАХ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ КРЫС ПРИ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ Исабекова П.Ш., Алиева Д.М.....	171
ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ГЛИКОЛАТОКСИДАЗЫ И ЛАКТАДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ХЛОРЕЛЛЕ ОБЫКНОВЕННОЙ ( <i>CHLORELLA VULGARIS</i> ), КУЛЬТИВИРУЕМОЙ В РАЗНЫХ УСЛОВИЯХ Комарова Н.Р., Ковалёва Е.В., Миткевич А.В.....	172



АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ПЕПТИДОВ КАЗЕИНОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ МОЛОКА ТРАНСГЕННЫХ КОЗ Костеневич А.А.....	173
ХАРАКТЕРИСТИКА ФУМАРАЗЫ С ИЗ ОБЛИГАТНОГО МЕТАНОТРОФА <i>METHYLOMICROBIUM ALCALIPHILUM</i> 20Z Розова О.Н., Мельников О.И.....	174
ВЛИЯНИЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ КАВЕОЛИНА-1 НА ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С БЕЛКАМИ СЕМЕЙСТВА НЕЙРОНАЛЬНЫХ КАЛЬЦИЕВЫХ СЕНСОРОВ В ФОТОРЕЦЕПТОРНОЙ КЛЕТКЕ Михайлова И.В., Владимиров В.И., Зерний Е.Ю., Зинченко Д.В.....	175
СТИМУЛЯЦИЯ ГЕМОПОЭЗА У ЭМБРИОНОВ КУР КАК СПОСОБ ОПТИМИЗАЦИИ МЕХАНИЗМОВ АДАПТАЦИИ Монстакова Т.В., Кочиш И.И., Азарнова Т.О.....	176
НОВЫЙ ФЛУОРОГЕННЫЙ МЕТОД ИЗМЕРЕНИЯ АКТИВНОСТИ ХОЛИНЭСТЕРАЗ Мухаметгалиева А.Р., Агъямова А.Р., Фатгахова А.Н., Массон П.....	177
С-КОНЦЕВОЙ ДОМЕН ГЕМОЛИЗИНА II В. <i>CEREUS</i> Нагель А.С., Ковалевская Ж.И., Сиунов А.В., Каратовская А.П., Замятина А.В., Руденко Н.В.....	177
ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ИЗОФОРМ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ В НЕОКОРТЕКСЕ И ГИПОКАМПЕ МОДЕЛЬНЫХ МЫШЕЙ СО СПОРАДИЧЕСКОЙ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИЕЙ АЛЬЦГЕЙМЕРОВСКОГО ТИПА Носова М.В., Аветисян А.В., Зарудная Е.Н., Симонян Р.А., Некрасов П.В., Короев Д.О., Зиновкин Р.А., Вольпина О.М.....	178
НЕПРОНИКАЮЩИЕ В КЛЕТКИ ФРАГМЕНТЫ СУРВИВИНА И HSP70/HSP90-ОРГАНИЗУЮЩЕГО БЕЛКА ТОРМОЗЯТ HSP90-ЗАВИСИМУЮ МИГРАЦИЮ И ИНВАЗИЮ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК <i>IN VITRO</i> Петренко В.С., Снигирева А.В., Жмурина М.А., Врублевская В.В., Скарга Ю.Ю., Моренков О.С.....	179
АКТИВНОСТЬ NADH-ДЕГИДРОГЕНАЗЫ, ЦИТОХРОМОКСИДАЗЫ И КАТАЛАЗЫ В НЕОКОРТЕКСЕ И ГИПОКАМПЕ МОДЕЛЬНЫХ МЫШЕЙ ПРИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ АЛЬЦГЕЙМЕРСКОГО ТИПА Пронина А.А., Аветисян А.В., Зарудная Е.Н., Симонян Р.А., Некрасов П.В., Короев Д.О., Зиновкин Р.А., Вольпина О.М., Бобкова Н.В.....	180
КОРРЕКЦИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ В МЫШЦАХ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АЛКОГОЛЬНОМ ПАНКРЕАТИТЕ ФИТОПРЕПАРАТОМ "ТЫКВЕОЛ" Ромашенко А.В., Микашинович З.И.	181
ВЛИЯНИЕ ПОЛИСТИРОЛЬНОГО ЛАТЕКСА С КАРБОКСИЛИРОВАННОЙ ПОВЕРХНОСТЬЮ НА АКТИВНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ ЛИПАЗ Савина А.А., Гарнашевич Л.С., Зайцев С.Ю.....	182
ДЕЙСТВИЕ СФЕРИЧЕСКИХ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА РАЗЛИЧНОГО ДИАМЕТРА НА БАКТЕРИИ И МЛЕКОПИТАЮЩИХ Скоморохова Е.А., Ильичева Е.Ю.....	183



ИНГИБИРОВАНИЕ HYDSL ГИДРОГЕНАЗЫ THIОCAPSA ROSEOPERSICINA ИОНАМИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ Стародубов А. С., Зорин Н. А.....	184
ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА АСТРАГАЛА ОБНАЖЕННОГО НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В КРОВИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ГИПОТЕРМИИ Сулейманова М.Н.....	185
РЕГУЛЯЦИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ МАЛОЙ ГТФ-АЗЫ ARL4C/ARL7 В КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК HELA И VERO ПОСРЕДСТВОМ ВОЗДЕЙСТВИЯ АКТИВАТОРАМИ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА LXR/RXR Улас Е.В., Надеждина Е.С., Бураков А.В.....	186
ИНСТРУМЕНТЫ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ РЕДОКС-РЕГУЛЯЦИИ НЕЙРОНАЛЬНОЙ ПЕРЕДАЧИ Фетисова Е.С., Богданова Ю.А., Потехина Е.С., Белоусов В.В.....	187
NAD(H) РЕГУЛИРУЮТ ОТКРЫВАНИЕ МРТР СО СТОРОНЫ ЦИТОЗОЛЯ Харечкина Е.С., Никифорова А.Б., Одиноква И.В., Крестинина О.В., Бабурина Ю.Л., Круглова С.А., Круглов А.Г.....	188
ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУРАХ ТЕЛА Хизриева С.И., Халилов Р.А., Джафарова А.М.....	189
НЕКОТОРЫЕ СВОЙСТВА МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ЛИПОФУСЦИНА Чаплыгина А.В., Векшин Н.Л.....	190
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К НОРАДРЕНАЛИНУ ЗНАЧИТЕЛЬНО НАРУШЕНА В ЛИНИИ ИММОРТАЛИЗОВАННЫЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ЖИРОВОЙ ТКАНИ Чечехин В. И., Иванова А. М., Тюрин-Кузьмин П.А., Калинина Н. И., Сысоева В. Ю.....	191
МЕТАБОЛИЧЕСКОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ В КОЖЕ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АЛЛЕРГИЧЕСКОМ КОНТАКТНОМ ДЕРМАТИТЕ Чумаченко М.С.....	192
ПРОМЫШЛЕННО ЦЕННЫЕ ОКСИДАЗЫ ГРИБА <i>THIELAVIA OVISPORA</i> Шебанова А.Д., Мясоедова Н.М., Гайдина А.С., Баскунов Б.П., Черных А.М., Ренфельд Ж.В., Понаморева О.Н., Головлева Л.А., Коломыцева М.П.....	193
РАЗНООБРАЗИЕ ФОСФОНОАЦЕТАЛЬДЕГИД ГИДРОЛАЗ У ПОЧВЕННЫХ БАКТЕРИЙ РОДА <i>ACHTROMOBACTER</i> Эпиктетов Д.О., Свиридов А.В., Леонтьевский А.А.....	194
ГИПОХЛОРИТ-ИНДУЦИРОВАННАЯ ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ ФИБРИНОГЕНА: СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ НАРУШЕНИЯ Юрина Л.В., Васильева А.Д., Бугрова А.Е., Индейкина М.И., Азарова Д.Ю., Кононихин А.С., Николаев Е.Н., Розенфельд М.А.....	195





## Секция "Микробиология и вирусология"

ВЛИЯНИЕ НА БИОДЕГРАДАЦИЮ БЕЛОГО ФОСФОРА СОСТАВА КУЛЬТУРАЛЬНЫХ СРЕД АКОСАХ Й.А., Миндубаев А.З., Бабынин Э.В., Бадеева Е.К., Минзанова С.Т.....	196
АССОЦИАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ С НЕМАТОДАМИ, ПОРАЖАЮЩИМИ РАСТЕНИЯ Аль-Накиб Е.А., Кучман Ю.С., Дорофеева Л.В.....	197
ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИТЕЛ К ЦИТОМЕГАЛОВИРУСУ И ВИРУСАМ ПРОСТОГО ГЕРПЕСА МЕТОДОМ ИФА У ПАЦИЕНТОВ ГБУЗ «НИИ-ККБ №1» Г.КРАСНОДАРА Астафьева С.И.....	198
ОПТИМИЗАЦИЯ СПОСОБА ОЦЕНКИ ФУНГИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ ШТАММА <i>VACILLUS SUBTILIS</i> BZR 336G Астахов М.М., Козицын А.Е.....	198
АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ У ПАЦИЕНТОВ НА ПРИМЕРЕ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА <i>KLEBSIELLA</i> Ахмедзянова П.Д., Соловьева Г.А.....	199
СОЗДАНИЕ КОЛЛЕКЦИИ ЭНДОЛИЗИНОВ И ИХ ДОМЕНОВ В КАЧЕСТВЕ ПЛАТФОРМЫ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ НОВЫХ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ СРЕДСТВ Байчер С.Д., Шадрин А.М.....	200
ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ ВИНОГРАДНОГО ВИНА И КОЖИЦЫ ВИНОГРАДА НА БАКТЕРИИ <i>ESCHERICHIA COLI</i> Безматерных К.В., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н.....	201
ВЛИЯНИЕ РЕПРЕССОРА БЕЛКОВ ТЕПЛООВОГО ШОКА НА ДЕГРАДАЦИЮ ГЕКСАДЕКАНА БАКТЕРИЯМИ <i>RHODOCOCCUS PYRIDINIVORANS</i> 5AP Букляревич А.А., Титок М.А.....	202
ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА ЦИАНОБАКТЕРИАЛЬНОЙ ПРИРОДЫ В10R НА РОСТ И ЛИПИДООБРАЗОВАНИЕ СТРЕПТОМИЦЕТОВ Бырса М.Н., Васильчук А.В., Березюк Ю.Н.....	203
АМИНОКИСЛОТЫ БИОМАССЫ <i>STREPTOMYCES MASSASPOREUS</i> CNMN-AC-06, КУЛЬТИВИРОВАННОГО НА КОМПЛЕКСНОЙ СРЕДЕ (R) С ПРЕПАРАТАМИ ЦИАНОБАКТЕРИАЛЬНОЙ ПРИРОДЫ Васильчук А.В., Бырса М.Н.....	204
ПОИСК ГЕНОВ ПЕРМЕАЗ АМИНОКИСЛОТ У ДРОЖЖЕЙ <i>PICHA PASTORIS</i> Волков А.А., Румянцев А.М., Самбук Е.В.....	205
АНАЛИЗ БИОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА МАТРИКСА БИОПЛЕНОК АКНЕИЧЕСКОГО ШТАММА <i>CUTIBACTERIUM ACNES</i> RT5 Ганнесен А.В., Здоровенко Э.Л., Бочкова Е.А., Ардуэн Ж., Масье С., Копицын Д.С., Горбачевский М.В., Кадыкова А.А., Шашков А.С., Журина М.В., Нетрусов А.И., Книрель Ю.А., Плакунов В.К., Фейоле М.Ж.Ж.....	206



МНОЖЕСТВЕННЫЕ АМИНОКИСЛОТНЫЕ ЗАМЕНЫ В КОДИРУЮЩЕЙ ЧАСТИ И ИЗМЕНЕНИЕ 3' UTR ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА ПРИ АДАПТАЦИИ К РАЗЛИЧНЫМ ТИПАМ КЛЕТОК Гладышева А.В., Терновой В.А., Пономарева Е.П., Протопопова Е.В., Локтев В.Б.....	207
ТАКСОНОМИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И ЭКОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС МИКРОБИОМА АГРОСЕРОЙ ЭВТРОФИРОВАННОЙ ПОЧВЫ Голиков М.В.....	208
ИЗУЧЕНИЕ РОСТА НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ-ПРОДУЦЕНТОВ БИОСУРФАКТАНТОВ В ПРИСУТСТВИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ Голуб А.А., Волченко Н.Н., Самков А.А., Худокормов А.А.....	209
ОПРЕДЕЛЕНИЕ РОСТА БИОМАССЫ <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> НА СРЕДЕ С РАЗЛИЧНЫМИ ИСТОЧНИКАМИ УГЛЕРОДА Григорова С.Д., Зеленская А.А., Сорокина В.Ю.....	210
СКРИНИНГ ШТАММОВ <i>VIBRIO CHOLERAЕ</i> ПО ПОКАЗАТЕЛЮ АКТИВНОСТИ ХОЛЕРНОГО ТОКСИНА МЕТОДАМИ <i>IN VITRO</i> Дуракова О.С., Громова О.В., Гаева А.В., Ливанова Л.Ф., Волох О.А.....	211
ФАГОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ОБЩИХ КОЛИФОРМНЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РЕКИ ЛИСТВЯНКА (РЯЗАНСКАЯ ОБЛАСТЬ) В ВЕСЕННЕ-ЛЕТНИЙ ПЕРИОД 2017 ГГ. Зацаринная Е.А., Гаськова А.С.....	212
МИКРООРГАНИЗМ <i>SHEWANELLA</i> КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ФИТОСТИМУЛИРУЮЩИЙ ШТАММ Зеленская А.А., Волченко Н.Н., Самков А.А., Худокормов А.А.....	213
РЕДАКТИРОВАНИЕ ГЕНОМА БАКТЕРИОФАГА T7 С ПОМОЩЬЮ CRISPR-CAS9 Знобищева Е.А., Морозова Н.Е., Ходорковский М.А., Северинов К.В.....	214
ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ЭКСТРАКЛЕТОЧНЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ ШТАММА ГАЛОТОЛЕРАНТНЫХ БАКТЕРИЙ <i>BACILLUS SUBTILIS</i> EGP5QL12 Ибрагим И.М., Коннова С.А., Федоненко Ю.П., Сигида Е.Н.....	214
ИЗУЧЕНИЕ ГЕНОВ ПОЛИАМИНОКСИДАЗ У ДРОЖЖЕЙ <i>PICHIA PASTORIS</i> Иванова А.В., Сидорин А.В., Румянцев А.М., Падкина М.В.....	215
ИЗУЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧНОСТИ БАКТЕРИОФАГОВ <i>BACILLUS CEREUS</i> Калдыркаева З.С., Калдыркаев А.И., Феоктистова Н.А.....	216
ИССЛЕДОВАНИЯ САДОВОЙ ЗЕМЛЯНИКИ НА ПОРАЖЕНИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫМИ БОЛЕЗНЯМИ Картабаева Б.Б., Политыко В.А., Айсувакова Т.П.....	217
КЛАССИФИКАЦИЯ ГЕНОМОВ БАКТЕРИОВИРУСОВ ПОДСЕМЕЙСТВА <i>TEVENVIRINAE</i> С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ 10-МЕРОВ Киселев С.С., Зимин А.А., Панюков В.В.....	218
АНАЛИЗ МИКРОБНЫХ СИМБИОНТОВ ГУБОК <i>HALISARCA DUJARDINII</i> БЕЛОГО МОРЯ Козлова С.Ю., Гавирова Л.А., Лавров А.И., Шестаков А.И.....	219



КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ УЧЁТ МИКРООРГАНИЗМОВ – НЕФТЕДЕСТРУКТОРОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ РЕКИ ЛИСТВЯНКА РЯЗАНСКОЙ ОБЛАСТИ Колупаева Н.В., Зацаринная Е.А.....	220
УСТОЙЧИВОСТЬ К В-ЛАКТАМНЫМ АНТИБИОТИКАМ КОЛИФОРМНЫХ БАКТЕРИЙ ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РЯДА ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ СЕВЕРО-ЗАПАДА МУРМАНСКОЙ ОБЛАСТИ В ВЕСЕННЕ-ЛЕТНИЙ ПЕРИОД 2018 ГОДА Колупаева Л.В., Зацаринная Е.А., Гаськова А.С.....	221
КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА МРНК ЦИТОКИНОВ СВИНЕЙ ПРИ АЧС Кольцов А.Ю., Кольцова Г.С.....	221
КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ БАКТЕРИЙ НЕКОТОРЫХ ЭКОЛОГО-ТРОФИЧЕСКИХ ГРУПП В ВЕРМИКОПОСТАХ ИЗ ЛИСТОВОГО ОПАДА ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ ЮГА ЗАПАДНОЙ СИБИРИ Корниевская Е.В., Минаева О.М., Куровский А.В.....	222
КОНСТРУИРОВАНИЕ ПЛАЗМИД, СОДЕРЖАЩИХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ГЕНОВ АЛКАНГИДРОКСИЛАЗ, КАК ЭТАП В ПОЛУЧЕНИИ МУТАНТНЫХ ШТАММОВ <i>GORDONIA SP. 1D</i> , ДЕФЕКТНЫХ ПО ГЕНАМ <i>ALKV</i> И <i>CYP153</i> Кочаровская Ю.Н., Сафронова М.Ю., Делеган Я.А.....	223
ВЛИЯНИЕ КИСЛОРОДА НА СИНТЕЗ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ АКТИНОБАКТЕРИЙ ОЗЕРА БАЙКАЛ Краснова М.Е., Переляева Е.В., Дмитриев И.А., Васильева У.А., Протасов Е.С., Аксёнов-Грибанов Д.В.....	224
ФЕНОТИПИЧЕСКОЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ВЫЯВЛЕНИЕ КАТАБОЛИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА РОДОКОККОВ В ОТНОШЕНИИ ИМИДАЗОЛИНОНОВ Круглова М.Н., Самков А.А.....	225
ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ АЭРОБНЫХ ЭНДОСПОРОБРАЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ ПОЧВЫ ЗАПОВЕДНИКА «НЕНЕЦКИЙ» Кручинина А.Н., Кудряшова Е.Б., Арискина Е.В.....	226
ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ВИРУЛЕНТНЫХ БАКТЕРИОФАГОВ СТАФИЛОКОККОВ С ИХ ХОЗЯЕВАМИ Купцов Н.С., Корниенко М.А., Гуляев А.С., Летарова М.А., Летаров А.В., Шитиков Е.А.....	227
У МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЕЗА СУЩЕСТВУЮТ МЕЛКИЕ ТЕРМОСТАБИЛЬНЫЕ ФОРМЫ, ВОССТАНАВЛИВАЮЩИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ В ВИДЕ КЛЕТОК С ДЕФЕКТНОЙ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКОЙ Кучвальский М.В., Красникова Е.Л., Лысенко А.П.....	228
ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ПРОЦЕССА БИОЭМУЛЬГАЦИИ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ МИКРОБНОЙ УТИЛИЗАЦИИ УГЛЕВОДОРОДОВ Ламова Я.А., Сережкин И.Н., Шестаков А.И.....	229
ОПРЕДЕЛЕНИЕ РАСХОДА СУБСТРАТА <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> НА СРЕДЕ С РАЗЛИЧНЫМИ ИСТОЧНИКАМИ УГЛЕРОДА Лымарева В.В., Костенко О.С., Круглова М.Н.....	230



ЛИПОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ ИЗ КОЛЛЕКЦИИ КАФЕДРЫ ГЕНЕТИКИ, МИКРОБИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ ФГБОУ ВО КУБГУ Моисеева Е.В., Карасева Э.В., Худокормов А.А., Самков А.А., Мамонтова Ю.А.....	231
АНАЛИЗ РЕГУЛЯЦИИ СИНТЕЗА ПИОВЕРДИНА У БАКТЕРИЙ PSEUDOMONAS BRASSICACEARUM БИМ В-446 Муратова А.А., Мандрик-Литвинкович М.Н., Валентович Л.Н.....	232
РАЗВИТИЕ ТЕРМОФИЛЬНОЙ МИКРОФЛОРЫ ИЗ ГЕОТЕРМАЛЬНЫХ ВОД ЖАРКЕНТСКОЙ ВПАДИНЫ (КАЗАХСТАН) НА РАЗЛИЧНЫХ НАКОПИТЕЛЬНЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ Мусабеков Ж.Т., Батыкова Ж.К., Сайдильдина С.С., Назаров С.В., Машжан А.С., Батлуккая И.В.....	232
ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИОФАГА CLAVIBACTER MICHIGANENSIS – ВОЗБУДИТЕЛЯ БАКТЕРИАЛЬНОГО РАКА ТОМАТА Орловская П.И., Гирилович Н.И., Пилипчук Т.А., Мандрик-Литвинкович М.Н., Коломиец Э.И.....	233
БИОРАЗНООБРАЗИЕ МИКРОМИЦЕТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ КУБГУ С РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ СТРОИТЕЛЬНЫХ МАТЕРИАЛОВ Оробец К.С., Худокормов А.А., Карасёва Э.В., Волченко Н.Н., Самков А.А.....	234
ДЕЙСТВИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО КАТИОННОГО ПЕПТИДА ВАРНЕРИНА В УСЛОВИЯХ ГОЛОДАНИЯ И ГИПЕРОСМОТИЧЕСКОГО СТРЕССА Отинов Г.Д., Полюдова Т.В., Коробов В.П.....	235
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ВЫДЕЛЕНИЯ МЕТАГЕНОМНОЙ ДНК ИЗ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА Охремчук Е.В., Буйницкая С.В., Сидоренко А.В., Валентович Л.Н.....	236
ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА VB_VTS_V83, НОВОГО УМЕРЕННОГО БАКТЕРИОФАГА БАЦИЛЛ ГРУППЫ BACILLUS CEREUS Пилигримова Э.Г., Казанцева О.А., Загородный В. А., Шадрин А. М.....	237
ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИОФАГА PF-11 ФИТОПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ РОДА PSEUDOMONAS Пилипчук Т.А., Коломиец Э.И.....	237
LYSOBACTER SOLANACEARUM, ШТ. LVL – МИКРООРГАНИЗМ, ВЫДЕЛЕННЫЙ С ПОВЕРХНОСТИ КОЖНОГО ПОКРОВА ШПОРЦЕВОЙ ЛЯГУШКИ XENOPUS LAEVIS Погодина Е.И., Абашина Т.Н., Шорохова А.П., Поливцева В.Н., Есикова Т.З., Сузина Н.Е.....	238
ОПИСАНИЕ НОВОГО КЛАСТЕРА ОДНОКЛЕТОЧНЫХ ЦИАНОБАКТЕРИЙ В РАМКАХ РЕВИЗИИ ПОЛИФИЛЕТИЧНОГО РОДА SYNECHOCYSTIS Полякова Е.Ю., Аверина С.Г.....	239
ГЕНОТИПИРОВАНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ ИЗ ГОСУДАРСТВЕННОЙ ТРЕТЬЯКОВСКОЙ ГАЛЕРЕИ, СПОСОБНЫХ ПОРАЖАТЬ ПРОИЗВЕДЕНИЯ ТЕМПЕРНОЙ ЖИВОПИСИ Потапов М.П., Авданина Д.А., Жгун А.А.....	240



МИКРОФЛОРА ЭКСТРЕМАЛЬНОЙ ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ ВОДНОЙ СИСТЕМЫ АНТРОПОГЕННОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ Пьянков И.А., Кононова Л.И., Коробов В.П.....	241
ВЛИЯНИЕ ИСТОЧНИКА УГЛЕРОДА И АЗОТА НА ПРОДУКЦИЮ ГЕТЕРОАУКСИНА ШТАММОМ RHODOCOCCLUS ERYTHROPOLIS B2 Саенко К.Ю., Черная Е.Ю., Моисеева Е.В., Волченко Н.Н., Карасева Э.В., Самков А.А., Худокормов А.А.....	242
ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ХЛОРИДА НАТРИЯ НА РОСТ БАКТЕРИЙ SUPRIAVIDUS EUTROPHUS B-10646 И СИНТЕЗ ЗАПАСНЫХ ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТОВ Сапожникова К.Ю., Жила Н.О.....	243
ОСОБЕННОСТИ ФИЗИОЛОГИИ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ ГРИБОВ Семенова М.А.....	244
ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ TOR-КИНАЗЫ В РЕГУЛЯЦИИ ГЕНОВ МЕТАБОЛИЗМА МЕТАНОЛА У ДРОЖЖЕЙ PICHIA PASTORIS Сидорин А.В.1, Румянцев А.М., Самбук Е.В.....	245
ПОИСК И ВЫДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИЙ АССОЦИАТИВНЫХ С SALVIA SCLAREA L. Смирнова И.И., Каменева И.А.....	246
ВЫЯВЛЕНИЕ РАЗНООБРАЗИЯ ФАГОВ ВАГИНАЛЬНЫХ ЛАКТОБАКТЕРИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГЕНОМНЫХ И МЕТАГЕНОМНЫХ ДАННЫХ Старикова Е.В., Кошечкин С.И., Демкин В.В.....	246
КОНСТРУИРОВАНИЕ ШТАММА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВЕКТОРНОЙ ВАКЦИНЫ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ РИНОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ Степанова Е.А., Меженская Д.А., Матюшенко В.А., Котомина Т.С., Евсина А.С., Исакова-Сивак И.Н., Руденко Л.Г.	247
ОЦЕНКА АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ НЕКОТОРЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ГНОЙНО-СЕПТИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ В ОТДЕЛЕНИЯХ НИИ-ККБ №1 Г. КРАСНОДАРА Сустова Я.А., Худокормов А.А., Вяткина Г.Г.....	248
СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОТИВОМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ РАСТИТЕЛЬНЫХ И АНТИБИОТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ Сухенко Л.Т., Бобков Г.А.....	249
ИНТЕНСИВНОСТЬ РОСТА RHODOCOCCLUS ERYTHROPOLIS B2 ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА СРЕДЕ С ТРИПТОФАНОМ И ПРОЛИНОМ Тавадьян Д.Э., Соседова К.В.....	250
ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ Cu, Co И ZnO НА РОСТ МИКРОМИЦЕТОВ Тимуш И.Н...	251
ИММУНОГЕННАЯ И ПРОТЕКТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ТРАНСАЛЬДОЛАЗЫ В YERSINIA PESTIS Трунякова А.С., Мазурина Е.М., Светоч Т.Э., Копылов П.Х., Шайхутдинова Р.З., Иванов С.А., Дентовская С.В., Анисимов А.П.....	252
ВЛИЯНИЕ ПОЛИФЕНОЛОВ НА ПРОДУКЦИЮ СУЛЬФИДА ВОДОРОДА АЭРОБНО РАСТУЩИМИ КУЛЬТУРАМИ ESCHERICHIA COLI Тюленев А.В., Самойлова З.Ю., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н.....	253



ВЛИЯНИЕ ПЛЕНОЧНЫХ ПОКРЫТИЙ, СОЗДАННЫХ НА ОСНОВЕ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ, НА МИКРОФЛОРУ ОЖОГОВ У КРЫС Урядова Г.Т., Фокина Н.А., Карпунина Л.В.....	254
СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ПЦР-ДИАГНОСТИКИ ЗАРАЗНОГО УЗЕЛКОВОГО ДЕРМАТИТА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА Усадов Т.Р., Кольцов А.Ю., Сухер М.М., Моргунов Ю.П., Сальников Н.И.....	255
ВЫДЕЛЕНИЕ БАЦИЛЛЯРНЫХ БАКТЕРИОФАГОВ И ИХ СЕЛЕКЦИЯ Феоктистова Н.А. <sup>1</sup> , Васильев Д.А. <sup>1</sup> .....	256
ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ КЛАСТЕРА ГЕНОВ ДЕСТРУКЦИИ НАФТАЛИНА ШТАММА PSEUDOMONAS PUTIDA BS3701 Фролова А.А., Нагорных М.О., Пунтус И.Ф.....	257
РОЛЬ С-КОНЦЕВОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ МАЛОЙ СУБЪЕДИНИЦЫ HYDSL-ГИДРОГЕНАЗЫ THIOCAPSA ROSEOPERSICINA Хасимов М.Х., Хуснутдинова А.Н., Петушкова Е.П.....	258
ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОБИОТЫ КУМЫСА БАЙМАКСКОГО РАЙОНА РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН Цибульников С.В., Шестаков А.И., Шестакова О.О. ....	259
ANCYLOBACTER CRIMEENSIS SP. NOV.-НОВЫЙ ВИД АЭРОБНЫХ МЕТИЛОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ФИЛЛОСФЕРОЙ ДУБА ПУШИСТОГО Чемодурова А.А., Капарулина Е.Н., Доронина Н.В.....	260
ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО МЕТОДА СНИЖЕНИЯ ВЯЗКОСТИ НЕФТИ Шакирзянова Р.А.....	260
ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ АМИНОКИСЛОТ НА РЕГУЛЯЦИЮ ГЕНОВ МЕТАБОЛИЗМА МЕТАНОЛА У ДРОЖЖЕЙ PICHIA PASTORIS Шараев Н.И., Волков А.А., Румянцев А.М.....	261
ОСОБЕННОСТИ МИКРОФЛОРЫ КИШЕЧНИКА ЖУЖЕЛИЦЫ HARPALUS RUFIPES (COLEOPTERA, CARABIDAE) Швецова Н.Н., Трушицына О.С., Зацаринная Е.А.....	262
КУЛЬТИВИРОВАНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ, ОТОБРАННЫХ С ПРОИЗВЕДЕНИЙ ТЕМПЕРНОЙ ЖИВОПИСИ 16-ГО ВЕКА В ГОСУДАРСТВЕННОЙ ТРЕТЬЯКОВСКОЙ ГАЛЕРЕЕ Ширяев М.И., Потапов М.П., Авданина Д.А., Жгун А.А.....	263
КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ ОБРАЗЦОВ ДОННЫХ ОСАДКОВ ЗОНЫ ЕСТЕСТВЕННЫХ ВЫСАЧИВАНИЙ УГЛЕВОДОРОДОВ ОЗЕРА БАЙКАЛ Щербакова П.А., Ламова Я.А., Шестаков А.И.....	264
АНАЛИЗ ТАКСОНОМИЧЕСКОГО СОСТАВА ЭУБАКТЕРИАЛЬНОЙ КОМПОНЕНТЫ МЕЗОФИЛЬНОГО СООБЩЕСТВА ДВУХРЕАКТОРНОЙ БИОГАЗОВОЙ СТАНЦИИ Яценко В.А., Клюева В.В., Ходжаев Ю.Р., Бояршин К.С., Батлущкая И.В.....	265



### Секция «Физиология растений и фотобиология»

ДЕТЕКЦИЯ ОБРАЗОВАНИЯ СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА У ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ С ПОМОЩЬЮ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ ЛОВУШЕК Ашихмин А.А.....	266
ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ РЕКОМБИНАНТНЫХ ГЕНОВ <i>GSILAC</i> В РАСТЕНИЯХ БЕРЕЗЫ И ОСИНЫ Белова Е.Н., Лебедев В.Г., Шестибратов К.А., Амосова А.В., Зошук С.А., Муравенко О.В.....	267
РОЛЬ МЕМБРАННЫХ ФЕРМЕНТОВ, АЛЬФА- КАРБОАНГИДРАЗЫ 2 И STN7 КИНАЗЫ, В АДАПТАЦИОННОМ ОТВЕТЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ ПРИ ДЕЙСТВИИ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ Ветошкина Д.В., Журикова Е.М., Иванов Б.Н., Борисова-Мубаракшина М.М.....	268
АНАЛИЗ БИОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ СТРЕСС-УСТОЙЧИВОСТИ У СОРТОВ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ РАЗЛИЧНОГО ГЕОГРАФИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА ПРИМЕРЕ КАДМИЯ Дикарев А.В., Дикарев В.Г., Дикарева Н.С.....	268
УЧАСТИЕ DELLA-БЕЛКОВ В КОНТРОЛЕ РАЗВИТИЯ СИМБИОЗА ГОРОХА <i>PISUM SATIVUM</i> L. С РИЗОБИЯМИ Долгих А.В., Долгих Е.А.....	269
ИНТЕНСИВНОСТЬ РОСТА И РАЗВИТИЯ КАРТОФЕЛЯ СОРТА «НОВИНКА» ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СПЕКТРАХ ОСВЕЩЕНИЯ Корсун И.С., Маслова Е.В., Батлуцкая И.В., Яценко В.М., Кушнарченко С.В.....	270
РОЛЬ ПЕПТИДОВ СЛЕ В РАЗВИТИИ ЗАПАСАЮЩИХ ОРГАНОВ У СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ Кузнецова К.А., Ганчева М.С., Додуева И.Е., Лутова Л.А.....	271
ОЗОНИРОВАНИЕ СЕМЯН ЗЛАКОВ Лазукин А.В., Сердюков Ю.А., Грабельных О.И., Кривов С.А.....	272
СРАВНИТЕЛЬНОЕ СОДЕРЖАНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В НАДЗЕМНОЙ МАССЕ НЕКОТОРЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ КУЛЬТУР, ВЫРАЩЕННЫХ В УСЛОВИЯХ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ Молчанова А.В., Суминова Н.Б.....	272
ИССЛЕДОВАНИЕ УЧАСТИЯ ДВУХ ТИЛАКОИДНЫХ КАРБОАНГИДРАЗ АЛЬФА-СЕМЕЙСТВА В МЕХАНИЗМАХ КРАТКОВРЕМЕННОЙ АДАПТАЦИИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ВЫСШЕГО РАСТЕНИЯ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> К СВЕТУ ВЫСОКОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ Найдов И. А., Ветошкина Д.В., Журикова Е.М., Игнатова Л.К., Иванов Б.Н.....	273
ИЗУЧЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ СОРТООБРАЗЦОВ ПШЕНИЦЫ К БУРОЙ РЖАВЧИНЕ В ПОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ ( <i>PUCCINIA TRITICINA</i> DIETEL) Обухова М.В.....	274



ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ КОМПЛЕКСА ФАКТОРОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ НА СТРУКТУРУ КАРОТИНОИДОВ ЛИСТЬЕВ <i>CERATOFILLUM DEMERSUM</i> L. И <i>BETULA PENDULA</i> ROTH. Порочкин А.В., Макурина О.Н.....	275
ИДЕНТИФИКАЦИЯ И АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ <i>SERISLE</i> У КАРТОФЕЛЯ Рутковская Е.А., Ганчева М.С., Додуева И.Е., Лутова Л.А.....	276
ВЫЯВЛЕНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СТИМУЛЯТОРОВ РОСТА НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА Самарская В.О.....	277
РАЗВИТИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ПРОРОСТКАХ РЖИ ПОСЕВНОЙ ( <i>SECALE CEREALE</i> L.) ПРИ ЗАГРЯЗНЕНИИ ПОЧВЫ НЕФТЬЮ Скрыпник Л.Н., Токупова Э.В.....	277
СВОЙСТВА РЕАКЦИОННЫХ ЦЕНТРОВ <i>RHODOBACTER SPHAEROIDES</i> С АМИНОКИСЛОТНЫМИ ЗАМЕЩЕНИЯМИ ПЕ НА TYR В ПОЗИЦИЯХ L177 И M206. Фуфина Т.Ю., Третчикова О.А., Тихобаева Ю.С., Селиханов Г.К., Шувалов В.А., Васильева Л.Г.....	278
ВЛИЯНИЕ ИОНОВ МЕДИ НА РОСТ И ФОРМИРОВАНИЕ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ У РАСТЕНИЙ <i>ZINNIA ELEGANS</i> JACQ. Тугбаева А.С., Ермошин А.А., Киселева И.С.....	279
СРАВНЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ ИСКУССТВЕННОГО И ЕСТЕСТВЕННОГО ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ И ЛИПИДОВ В ПРОРОСТКАХ ПШЕНИЦЫ И РИСА. Шиков А.Е., Ласточкин В.В., Чиркова Т.В., Емельянов В.В.....	280

#### **Секция «Физиология животных и фундаментальная биомедицина»**

ВЛИЯНИЕ АКТИВАЦИИ РИАНОДИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА СПОНТАННУЮ СЕКРЕЦИЮ АЦЕТИЛХОЛИНА В НЕРВНО-МЫШЕЧНЫХ СИНАПСАХ МЫШИ Миронова Д. С.....	281
РОЛЬ HSP70 В ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНОМ ПЕРЕХОДЕ КЛЕТОК КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА ПРИ СТИМУЛЯЦИИ ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ ГЛЮКОЗЫ Алексеев Д.А., Никотина А.Д., Маргулис Б.А., Гужова И.В.....	282
ВЛИЯНИЕ ЭПИГАЛЛОКАТЕХИН ГАЛЛАТА НА УВЕЛИЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ АНГИОТЕНЗИН ПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА В АОРТЕ КРЫС Аникина В.А., Корыстов Ю.Н.....	283
ОЦЕНКА ИНФОРМАТИВНОСТИ МОЧЕВОЙ ЭКСКРЕЦИИ NGAL И CYSC У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ ПРИ НОРМАЛЬБУМИНУРИИ Анпилова А.О., Богданова Е.О.....	284





ВЛИЯНИЕ ОМЕКАМТИВ МЕКАРБИЛА НА ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ СЕРДЕЧНОГО И СКЕЛЕТНОГО МИОЗИНА С ТОНКИМ ФИЛАМЕНТОМ Берг В. Ю.1, Кощеева О. И., Шаронова М. А., Щепкин Д. В., Копылова Г. В.....	285
ВЛИЯНИЕ ЭТОЛОГИЧЕСКИ ЗНАЧИМОГО ЗАПАХА НА УРОВЕНЬ ТРЕВОЖНОСТИ У САМЦОВ КРЫС ВИСТАР Березина Е.А.....	285
ВЛИЯНИЕ ГЕНДЕРНОГО ФАКТОРА НА СОДЕРЖАНИЕ ЛАМИНА А В ДЕРМАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТАХ ПРИ СТАРЕНИИ Богданов А.В., Николаев Е.Е.....	286
ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ РАЗВИТИЯ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИИ НА IN VIVO МОДЕЛЯХ Бороздина Н.А., Несмеянова Е.Н., Паликова Ю.А.....	287
ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ ОБРАТНОЙ СВЯЗИ НА КОРТИКОСПИНАЛЬНУЮ ВОЗБУДИМОСТЬ В ИМК-Р300 ПАРАДИГМЕ Бредихин Д.О., Сыров Н.В., Каплан А.Я.....	288
МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ТУЧНЫХ КЛЕТОК ОРГАНОВ, АКТИВНО НАКАПЛИВАЮЩИХ ЖЕЛЕЗОУГЛЕРОДНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ ПРИ ИХ ВВЕДЕНИИ Власова А.А., Храмцова Ю.С.....	289
ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ РАЗНЫХ РЕЖИМОВ ПИТАНИЯ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЖИРОВОЙ ТКАНИ МЫШЕЙ ПРИ АНАЭРОБНОЙ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКЕ Голованова Л. А., Ключева Ю. Н.....	290
ЭФФЕКТ PRO-GLY-PRO НА КАЛЬЦИЕВЫЙ ГОМЕОСТАЗ НЕЙРОНОВ В УСЛОВИЯХ ГЛУТАМАТНОЙ ЭКСАЙТОТОКСИЧНОСТИ ПОСЛЕ МЕХАНИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ IN VITRO Гончаров М.М., Бакаева З.В., Згодова А.Е., Фролов Д.А., Лисина О.Ю., Сурин А.М.....	291
РОЛЬ ГЛИИ В ПАТОГЕНЕЗЕ НЕЙРОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА Горякина Т.С.....	292
ИЗМЕНЕНИЕ АФК-ГЕНЕРИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ МАКРОФАГОВ ЗДОРОВЫХ ЖИВОТНЫХ И ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЕЙ В СРЕДЕ, ОБРАБОТАННОЙ НИЗКОЧАСТОТНЫМ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫМ ИЗЛУЧЕНИЕМ. Даабуль К.С., Наумов А.А., Поцелуева М.М.....	293
СОСТОЯНИЕ СОСУДОВ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА КОЖИ В УСЛОВИЯХ ЗАЖИВЛЕНИЯ ЛИНЕЙНОЙ РАНЫ Жданова А.В., Петрова И.М., Высокова О.А., Хацко С.Л., Жданов А.В.....	294
ВЛИЯНИЕ МУТАЦИИ LETHAL YELLOW ГЕНА AGOUTI (AY) И НОКАУТА ГЕНА ZBTB33 НА НЕРВНУЮ СИСТЕМУ И ПОВЕДЕНИЕ МЫШЕЙ Изъюров А.Е.....	295
РАДИОПРОТЕКТОРНЫЕ И РАДИОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА НАНОЧАСТИЦ ФТОРИДА ЦЕРИЯ НА ПРИМЕРЕ КУЛЬТУР КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА Каменских К.А., Попов А.Л., Ермаков А.М.....	295



СВОБОДНОРАДИКАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ КРОВИ КРЫС МОЛОДОГО И ЗРЕЛОГО РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА С ХОЛАНГИОЦЕЛЛЮЛЯРНЫМ РАКОМ РС-1 Кашина А.Ю., Плеханова Е.С., Потапов А.Л., Щербатюк Т.Г.....	296
СЕЗОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ И ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ЛИМФОЦИТАХ КРОВИ У СУСЛИКОВ Королева М.А., Захарова Н.М., Ячкула Т.В., Хундерякова Н.В.....	297
КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПЕРИНЕЙРОНАЛЬНЫХ СЕТЕЙ В РАЗВИТИИ И ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОМ СОСТОЯНИИ Кочнева А.А., Мельникова А.А., Липачев Н.С., Арнст Н.И., Двоглазова А.С., Жигалов А., Яаалиноя Х., Кулесская Н., Мавликеев М.О., Раувала Х., Киясов А.П., Павельев М.Н.....	298
ВЛИЯНИЕ МИОПАТИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ ТРОПОМИОЗИНА НА КАЛЬЦИЕВУЮ РЕГУЛЯЦИЮ АКТИН-МИОЗИНОВОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ Кочурова А.М., Берг В.Ю., Кулаков Т., Копылова Г.В., Щепкин Д.В.....	299
МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ТРОМБОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ВЫСОКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ Макаров М.С.....	299
УРОВЕНЬ BDNF И GDNF В КРОВИ И ЦНС КРЫС С ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМОЙ Михайлов Н.Д., Ивлева И.С., Муружева З.М., Пестерева Н.С., Карпенко М.Н.....	300
ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОГО СОЕДИНЕНИЯ 6ND НА МОДЕЛЯХ ВОСПАЛЕНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ Несмеянова Е.Н., Бороздина Н.А., Кудрявцев Д.С., Цетлин В.И., Иванов И.А., Паликов В.А.....	301
ХАРАКТЕРИСТИКА КЛЕТОЧНОЙ МОДЕЛИ СПИНАЛЬНОЙ МЫШЕЧНОЙ АТРОФИИ Овечкина В.С.....	302
ЭФФЕКТЫ 25-ГИДРОКСИХОЛЕСТЕРИНА НА СОКРАТИТЕЛЬНУЮ ФУНКЦИЮ ПРЕДСЕРДИЙ МЫШИ ПРИ АКТИВАЦИИ БЕТА-АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ Одношивкина Ю.Г., Хакимов И.Р., Петров А.М.....	303
ВЫЯВЛЕНИЕ МАРКЕРОВ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ ГБУЗ "НИИ-ККБ№1" Оковатая Е.В.....	304
ВЛИЯНИЕ ГАММА-ОБЛУЧЕНИЯ САМЦОВ КРЫС НА СПОСОБНОСТЬ К ОБУЧЕНИЮ ИХ ПОТОМСТВА Панфилова В.В.....	305
МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ ПРИ ОСТРОМ МИОКАРДИТЕ И ЕЁ КОРРЕКЦИЯ УРИДИНОМ Радаева А.А., Мосенцов А.А., Белослудцева Н.В.....	306
ВОЗДЕЙСТВИЕ ГИПЕРОКСИИ НА ЧАСТОТУ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ДВИЖЕНИЙ И ПОКАЗАТЕЛИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА У БАЙКАЛЬСКИХ ЭНДЕМИЧНЫХ АМФИПОД EULIMNOGAMMARUS CYANEUS (DYBOWSKY, 1874) Ржечицкий Я.А.,	



Гурков А.Н., Шатилина Ж.М., Емшанова В.А., Бобкова В.А., Ларина О.А., Тимофеев М.А.....	307
ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ ФЕНОЛОКСИДАЗНОЙ СИСТЕМЫ ЛИЧИНКИ CALLIPHORA VICINA В ОНТОГЕНЕЗЕ Савва А. К., Тулин Д.В.....	308
ВЫЗВАННЫЕ ГИПОКСИЕЙ НАРУШЕНИЯ СОПРОВОЖДАЮТСЯ ИЗМЕНЕНИЕМ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ГЛУТАМАТЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В ГИППОКАМПЕ КРЫСЫ Стратиллов В.А., Ветровой О.В., Тюлькова Е.И.....	309
АНАЛИЗ ТИПА КЛЕТОЧНОЙ СМЕРТИ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОГО АГЕНТА ФОТОСЕНС НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ ГОЛОВНОГО МОЗГА Турубанова В.Д., Митрошина Е.В., Мищенко Т.А., Балалаева И.В., Ведунова М.В., Крысько Д.В.....	309
АДЕНОАССОЦИИРОВАННЫЕ ВИРУСНЫЕ ВЕКТОРЫ, НЕСУЩИЕ ГЕНЫ BDNF И GDNF, В АДАПТАЦИИ МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL6 К ПОВРЕЖДАЮЩЕМУ ДЕЙСТВИЮ ГИПОКСИИ IN VIVO Уразов М.Д., Астраханова Т.А., Гавриш М.С., Усенко А.В., Мищенко Т.А., Ведунова М.В., Митрошина Е.В.....	310
ВЛИЯНИЕ АЛЛОКСАН-ИНДУЦИРОВАННОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА НА СТРУКТУРУ МИОКАРДА И СОКРАТИТЕЛЬНУЮ ФУНКЦИЮ КАРДИОМИОЦИТОВ ЛЕВОГО И ПРАВОГО ЖЕЛУДОЧКОВ КРЫСЫ Хохлова А.Д., Мячина Т.А., Бутова К.А., Берг В.Ю., Соколова К.В., Устимовская Ж., Гётте И.Ф., Копылова Г.К., Щепкин Д.В....	311
ВЛИЯНИЕ ПРЕНАТАЛЬНОГО ДЕПРИВАЦИОННОГО СТРЕССА НА РАЗВИТИЕ И ТЯЖЕСТЬ ЭПИЛЕПСИИ У ПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС В ПОСТНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ Хуторова А.В.....	312
РОЛЬ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ В РЕАЛИЗАЦИИ ЭФФЕКТОВ ТЯЖЕЛОЙ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ В МОЗГЕ КРЫС Чурилова А.В.....	313
ВЛИЯНИЕ РТУТИ НА ЗДОРОВЬЕ ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА Шувалова О.П.....	314
ВЛИЯНИЕ ПОЛОВЫХ ГОРМОНОВ НА АКТИВНОСТЬ ГЛИКОПРОТЕИНА-P IN VITRO Щулькин А.В., Черных И.В., Котлярова А.А., Есенина А.С.....	315

### **Секция "Молекулярная биология"**

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ КОНТРОЛЬ БИОСИНТЕЗА ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ У МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ Жгун А.А.....	316
ТРИ ПОДХОДА К УПРАВЛЕНИЮ АМИЛОИДНОЙ АГРЕГАЦИЕЙ Балобанов В.А., Гарбузинский С.А., Михайлина А.О., Ильина Н.Б., Финкельштейн А.В.....	317



СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕХАНИЗМА ГИБЕРНАЦИИ РИБОСОМ <i>STARHYLOCOSCCUS AUREUS</i> Усачев К.С., Хусаинов И.Ш., Фатхуллин Б.Ф., Гадулхаков А.Г., Никулин А.Д., Валидов Ш., Трахтаман Н.В., Юсупов М.М.....	318
УВ-1, МАЖОРНЫЙ МРНК-СВЯЗЫВАЮЩИЙ БЕЛОК, ОБЛАДАЕТ СПОСОБНОСТЬЮ ОБРАЗОВЫВАТЬ РНК-НУКЛЕОПРОТЕИНОВЫЕ ФИЛАМЕНТЫ И В СТРЕССОВЫХ УСЛОВИЯХ ПРЕДОТВРАЩАЕТ ОБРАЗОВАНИЕ СТРЕСС ГРАНУЛ Budkina K.S., Kretov D.A., Clément M.J., Lambert G., Durand D., Lyabin D., Bollot G., Bauvais N., Samsonova A., Maroun R.C., Hamon L., Bouhss A., Lescop E., Curmi P.A., Maucuer A., Ovchinnikov L.P., Pastré D.....	319
PYRAMIDING FIBER QUALITY AND WILT RESISTANT QTLs ON COTTON (L.) USING MAS TECHNOLOGY Khusenov N.N., Kushanov F.N., Turaev O.S., Norbekov J.K., Darmanov M.M., Boykobilov U.A., Ayubov M.S.....	320
HYPOCOTYL ELONGATED (HY5) GENE REGULATES PHOTOMORPHOGENESIS IN COTTON ( <i>G. HIRSUTUM</i> L.) M. Ayubov, S. Abdugarimov, B. Mamajonov, K. Ubaydullaeva, Z. Buriev, I. Abdurakhmonov.....	320
MOLECULAR ANALYSIS OF SALT TOLERANCE IN UPLAND COTTON USING SSR MARKERS Normamatov I.S., Turaev O.S., Xolmurodova M.M., Umedova M.E., Khoshimov S.K., Kushakov Sh.O., Kushanov F.N.....	321
DEVELOPMENT OF NEW COTTON VARIETIES RESISTANT TO FUSARIUM WILT USING RNAI TECHNOLOGY Norov T.M.....	322
МОЛЕКУЛЯРНЫЙ АНАЛИЗ СОРТОВ ОГУРЦА ПОСЕВНОГО ( <i>CUCUMIS SATIVUS</i> L.) НА ИСКУССТВЕННУЮ ГЕНЕТИЧЕСКУЮ МОДИФИКАЦИЮ Абдираймова Х.М., Шерматов Ш.Э., Имамходжаева А.С.....	323
КОНСТРУИРОВАНИЕ ЭКСПРЕССИОННЫХ ВЕКТОРОВ CRISPR/CAS9 ДЛЯ РЕДАКТИРОВАНИЯ ГЕНОМА КАРТОФЕЛЯ Абеуова Л.С., Манабаева Ш.А.....	324
ИЗУЧЕНИЕ CRISPR CAS9 СИСТЕМЫ ИЗ <i>CLOSTRIDIUM CELLULOLYTICUM</i> Абрамова М.В.1, Селькова П.А., Мушарова О.С., Федорова Я.В., Северинов К.В.....	325
ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА РЕЦЕПТОРА ОКСИТОЦИНА В ОТДЕЛАХ МОЗГА ПОД ВЛИЯНИЕМ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА Абрамова О. В., Павлов К. А., Зубков Е. А., Зоркина Я. А., Морозова А. Ю., Чехонин В. П.....	326
АНАЛИЗ РОЛИ ОСТАТКОВ ЦИСТЕИНА В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ НИКУЮЩЕЙ ЭНДОНУКЛЕАЗЫ BSPD61 Абросимова Л.А., Артюх Р.И., Перевязова Т.А., Юнусова А.К., Агаева З.Ф., Ларионова Е.Е., Кубарева Е.А.....	327
КОРРЕКЦИЯ МУТАЦИЙ В ЭКЗОНАХ 26 И 3 ГЕНА ДИСФЕРЛИНА ПУТЕМ ПРОВЕДЕНИЯ ИСКУССТВЕННОГО ТРАНС-СПЛАЙСИНГА Аглиуллина Д.Р., Старостина И.Г., Яковлев И.А., Деев Р.В., Исаев А.А., Соловьева В.В., Ризванов А.А....	328



ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРОВ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ МОДИФИКАТОРОВ НА ТРАНСКРИПЦИЮ ГЕНОВ-МИШЕНЕЙ АРИЛ-ГИДРОКАРБОНОВОГО РЕЦЕПТОРА ЧЕЛОВЕКА Акишина А.А., Воронцова Ю.Е.....	328
СОЗДАНИЕ УСОВЕРШЕНСТВОВАННЫХ ШТАММОВ ДРОЖЖЕЙ SACCHAROMYCES CEREVISIAE, ПОЗВОЛЯЮЩИХ С ВЫСОКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТЬЮ ВЫЯВЛЯТЬ ШИРОКИЙ СПЕКТР НАРУШЕНИЙ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА Афанасова Д.В., Андрейчук Ю.В., Жук А.С., Степченкова Е.И.....	329
ГЕНЫ СЕМЕЙСТВА NOGGIN В РАННЕМ РАЗВИТИИ БЕСЧЕЛЮСТНЫХ ПОЗВОНОЧНЫХ Байрамов А.В., Ермакова Г.В., Зарайский А.Г.....	330
ПОЛУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНЫХ ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ ПРОДУЦЕНТОВ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ, НЕЙТРАЛИЗУЮЩИХ ЭБОЛАВИРУС ЗАИР Бауэр Т.В., Гаврилова Е.В., Максюттов Р.А., Иматдинов И.Р.....	331
БИЦИСТРОННАЯ КОНСТРУКЦИЯ, СОДЕРЖАЩАЯ ГЕНЫ ЦЕЛЕВОГО И МАРКЕРНОГО БЕЛКОВ, ДЛЯ ИНТЕГРАЦИИ В ЛОКУС ГЕНА В-ЛАКТОГЛОБУЛИНА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ CRISPR/CAS9 ТЕХНОЛОГИИ Белова Н. В., Езерский В. А., Кутьин И. В., Колоскова Е.М.....	332
АНТИСМЫСЛОВАЯ ТРАНСКРИПЦИЯ В РЕГУЛЯТОРНОЙ И РАННЕЙ ТРАНСЛИРУЕМОЙ ОБЛАСТИ ГЕНА ORFV E.COLI: РОЛЬ ТОПОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ДНК В ФОРМИРОВАНИИ ПАТТЕРНА ФУНКЦИОНАЛЬНО АКТИВНЫХ СТАРТОВ СИНТЕЗА РНК Белухина С.Ю., Масулис И.С.....	333
СВЯЗЬ ПОЛИМОРФНОГО МАРКЕРА ГЕНА CDKN1A С ДЛИТЕЛЬНОСТЬЮ ВРЕМЕНИ БЕЗ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ РАКА ЯИЧНИКОВ ПОСЛЕ ХИМИОТЕРАПИИ ПРОИЗВОДНЫМИ ПЛАТИНЫ И ТАКСАНАМИ Бреннер П.К., Капралова М.А., Аткарская М.В., Тюляндина А.С., Стенина М.Б., Заварыкина Т.М.....	334
ПОЛУЧЕНИЕ КРИСТАЛЛОВ БЕЛКА SMAR ИЗ HALOBACTERIUM SALINARUM ДЛЯ СТРУКТУРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ Буюклян Ю. А., Фандо М. С., Леконцева Н. В., Никулин А. Д.....	335
КЛОНИРОВАНИЕ, ЭКСПРЕССИЯ И ПОИСК ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПАРТНЕРОВ СЕЛЕНОПРОТЕИНА SELM В РАЗЛИЧНЫХ РАКОВЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА Варламова Е. Г., Гольтяев М. В.....	335
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДИНАМИКИ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА Виткалова И. Ю., Гуреев А. П., Туровский Я. А., Попов В. Н.....	336
ДИАГНОСТИКА ПРЕЭКЛАМПСИИ: РАЗРАБОТКА ЭКСПРЕСС-ТЕСТА НА ОСНОВЕ АМИЛОИД-СПЕЦИФИЧНОГО КРАСИТЕЛЯ CONGO RED Герасимова Е.М., Куличихин К. Ю., Рубель А.А., Вашукова Е.С., Пакин В.С., Глотов А.С., Чернов Ю.О., Федотов С.А.....	337



ВЛИЯНИЕ СЕЛЕН-СОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ СЕЛЕНОПРОТЕИНОВ-РЕЗИДЕНТОВ ЭНДОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО РЕТИКУЛУМА В РАЗЛИЧНЫХ РАКОВЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА Гольтяев М.В., Варламова Е.Г.....	338
ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ИЗУЧЕНИЕ НОВЫХ ДНК-СВЯЗЫВАЮЩИХ ФАКТОРОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С БЕЛКОМ GAF У <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> Горбенко Ф.В., Михайлова А.М., Ерохин М.М., Четверина Д.А.....	339
НОВЫЙ ПОДХОД ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ВЛИЯНИЯ ПОСТТРАНСЛЯЦИОННЫХ МОДИФИКАЦИЙ НА ТРАНСПОРТ YB-1 Григорьева Е.М., Мордовкина Д.А., Овчинников Л.П.....	340
МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ И ФИЛОГЕОГРАФИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ Сони-Полчка, <i>GLIS GLIS L. (GLIRIDAE)</i> ВОСТОЧНОЙ ЕВРОПЫ И КАВКАЗА Григорьева О.О.....	341
СОЗДАНИЕ И АПРОБАЦИЯ АКТИВАТОРОВ/РЕПРЕССОРОВ ТРАНСКРИПЦИИ НА ОСНОВЕ CRISPR-CAS9 СИСТЕМЫ РЕДАКТИРОВАНИЯ ГЕНОМА В КЛЕТКАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ Груздева Н.А., Круглов А.А., Евдокимовская Ю.В., Кононов А.В., Соловьёв В.В., Басовский Ю.И.....	341
PYRAMIDING OF NEW QTL LOCI INTO A SINGLE GENOTYPE IN COTTON Дарманов М.М., Туланов А.А., Макамов А.Х., Тураев О.С., Кушанов Ф.Н., Абдурахмонов И.Ю....	342
GPR55 КАК МИШЕНЬ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ ЭНДОВАНИЛОИДОВ Дудина П.В.....	343
ХАРАКТЕРИСТИКА 6S РНК ИЗ АЛЬФА-ПРОТЕОБАКТЕРИЙ Елкина Д.А., Буренина О.Ю., Банникова В.А., Кубарева Е.А.....	344
ВЛИЯНИЕ ПРОМОТОРА ГЕНА В-АКТИНА НА МТОР-ЗАВИСИМУЮ РЕГУЛЯЦИЮ ТРАНСЛЯЦИИ Жилин Д.А., Овчинников Л.П., Елисеева И.А.....	345
АГРЕГАТЫ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА SFR1 КОЛОКАЛИЗУЮТСЯ С ШАПЕРОНАМИ И ФАКТОРАМИ ИХ СОРТИРОВКИ Зайцева Н.А., Матвеев А.Г., Журавлева Г.А.....	346
НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА PRO-GLY-PRO И ЕГО АЦЕТИЛИРОВАННОЙ ФОРМЫ В УСЛОВИЯХ ГЛУТАМАТНОЙ ЭКЗАЙТОТОКСИЧНОСТИ Згодова А.Е., Гончаров М.М., Лизунова Н.В., Фролов Д.А., Бакаева З.В., Пинелис В.Г.....	347
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ ПОПУЛЯЦИИ НЕКОТОРЫХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СОРТОВ ХЛОПЧАТНИКА Имамходжаева А.С., Абдираимова Х.М., Маткаримов М.У.....	348
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ CRISPR/CPF1 РНК-БЕЛКОВЫХ КОМПЛЕКСОВ ДЛЯ ИЗМЕНЕНИЯ ГЕНОМА ЭУКАРИОТ Казалов М.А., Мешалкина Д.А., Фёдорова Я.В., Северинов К.В.....	349
ИММУНОХИМИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ БИНАЗЫ И ЕЕ КОМПЛЕКСОВ Калашников В.А., Дудкина Е.В., Ульянова В.В., Вершинина В.И.....	350



ВЛИЯНИЕ МИЛДРОНАТА НА ПОВРЕЖДЕНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК ПРИ ИЗБЫТОЧНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗКАХ Калинина Ю. И., Садовникова И. С., Виткалова И. Ю., Гуреев А. П., Попов В. Н.....	350
СВЯЗЬ ПОЛИМОРФНОГО МАРКЕРА GLN399ARG ГЕНА XRCC1 С РИСКОМ РАЗВИТИЯ РАКА ЯИЧНИКА У ЖЕНЩИН МОСКОВСКОГО РЕГИОНА Капралова М.А., Бреннер П.К., Аткарская М.В., Тюляндина А.С., Стенина М.Б., Заварыкина Т.М..	351
ВЛИЯНИЕ АМИНОКИСЛОТНЫХ ЗАМЕН НА АМИЛОИДООБРАЗОВАНИЕ КАРБОКСИАНГИДРАЗЫ Катина Н.С., Рябова Н.А., Ильина Н.Б., Кашпаров И.А., Марченков В.В., Балобанов В.А.....	351
ПОЛУЧЕНИЕ ПРОТИВОГРИППОЗНЫХ ВАКЦИННЫХ ШТАММОВ ТИПА В МЕТОДОМ ОБРАТНОЙ ГЕНЕТИКИ Крутикова Е.В., Вон П.Ф., Исакова-Сивак И.Н....	352
ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА SEGB В ХОДЕ ИНФЕКЦИОННОГО ЦИКЛА БАКТЕРИОФАГА T4 Кузницын Р.А., Макарова А.О., Григорьева Т.Ю., Холод Н.С., Шляпников М.Г., Грановский И. Э.....	354
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕСТРИКТНОГО АНАЛИЗА В ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМПОНЕНТОВ CRISPR/CAS СИСТЕМЫ ДЛЯ МОДИФИКАЦИИ ГЕНА WAP МЫШИ Кутыин И.В., Белова Н.В., Езерский В.А., Колоскова Е.М.....	355
N-КОНЦЕВЫЕ АЦЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ E.COLI: КЛОНИРОВАНИЕ, ОЧИСТКА И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА Лаптева Ю.С., Соколов А.С.....	356
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ РНК-ШАПЕРОНА PROQ ИЗ ESCHERICHIA COLI С HFQ-ЗАВИСИМОЙ МАЛОЙ РЕГУЛЯТОРНОЙ РНК DSRA Леконцева Н.В., Михайлина А.О., Коробейникова А.В., Фандо М.С., Никулин А.Д.....	357
ПОВРЕЖДЕНИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК КАК МАРКЕР РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ РАКА ЛЕГКОГО Луценко Н.А., Виткалова И.Ю., Гуреев А.П., Попов В.Н., Михайлов А.А., Сержантова О.В.....	357
ПОЛУЧЕНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО ДОМЕНА БЕЛКА-ПРЕДШЕСТВЕННИКА В-АМИЛОИДА Любимова А.Н., Михайлина А.О., Костарева О.С.....	358
РОЛЬ ФАКТОРА CROL В РЕПРЕССИИ ГЕНОВ БЕЛКАМИ ГРУППЫ POLYCOMB У DROSOPHILA MELANOGASTER Михайлова А.В., Ломаев Д.В., Четверина Д.А., Ерохин М.М.....	359
ВЛИЯНИЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ НА ТРАНСПОРТ YB-1 Мордовкина Д.А., Ким Е.Р., Сорокин А.В., Овчинников Л.П.....	360
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СИСТЕМЫ CRE-LOXP ДЛЯ ИНДУКЦИИ МНОЖЕСТВЕННЫХ ХРОМОСОМНЫХ ПЕРЕСТРОЕК В ГЕНОМЕ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА Мунгалов Р.В.....	360
ПОИСК БЕЛКОВЫХ ПАТТЕРНОВ ПАТОГЕННОСТИ ESCHERICHIA COLI Мусарова В.А., Матюшкина Д.С., Бутенко И.О., Говорун В.М.....	361



СОЗДАНИЕ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОНСТРУКЦИЙ ДЛЯ ЭКСПРЕССИИ РИБОНУКЛЕАЗЫ <i>BACILLUS LICHENIFORMIS</i> В КЛЕТКАХ <i>ESCHERICHIA COLI</i> Надырова А.И., Сурченко Ю.В., Ульянова В.В., Ильинская О.Н...	362
ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БОЛЕЗНЕЙ ЛЬНА ( <i>LINUM USITATISSIMUM</i> L.) Новаковский Р.О., Рожмина Т.А., Кудрявцева Л.П., Мельникова Н.В., Дмитриев А.А.....	363
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ПШЕНИЦЫ К РЖАВЧИНЕ Норбеков Ж.К., Тураев О.С., Хусенов Н.Н., Вохидов С.Т., Кушанов Ф.Н., Имаходжаева А.С.....	364
ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ МУТАНТНЫХ ФОРМ ЛЁД-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА (IBP) Окулова Ю. Д., Мельник Б. С.....	365
МНОЖЕСТВЕННОСТЬ ПРОДУКТОВ ГЕНА <i>DM NXF1</i> КАК ОСНОВА ПЛЕЙОТРОПИИ ГЕНА Пасынков А.И., Мамон Л.А., Голубкова Е.В., Гинанова В.Р., Кливер С.Ф.....	365
ПРЕОДОЛЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК К АПОПТОЗУ С ПОМОЩЬЮ СЕЛЕКТИВНЫХ АНТАГОНИСТОВ <i>MCL-1</i> Первушин Н.В., Сеничкин В.В., Стрелецкая А.Ю., Животовский Б.Д., Копейна Г.С.....	366
СВЕРХЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ: <i>SOD1</i> , <i>SOD2</i> , <i>CAT</i> В КЛЕТКАХ НЕК293Т Пначина Е. М., Фефилова Е. А., Юдин А. Л., Велегжанинов И. О.	367
НОВЫЕ БЕЛКИ-ПАРТНЕРЫ РНК-КВАДРУПЛЕКСОВ Поляков Д.Н., Овчинников Л.П., Кулаковский И.В., Елисеева И.А.....	368
РАСПРЕДЕЛЕНИЕ <i>AG(I)</i> В КЛЕТКАХ С НОКАУТОМ ГЕНОВ, ОТВЕТСТВЕННЫХ ЗА ТРАНСПОРТ <i>SU(I)</i> Рапопорт П.Е., Орлов Ю.А., Ильичева Е.Ю.....	369
ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ ТРАНСКРИПТОМНОГО ПРОФИЛЯ ПРИ <i>FUS</i> -ОПОСРЕДОВАННОЙ ПРОТЕИНОПАТИИ Резвых А.П.1,2, Устюгов А.А., Морозов А.В., Мазин П.В., Мальцев А.В., Чичева М.М., Вихарева Е.А., Евгеньев М.Б., Фуников С.Ю.	370
ПОЛУЧЕНИЕ ТОЧЕЧНЫХ МУТАЦИЙ АКРИЛИЛ-КОА-РЕДУКТАЗЫ ( <i>ACU1</i> ) УВЕЛИЧИВАЮЩИЕ СПЕЦИФИЧНОСТЬ ФЕРМЕНТА К КОФАКТОРУ НАД+ Андриянов П.А., Мустахимов И.И., Решетников А.С.....	371
ПОЛИМЕРАЗА ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ КАК МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА <i>HER2</i> У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА Рустамова Ш.О., Турдикулова Ш.У.....	372
ИДЕНТИФИКАЦИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ АМИЛОИДОВ В ООЦИТАХ <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> Рыжкова К.В., Синюкова В.А., Сопова Ю.В., Белашова Т.А., Галкин А.П.....	373
ЦИАНИНОВЫЕ КРАСИТЕЛИ НА ОСНОВЕ АЗОЛОПИРИМИДИНИЕВЫХ СОЛЕЙ - ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ МАРКЕРЫ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ	





СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК Самохвалова М.С., Тилинин М.С., Якименко Д.Д., Малышева И.А., Лысенко А.С.....	374
ВЛИЯНИЕ ИНФИЦИРОВАНИЯ PSEUDOMONAS SYRINGAE DC3000 НА ИЗМЕНЕНИЕ ДЛИНЫ ТЕЛОМЕР В РАСТЕНИЯХ ARABIDOPSIS THALIANA Санникова А.В., Валева Л.Р., Шарипова М.Р., Шакиров Е.В.....	375
РОЛЬ ГЕТЕРОХРОМАТИНОВЫХ БЕЛКОВ HP1 В ИМПРИНТИНГЕ ОТДЕЛЬНЫХ АУТОСОМНЫХ ЛОКУСОВ У MUS MUSCULUS Сидельников Л.О.....	375
ПОЛУЧЕНИЕ АДЕНОВИРУСА СЕРОТИПА 6 С КОНТРОЛЕМ РЕПЛИКАЦИИ ПОД ПРОМОТОРОМ ГЕНА ТЕЛОМЕРАЗЫ ЧЕЛОВЕКА Сизова М.А., Осипов И.Д., Романенко М.В.....	376
АНАЛИЗ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ХРОМОСОМНОГО РАЙОНА, КОНТРОЛИРУЮЩЕГО ИЗБИРАТЕЛЬНОЕ ЭЛИМИНИРОВАНИЕ ОТЦОВСКОЙ Х-ХРОМОСОМЫ У SCIARA COPROPHILA Скрыпник П.А.....	377
СОЗДАНИЕ УНИВЕРСАЛЬНЫХ И РЕГУЛИРУЕМЫХ ХИМЕРНЫХ АНТИГЕННЫХ РЕЦЕПТОРОВ Слущкая Е.А., Степанов А.В.....	378
ФЕРМЕНТЫ ПОДСЕМЕЙСТВ СYP74M И СYP74L ПЛАУНКА SELAGINELLA MOELLENDORFFII NIERON Смирнова Е.О, Горина С.С., Аскарова Е.К., Мухтарова Л.Ш., Топоркова Я.Ю., Гречкин А.Н.....	379
ИССЛЕДОВАНИЕ АДАПТИВНОГО МУТАЦИОННОГО ПРОЦЕССА В ПОПУЛЯЦИЯХ РЕКОМБИНАНТНЫХ ШТАММОВ ESCHERICHIA COLI Аликина О.В., Сырочева А.О., Глазунова О.А., Шавкунов К.С., Озолинъ О.Н.....	379
ПОЛУЧЕНИЕ МУТАНТНЫХ ФОРМ ГЛИЦИЛ-ТРНК-СИНТЕТАЗЫ ЧЕЛОВЕКА С УЛУЧШЕННЫМИ СВОЙСТВАМИ Танцура А.А., Виноградова Е.С., Никонова Е.Ю., Никонов О.С.....	380
ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА DMNXF1 В ООГЕНЕЗЕ И РАННЕМ ЭМБРИОГЕНЕЗЕ DROSOPHILA MELANOGASTER Торопко М.С., Гинанова В.Р., Кливер С.Ф., Голубкова Е.В., Мамон Л.А.....	381
МОЛЕКУЛЯРНОЕ КАРТИРОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ ПРИЗНАКОВ КАЧЕСТВА ВОЛОКНА НА ОСНОВЕ ГАК ПОПУЛЯЦИИ ХЛОПЧАТНИКА Тураев О.С., Нормаматов И.С., Холмурадова М.М., Юлдашева Н.Н., Хусенов Н.Н., Дарманов М.М., Кушанов Ф.Н.....	382
МОЛЕКУЛЯРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К ЖЕЛТОЙ, БУРОЙ И СТЕБЛЕВОЙ РЖАВЧИНЕ С ЦЕЛЬЮ ПРИМЕНЕНИЯ ДНК-МАРКЕРНОЙ ТЕХНОЛОГИИ В СЕЛЕКЦИИ ПШЕНИЦЫ Тураев О.С.....	383
IN VITRO РЕГЕНЕРАЦИЯ ГРАНАТА (PUNICA GRANATUM L.) ИЗ УЗЛОВОГО ЭКСПЛАНТА Убайдуллаева Х.А.1, Буриев З.Т., Султонова Ш.А., Бабаджанова Ф.И., Болкиев А.А., Абдуллаев А.Н., Эшмурзаев Ж.Б.....	384



ИССЛЕДОВАНИЕ КИНЕТИКИ НАКОПЛЕНИЯ ЦИТОТОКСИЧНЫХ АГРЕГАТОВ В ПРОЦЕССЕ АМИЛОИДООБРАЗОВАНИЯ КАРБОКСИАНГИДРАЗЫ Фахранурова Л.И., Балобанов В.А., Глухов А.С., Рябова Н.А., Катина Н.С.....	384
СВЕРХЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ КОМПЛЕКСА РАСПОЗНАВАНИЯ МИСМАТЧЕЙ В ДНК MSH2 И MSH6 В КЛЕТКАХ НЕК293Т Фефилова Е. А., Пначина Е. М., Юдин А. Л., Велегжанинов И. О.....	385
ИЗУЧЕНИЕ CRISPR CASY СИСТЕМЫ Французова И.В., Арсениев А.Н., Побегалов Г.Е., Федорова Я.В., Северинов К.В.....	386
ДИСПЕРСИОННЫЙ АНАЛИЗ ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ РОДИТЕЛЬСКИХ ЛИНИЙ ГАК ПОПУЛЯЦИИ Холмурадова М.М., Нормаматов И.С., Тураев О.С., Азимов А.А., Норбеков Ж.К., Кушанов Ф.Н.....	387
КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ IFITM В КЛЕТКАХ ЛИНИИ НЕК-293 Хунагов Т.А.....	388
G4-СТРУКТУРА В ПРОМОТОРЕ ГЕНА В-ГАЛАКТОЗИДАЗЫ ВЛИЯЕТ НА УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ БЕЛКА В КЛЕТКАХ E. COLI Чащина Г.В., Калюжный Д.Н., Бениаминов А.Д.....	389
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОЗОНА ДЛЯ ИНДУКЦИИ ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК В МЕТОДЕ «ДНК-КОМЕТ» Чернигина И.А., Кашина А.Ю., Щербатюк Т.Г.....	389
ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ РЕЦЕПТОРПОДОБНОЙ КИНАЗЫ RLK4 РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ ВО ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С PESTOVACTERIUM SAROTOVORUM Шруб Е.В., Колубако А.В., Николайчик Е.А.....	390
СОЗДАНИЕ CRISPR ASCPF1 БЕЛКА, УЗНАЮЩЕГО АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ РАМ-ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ Щеглова Н.В., Колчина Н.В., Васильева А.А., Федорова Я.В., Петухов М.Г., Северинов К.В.....	391

### **Секция «Биофизика и биоинформатика»**

ИССЛЕДОВАНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОВРЕЖДЕНИЙ В ТКАНЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС, ПОДВЕРГНУТЫХ ВОЗДЕЙСТВИЮ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ Абдуллаев С.А., Губина Н.Е., Евдокимовский Э.В., Митрошина И.Ю.....	392
ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ В МОЧЕ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ИНДИКАТОРЫ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ФИЗИЧЕСКИХ И ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ Абдуллаев С.А., Минкабирова Г.М.....	393
РЕПАРАЦИЯ ЯДЕРНОЙ ДНК И УРОВЕНЬ МУТАНТНЫХ КОПИЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК В РАЗНЫХ УЧАСТКАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС, ОБЛУЧЕННЫХ ПРОТОНАМИ 150 МЭВ Абдуллаев С.А., Евдокимовский Э.В., Губина Н.Е.....	394



СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГИБЕЛИ КЛЕТОК ГЛИОМЫ ПРИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ С ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРАМИ РАЗНОЙ ПРИРОДЫ Альзеибак Р., Пескова Н.Н., Турубанова В.Д., Мищенко Т.А., Митрошина Е.В., Ведунова М.В., Балалаева И.В., Крысько Д.В.....	395
МОДЕЛЬ ВОЗДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА ЭРИБУЛИН НА МИКРОТРУБОЧКУ Анисимов М.Н., Гудимчук Н.Б.....	396
КОМПАКТИЗАЦИЯ И АГРЕГАЦИЯ ПРОТИМОЗИНА АЛЬФА РАЗЛИЧНОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ В ОБЛАСТИ PH БЛИЗКИХ К ЕГО ИЗОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ ТОЧКЕ Антифеева Ю.А., Поварова О.И., Фонин А.В., Карасев М.М., Сулацкий М.И., Кузнецова И.М., Туроверов К.К.....	397
ОПТИЧЕСКОЕ КАРТИРОВАНИЕ ВОЛН ВОЗБУЖДЕНИЯ В СЕРДЕЧНОЙ ТКАНИ БЕЗ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КРАСИТЕЛЕЙ Балашов В.А., Горбунов В.С., Гурия К.Г., Агладзе К.И.....	398
АНАЛИЗ СИНЕРГЕТИЧЕСКОГО УМЕНЬШЕНИЯ АКТИВНОСТИ АНТИБИОТИКА МИТОКСАНТРОНА В ПРИСУТСТВИИ ГИДРАТИРОВАННОГО ФУЛЛЕРЕНА C60 Бучельников А.С., Сало В.А.....	398
IN SILICO ДИЗАЙН ИСКУССТВЕННЫХ РИБОПЕРЕКЛЮЧАТЕЛЕЙ Галченкова М.А.....	399
СЕРОТОНИН СТИМУЛИРУЕТ РОСТ РЕГЕНЕРАЦИОННОЙ БЛАСТЕМЫ У ПЛАНАРИЙ Гребенщиков Н.И., Гребенщикова Е.В., Карпов А.Н., Крещенко Н.Д.....	400
АНАЛИЗ ВКЛАДА ГОМОЛОГИЧНОЙ РЕКОМБИНАЦИИ В РЕПАРАЦИЮ ДВУНИТЕВЫХ РАЗРЫВОВ ДНК В ФИБРОБЛАСТАХ ЧЕЛОВЕКА ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ В ДОЗАХ 0-1000 МГР Грехова А.К., Яшкина Е.И., Пустовалова М.В., Осипов А.Н.....	401
ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ В МАЛЫХ ДОЗАХ НА ПАРАМЕТРЫ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ Гринберг М.А., Громова Е.Н., Гудков С.В., Воденеев В.А.....	402
ИССЛЕДОВАНИЯ ФОРМИРОВАНИЯ ПОСТРАДИАЦИОННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК И ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, ПОДДЕРЖИВАЮЩИХ МИТОХОНДРИИ В РАЗНЫХ УЧАСТКАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС, ОБЛУЧЕННЫХ ПРОТОНАМИ 150 МЭВ Губина Н.Е., Евдокимовский Э.В., Абдуллаев С.А.....	403
ИССЛЕДОВАНИЕ СВЯЗЫВАНИЯ ЛИПОСОМ С ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРАМИ ИЗ ТЕТРА(АРИЛ)ТЕТРАЦИАНОПОРФИРАЗИНОВОЙ ГРУППЫ Дьякова Д.В., Сухова В.А., Лермонтова С.А., Клапшина Л.Г., Юдинцев А.В.....	404
ИЗУЧЕНИЕ КОМПЛЕКСОВ ПЕРОКСИРЕДОКСИНА 6 С ТИОЛАМИ В УСЛОВИЯХ IN SILICO И IN VITRO Захарова Е.В., Кондратьев М.С., Гончаров Р.Г., Шарапов М.Г.....	405



МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТИПА ВОЗБУДИМОСТИ НЕЙРОНА ПО СТАТИСТИКЕ ЕГО СПАЙКОВОГО ОТКЛИКА НА ИНЖЕКТИРУЕМЫЙ ИМПУЛЬС ТОКА Земскова Т.С., Параскевов А.В.....	406
КОМПЛЕКСЫ НАНОКЛАСТЕРОВ МЕТАЛЛОВ С БЕЛКОМ БЫЧЬЕГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА: СИНТЕЗ, ОПТИЧЕСКИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА Ивлева Е.А., Павлова Е.Р., Образцова Е.А., Кононихин А.С., Клинов Д.В.....	407
ОПТИМАЛЬНЫЕ ОБЛАСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ СИЛИКАТЕИНА-А И МОЛЕКУЛЫ ОРТОКРЕМНИЕВОЙ КИСЛОТЫ Изотова Е.Д., Акберова Н.И.....	408
КЛЕТОЧНО-АВТОМАТНАЯ МОДЕЛЬ ПРОЦЕССА МАЛИГНИЗАЦИИ КЛЕТКИ Калмыков В.Л., Калмыков Л.В.....	409
СТАДИИ РАЗВОРАЧИВАНИЯ МУТАНТНЫХ ФОРМ КАРБОКСИАНГИДРАЗЫ Б С ВВЕДЕННЫМИ ДИСУЛЬФИДНЫМИ СВЯЗЯМИ: АНАЛИЗ ПО ВРЕМЕНАМ ЖИЗНИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ Карузина Н.Е., Суковатый Л.А., Мельник Б.С., Немцева Е.В.....	410
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ МУТАЦИИ Т330V НА СТРУКТУРУ ВТОРОГО ВНЕКЛЕТОЧНОГО ДОМЕНА (EMD4) НАТРИЙ-ЗАВИСИМОГО ФОСФАТНОГО ТРАНСПОРТЕРА NAPI2B Козлова А. С., Акберова Н. И., Киямова Р. Г., Богданов М. В.....	411
ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ АДЕНОЗИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ В МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА Кочкина Е.Н., Черкашин А.П., Котова П.Д.....	412
ОЦЕНКА ПОПУЛЯЦИОННОЙ СТРУКТУРЫ, А ТАКЖЕ РЕЗИСТОМОВ ШТАММОВ KLEBSIELLA PNEUMONIAE, ПРОДУЦЕНТОВ КАРБАПЕНЕМАЗЫ NDM-ТИПА, ЦИРКУЛИРОВАВШИХ В СТАЦИОНАРАХ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА В ПЕРИОД С 2012 ПО 2016 ГГ. Лихолетова Д.В., Лукашина Н.Б., Капанина А.С., Бакин Е.А., Станевич О.В., Лазарева И.В., Сидоренко С.С.....	413
СЕРОТОНИН И НЕЙРОПЕПТИД FMRFАМИД В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ TETRAONCHUS MONENTERON (MONOGENEA, PLATYHELMINTHES): ИММУНОЦИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ Нефёдова Д.А., Мочалова Н.В., Крещенко Н.Д., Кучин А.В., Теренина Н.Б.....	414
БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЦВЕТОМЕТРИЯ – НОВЫЙ НЕИНВАЗИВНЫЙ МЕТОД РЕГИСТРАЦИИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ Нефедова С.Е., Чешаева А.О., Тирас Х. П.....	415
ТОЧЕЧНЫЙ МУТАГЕНЕЗ ПРОМОТОРА БАКТЕРИОФАГА SP6: ИЗМЕНЕНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ДНК И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ СИЛА ПРОМОТОРА Орлов М.А., Сорокин А.А.....	416



МЕТОД ОПТИЧЕСКОЙ ДИФфуЗИОННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ ДЛЯ IN VIVO ОЦЕНКИ СОДЕРЖАНИЯ ГЕМОГЛОБИНА И УРОВНЯ ОКСИГЕНАЦИИ ОПУХОЛЕЙ Павлова К.Г., Шилягина Н.Ю., Воловецкий А.Б., Клешнин М.С., Орлова А.Г.....	417
ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРНОЙ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РОЛИ АМИНОКИСЛОТНЫХ ОСТАТКОВ «ЧЕРНОГО» И «СЕРОГО» КЛАСТЕРОВ В БЕЛКЕ S100P Пермякова М.Е., Вологжанникова А.А., Пермяков С.Е., Казаков А.С., Денесюк А.И., Денесюк К.А., Уверский В.Н., Пермяков Е.А.....	418
ИЗМЕНЕНИЕ КОНФОРМАЦИИ ЖИРНЫХ КИСЛОТ И УРОВНЯ ПОЛ ПРИ ТРАВМЕ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА ПРИ ДЕЙСТВИИ РЕСВЕРАТРОЛА Пиняев С.И., Пронин А.С., Аверкина Е.В., Степушкина О.Г., Кузьменко Т.П.....	419
ИДЕНТИФИКАЦИЯ И АНАЛИЗ ХОТСПОТОВ В ГЕНАХ KRAS ПРИ КОЛОРЕКТАЛЬНОМ РАКЕ Резапова В.А., Серебрянский И.Г.....	419
ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ БЕНЗИЛПЕНИЦИЛЛИНА НАТРИЕВОЙ СОЛИ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ ВЫСОКОЙ НАПРЯЖЕННОСТИ Роденко Н.А., Беляева И.А., Васильева Т.И.....	420
КУМАРИН С-334 КАК СУБСТРАТ ЛИПОПЕРОКСИДАЗНОЙ РЕАКЦИИ, КАТАЛИЗИРУЕМОЙ КОМПЛЕКСОМ ЦИТОХРОМА С С КАРДИОЛИПИНОМ Ромодин Л.А., Владимиров Ю.А., Лысенко Н.П., Зарудная Е.Н.....	421
ИССЛЕДОВАНИЕ КОНЬЮГАТОВ АНТИСТОКСОВЫХ НАНОФОСФОРОВ В КАЧЕСТВЕ АГЕНТОВ ДЛЯ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ Сенча Л.М., Гурьев Е.Л., Костюк А.Б., Шилягина Н.Ю., Звягин А.В., Балалаева И.В.....	422
РОЛЬ АТФ В РЕГУЛЯЦИИ И РАСПРЕДЕЛЕНИИ ГЕМОГЛОБИНА В ЭРИТРОЦИТЕ Слатинская О.В., Максимов Г.В.....	423
СОЗДАНИЕ ТЕРАНОСТИЧЕСКИХ НАНОКОМПЛЕКСОВ НА ОСНОВЕ АНТИСТОКСОВЫХ НАНОФОСФОРОВ И БИФУНКЦИОНАЛЬНЫХ БЕЛКОВ Смышляева А. С., Гурьев Е. Л., Костюк А. Б., Воденеев В. А., Деев С. М., Звягин А. В.....	424
СОЗДАНИЕ МОДЕЛЕЙ СТРУКТУРА-АКТИВНОСТЬ ДЛЯ ПРЕДСКАЗАНИЯ ПАР ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ С СИНЕРГЕТИЧЕСКОЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТЬЮ Соина Л.О., Лагунин А.А.....	425
ОПТИЧЕСКИЙ ПИНЦЕТ КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ НЕИНВАЗИВНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ МИКРОМЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ НУКЛЕОПЛАЗМЫ ООЦИТОВ МЫШИ Сырчина М.С., Шахов А.М., Айбуш А.В., Надточенко В.А.....	426
ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ ГОЛУБЯ ПРИ ДЕЙСТВИИ ВЫСОКОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ МЕТОДОМ КР-СПЕКТРОСКОПИИ Сюсин И.В., Лоскутова А.Ю., Кильдеева А.Г.....	426



СВЯЗЫВАНИЕ ИОНОВ КАЛИЯ ВЫЗЫВАЕТ ФЛУОРЕСЦЕНЦИЮ-КВАДРУПЛЕКСНЫХ СТРУКТУР Тевонян Л.Л., Калюжный Д.Н.....	427
ПРОЯВЛЕНИЕ СИНЕРГИЗМА ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ДЕЙСТВИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И РАЗЛИЧНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ Филимонова А.Н., Евстратова Е.С., Воробей О.А., Толкаева М.С.....	428
ДИПОЛЬНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ МЕМБРАНЫ ВЛИЯЕТ НА ПОРООБРАЗУЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ ПОЛИМИКСИНА Б Халенёва Д.А., Ефимова С.С., Захарова А.А.....	429
МЕЗЕНХИМНЫЕ СТРОМАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА ЭКСПРЕССИРУЮТ A1-, A2A-, A2B-АДЕНОЗИНОВЫЕ РЕЦЕПТОРЫ Черкашин А.П., Кочкина ЕН., Котова П.Д.....	430
СТАБИЛИЗАЦИЯ АНТИСТОКСОВЫХ НАНОФОСФОРОВ ПОКРЫТЫХ АЛЬБУМИНОМ ПУТЕМ ЛИОФИЛИЗАЦИИ Шанвар С., Liang L., Звягин А. В.....	431
КУМАРИН С-525 КАК СУБСТРАТ ЛИПОПЕРОКСИДАЗНОЙ РЕАКЦИИ, КАТАЛИЗИРУЕМОЙ КОМПЛЕКСОМ ЦИТОХРОМА С С КАРДИОЛИПИНОМ Шангин С.В., Ромодин Л.А., Владимиров Ю.А., Лысенко Н.П., Храмов А.П.....	432
ДВА ТИПА АМИЛОИДНОЙ АГРЕГАЦИИ ТИТИНА IN VITRO Якупова Э.И., Шоно Я.А., Вихлянцев И.М., Бобылёв А.Г.....	433
ВЛИЯНИЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПУЧКА ИОНОВ УГЛЕРОДА НА МЫШЕЙ ПРИ РАЗНЫХ РЕЖИМАХ ОБЛУЧЕНИЯ Дюкина А.Р., Шемяков А.Е., Сорокина С.С., Наумов А.А.....	434



## СЕКЦИЯ "ЭКОЛОГИЯ"

### ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ В КОЛОНИЯХ НАЗЕМНОГО МОЛЛЮСКА- ВСЕЛЕНЦА *Xeropicta derbentina* (GASTROPODA, PULMONATA, HYDROMIIDAЕ)

**Адамова В.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

*valeriavladislavna@gmail.com*

*Xeropicta derbentina* (Krynicky, 1836) является ксерофильным моллюском, естественный ареал которого охватывает территорию Кавказа, Крыма и Малой Азии. За последние десятилетия отмечается широкое распространение *X. derbentina* за пределы нативного ареала.

Материалом для анализа послужили две выборки из колоний, локализованных на территории юга Среднерусской возвышенности (г. Белгород и пгт. Волоконовка). Для сопоставления были произведены выборки из крымских и кавказских популяций. В качестве маркеров были выбраны аллозимы (неспецифические эстеразы, супероксиддисмутаза, малатдегидрогеназа) и ISSR-маркеры ДНК. В последнем случае использовались три праймера: UBC-826 (5'-(AC)8C-3'), IT1 (5'-(CA)8GT-3'), IT2 (5'-(CA)8AC-3').

Колония *X. derbentina* из Белгорода имеет наименьшие показатели генетического полиморфизма как в отношении аллозимных маркеров, так и в случае ISSR-маркеров. Другая колония (пгт. Волоконовка) имеет сопоставимые показатели разнообразия аллозимов с популяцией из Бахчисарая, и разнообразия ISSR-локусов с популяцией из Дилижана. Дифференциация исследуемых групп отличается в зависимости от применения различных маркеров: преобладание индивидуальной изменчивости демонстрирует анализ молекулярной дисперсии на основе аллозимных маркеров; значительную межпопуляционную дифференциацию изучаемых групп показывает аналогичный анализ на основе ISSR-маркеров. Различие в уровне полиморфизма адвентивных групп может быть следствием заноса из разных источников. На это предположение указывает и генетическая дифференциация между колониями из Белгорода и Волоконовки, вычисленная на основе ISSR-маркеров ( $\Phi_{st}=0,746$ ) при низком числе мигрантов между указанными колониями ( $N_m=0,085$ ). Стоит отметить, что генетическая дифференциация на основе аллозимных маркеров намного ниже ( $\Phi_{st}=0,167$ ), а число мигрантов, рассчитанное на основе аллозимного анализа, намного выше ( $N_m=1,247$  особи за поколение). Соотношение эффективной численности к объему выборок в исследуемых группах из вторичного и первичного близки к единице, что может указывать на достаточную жизнеспособность адвентивных колоний *X. derbentina*.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00010.



## СОДЕРЖАНИЕ РТУТИ В ОРГАНАХ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ В РАЙОНАХ ВОЛОГОДСКОЙ ОБЛАСТИ С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ РАЗВИТИЯ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

**Андреева А.В.<sup>1</sup>, Иванова Е.С.<sup>1</sup>, Хабарова Л.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Череповецкий государственный университет, Череповец, Россия

*Alla.Andreeva&519@gmail.com*

Среди всех факторов, влияющих на организм мелких млекопитающих, тяжелые металлы занимают особое место, так как играют огромную роль в процессах жизнедеятельности, но в то же время могут быть высокотоксичны для организмов. К последним относится и исследуемая нами ртуть. Для исследования были выбраны два района Вологодской области: Череповецкий и Белозерский, отличающиеся друг от друга по уровню развития промышленности. Так, на территории Череповца расположено крупное предприятие, сжигающее уголь во время производственной деятельности. А сжигание угля является одной из причин поступления Hg в окружающую среду. На территории Белозерского района нет крупных промышленных предприятий, но расположено множество непроточных водоемов с кислой средой, которая приводит к значительному увеличению скоростей метилирования ртути.

С 2015 по 2017 год было собрано 184 особи 3 родов мелких млекопитающих (23 мыши, 57 полевок, 104 бурозубки). Пробы органов отбирали, сушили при температуре 37-39°C. Концентрацию ртути в мозге, почках, печени, мышцах определяли на ртутном анализаторе РА-915М с приставкой ПИРО. Достоверность различий концентрации ртути в органах между отдельными родами оценивали с помощью непараметрического коэффициента Kruskal-Wallis, достоверность различий концентраций ртути в органах самцов и самок отдельных родов оценивали с помощью непараметрического коэффициента Mann-Whitney.

Минимальная средняя концентрация ртути в органах мышей отмечена в мышцах (0,0334 мг/кг сухой массы), максимальная средняя в печени (0,0639 мг/кг сухой массы). Для бурозубок минимальное среднее значение отмечено в мозге (0,0744 мг/кг сухой массы), максимальное среднее в почках (0,2981 мг/кг сухой массы). Для полевок минимальная средняя концентрация ртути (0,022 мг/кг сухой массы) отмечена в мышцах, максимальная средняя - в почках (0,094 мг/кг сухой массы).

Концентрации ртути в почках и мышцах бурозубок достоверно выше, чем в органах полевок и мышей. Значение Hg в печени бурозубок достоверно выше, чем у полевок, и сопоставимо с концентрацией ртути в печени мышей. Концентрации ртути в мозге исследованных родов достоверно не различаются между собой. Концентрации ртути в органах исследованных полевок, мышей, бурозубок отловленных в районах с разной степенью развития промышленности достоверно не различаются. Концентрации металла в органах бурозубок, мышей и полевок у самцов и самок достоверно не различаются.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00569.





ОЦЕНКА ПАРАЗИТОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ ТАРАНИ  
*RUTILUS RUTILUS* (LINNAEUS, 1758) ИЗ ЕЙСКОГО И БЕЙСУГСКОГО ЛИМАНОВ В  
ПРЕДНЕРЕСТОВЫЙ ПЕРИОД 2018 ГОДА

**Бортников Е.С.<sup>1</sup>, Хорошельцева В.Н.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Азово-Черноморский филиал ФГБНУ ВНИРО (АзНИИРХ), Ростов-на-Дону, Россия;

<sup>2</sup>Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия

*Bortnikov\_1991@bk.ru*

Оценка паразитологического статуса тарани дана на основании результатов анализа половозрелых особей из Ейского и Бейсугского лиманов в период подхода их на нерест, в водоемы нерестово-выростных хозяйств (соответственно ЕЭХРВР и БНВХ).

Паразитологический анализ рыб проводился в соответствии с общепринятыми методами. Определение систематической принадлежности паразитов осуществляли, руководствуясь «Определителем паразитов позвоночных Черного и Азовского морей».

Проведен анализ паренхиматозных органов (печень, почки, селезенка), желудочно-кишечного тракта, мышечной ткани, жабр, глаз и кожных покровов рыб.

Общий списочный состав паразитов тарани насчитывал 7 видов из 4 классов. Среди них по признаку локализации были выявлены жаберные паразиты (микроспоридия *Mухobolus bramae*, инфузория *Trichodina* sp., моногенеи *Dactylogyrus crucifer* и *Diplozoon paradoxum*), глазные (трематоды *Diplostomum* sp. и *Tylodelphys clavata* met) и полостные (*Philometra* sp.).

Паразитофауна тарани из лиманов характеризовалась общностью большинства компонентов (5 из 7). Различия касались микроспоридии *M. bramae*, зарегистрированной в водоемах БНВХ, и *Philometra* sp., обнаруженной в водоемах ЕЭХРВР. Оба вида встречались единично.

Максимальные показатели инвазии в водоемах обоих хозяйств отмечены для традиционного компонента паразитоценоза тарани – моногенеи *D. crucifer*. Причем, в водоемах ЕЭХРВР они были заметно выше: по показателю экстенсивности в 1,3 раза, по индексу обилия – в 1,6 раза. Это может служить показателем большей скученности производителей тарани, пришедшей на нерест в Ейский лиман, в конце нагульного периода или перед зимовкой. На это же указывает более высокая зараженность тарани *D. paradoxum*, заражение которым происходит при прямом контакте рыб в водоемах ЕЭХРВР, в сравнении с водоемами БНВХ.

Инвазированность тарани глазными паразитами в водоемах БНВХ была, наоборот, значительно выше относительно водоемов ЕЭХРВР: по числу зараженных диплостомидами рыб в 2,7 раза (36,4 % против 13,3 %), по индексу обилия – в 5,7 раза. Однако максимальное число метацеркарий в хрусталиках глаз не превышало 6 экз. Такой уровень заражения не представляет опасности для взрослых рыб. Но они через птиц служат источником инвазии для личинок и молоди тарани в нерестовых водоемах.

Таким образом, зараженность половозрелой тарани, пришедшей на нерест в Ейский и Бейсугский лиманы, определялась как паразитоносительство и не наносила видимого ущерба организму рыб.



## МЕЖГОДОВЫЕ И СЕЗОННЫЕ РАЗЛИЧИЯ В ЯЙЦЕПРОДУКЦИИ У *CARABUS ARCENSIS* HERBST, 1784 (COLEOPTERA, CARABIDAE) В ЛЕСАХ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЧАСТИ МЕЩЁРЫ

**Бочаров А.А.<sup>1</sup>, Титова Н.В.<sup>1</sup>, Трушицына О.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Рязанский государственный университет имени С.А. Есенина, Рязань, Россия

79065443682@mail.ru

Жужелица *Carabus arcensis* Herbst, 1784 – транспалеарктический лесной вид, который обитает преимущественно в светлых сосновых лесах, но может также встречаться на пустошах и лугах с песчаной почвой. Размножается весной, личинка развивается летом в течение нескольких недель. Молодые жуки отрождаются из куколок в августе-сентябре и активны до зимней спячки. Зимовка на стадии имаго (Lindroth, 1992; Turin et al., 2003).

Материалом для настоящего исследования послужили сборы жужелиц, проведенные на территории национального парка «Мещёрский» (Рязанская обл., Клепиковский р-н) в сосняке-зеленомошнике с апреля по октябрь в 2016-2017 гг. Жуков собирали почвенными ловушками, в качестве которых использовали пластиковые стаканы, на треть заполненные 4% раствором формалина. Ловушки размещались в линию в количестве 10 штук через каждые 10 м. Выборка жуков осуществлялась еженедельно (Тихомирова, 1975).

Всего за время исследования было собрано 873 экз. *C. arcensis*, из них 352 экз. в 2016 г. и 521 экз. – в 2017 г. Всех особей препарировали, у самок подсчитывали количество яиц в овариолах (Matalin, Makarov, 2011), у жуков, собранных в 2017 г., измеряли длину тела, а также длину и ширину яиц.

Размер жуков варьировал от 15,3 до 19,2 мм, в целом самцы были мельче самок. Средний размер длины тела самок составил  $17,2 \pm 0,8$  мм ( $n=282$ , где средняя  $\pm$  стандартное отклонение), самцов –  $16,2 \pm 0,7$  мм ( $n=239$ ). Размеры яиц варьировали незначительно. Средняя длина яйца составила  $3,7 \pm 0,2$  мм, ширина –  $1,4 \pm 0,1$  мм ( $n=88$ ).

В овариолах одной самки насчитывалось от 1 до 9 яиц. В 2016 г. среднее значение количества яиц составило  $3,2 \pm 1,9$  ( $n=77$ ), а в 2017 г. –  $2,9 \pm 1,8$  ( $n=40$ ). Суммарное количество яиц в 2016 г. почти в 2 раза оказалось выше, чем в 2017 и составило 243 и 114 яиц соответственно. Период яйцекладки наблюдался в июне-июле, длился 6 декад, при этом максимальное количество яиц приходилось на первую декаду июня, а минимальное – на вторую декаду июля и в 2016 и в 2017 гг. Корреляция между размерами тела самок и количеством яиц не обнаружена.

## ВОЗРАСТНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ АЛЛОЗИМНЫХ ЛОКУСОВ В БЕЛГОРОДСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ МОЛЛЮСКА *BREPHULOPSIS CYLINDRICA*

**Адамова В.В.<sup>1</sup>, Быльченко А.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

Byla1996@mail.eu

Ксерофильный моллюск *Brephulopsis cylindrica* (Menke, 1828) является для Белгородской области аллохтонным видом, изначально отмечаемым как эндемик



Крымского полуострова. В последние годы отмечено его распространение за пределы естественного ареала. На территории Белгорода в данный момент существуют две колонии.

Для установления причин его расселения разумно использовать анализ аллозимных локусов изоферментов – оценка разнообразия по этим маркерам позволяет оценить генетическое разнообразие особей в популяции, которое может являться одной из основ для расширения ареала вида. Моллюски из 2 существующих (зарегистрированных) колоний на территории Белгорода исследовались на предмет анализа локусов с разделением особей на адуальных и ювенильных. Разделение по возрастным группам проходило на основании размеров и формы раковины и степени формирования устья. Исследование аллозимов проводилось методом гель-электрофореза в ПААГ.

В ходе исследования зарегистрировано 2 локуса эстераз (EST3 и EST4), 2 локуса супероксиддисмутаза (SOD2 и SOD4) и 2 локуса малатдегидрогеназа (MDH1 и MDH2). Локусы EST3 и MDH2 представлены в исследованных группах в нескольких аллельных состояниях (4 аллеля и 2 аллеля соответственно). Остальные локусы (EST4, SOD2 и SOD4, MDH1) – зарегистрировано 1 аллельное состояние как у адуальных, так и у ювенильных особей. Статистическая оценка данных результатов с использованием критерия  $\chi^2$  выявила достоверность полученных результатов.

По аллелям EST замечена тенденция к увеличению частот аллелей EST 3-1 (с 0,013 до 0,278) и EST3-2 (с 0,313 до 0,325) и снижению EST3-3 (с 0,438 до 0,213) EST3-4 (с 0,238 до 0,275), а по локусу MDH2 – тенденция к снижению частоты MDH2-1 (с 0,838 до 0,613) и росту MDH2-2 (с 0,163 до 0,388). Все это свидетельствует о росте гетерозиготности в популяции, что говорит о приспособлении данных колоний к отличающимся экологическим условиям данной территории и росту жизнеспособности популяции для более нестабильных условий среды. При этом гомозиготное состояние остальных аллозимных локусов можно связать с действием эффекта основателя и происхождением этой колонии от относительно небольшой группы, где данный аллель изофермента был выражен в гомозиготном состоянии.

Таким образом, в ходе исследования установлены основные закономерности возрастной изменчивости аллозимов у колоний *Brephulopsis cylindrica* на территории Белгорода и выявлена тенденция к изменению текущего генетического состояния в исследованных группах.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00010.

## ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПРИЗНАКИ ЛИСТЬЕВ НА ЗАПОВЕДНЫХ И ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ЛУГАХ ЦЕНТРАЛЬНО-ЛЕСНОГО ЗАПОВЕДНИКА

**Гаврилова Т.М.<sup>1</sup>, Чередниченко О.В.<sup>1</sup>, Елумеева Т.Г.<sup>1</sup>**

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

*gavrilova.t.m@list.ru*

Травяные сообщества, в том числе луга, характеризуются высоким разнообразием многих таксонов. В настоящее время актуальна проблема рационального использования лугов, в частности, необходимость выпаса или сенокосения.



Удельная листовая поверхность (УЛП), наряду с другими функциональными признаками, является важным инструментом для понимания реакций луговых растений на хозяйственное использование. Однако о варьировании этих признаков внутри популяций и отличиях популяций одного и того же вида в разных регионах известно немного. Цель этой работы – выявить различия в УЛП луговых растений в зависимости от режима использования.

Площадь листа и удельная листовая поверхность (УЛП) были измерены у 24 видов травянистых растений на используемых и выведенных из использования суходольных лугах Центрально-Лесного заповедника (Тверская область), сходных по флористическому составу. Для каждого вида по листьям, собранным на используемых лугах, была рассчитана зависимость УЛП от площади. Далее по параметрам полученных регрессионных уравнений были рассчитаны теоретические значения УЛП для листьев, собранных на заповедных лугах. Теоретические значения УЛП сравнили с наблюдаемыми с помощью критерия Манна-Уитни.

В результате были выявлены четыре группы видов с разной изменчивостью УЛП. К первой группе отнесены 12 видов, площадь листьев и УЛП которых не зависели от режима использования. Вторая группа включает два вида, листья которых на заповедных участках имели большую или меньшую площадь, а их УЛП изменялась в зависимости от площади листа, что не связано с режимом использования. К третьей группе отнесены 5 видов, листья которых на используемых и заповедных лугах не отличались по размеру, но их УЛП зависела от режима использования и увеличивалась или уменьшалась по сравнению с ожидаемой. В четвертую группу включены 5 видов, листья которых на используемых и заповедных лугах имели разные размеры и УЛП которых изменялась в зависимости от режима использования. Не обнаружено различий в поведении между злаками и разнотравьем, высокорослыми и низкорослыми видами растений. Возможно, выявленные различия в УЛП связаны не только с режимом, но и с различиями в других экологических факторах.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОСТАВА ЭПИКУТИКУЛЯРНОГО СЛОЯ ЛИЧИНОК КОЛОРАДСКОГО ЖУКА (*LEPTINOTARSA DECEMLINEATA*) НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ МЕЖЛИНОЧНОГО ПЕРИОДА

**Ганина М.Д.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН,  
Новосибирск, Россия

*tosya2021@yandex.ru*

Колорадский жук является одним из самых распространенных вредителей сельского хозяйства. Для борьбы с вредителями чаще всего применяют химические методы. Однако длительное использование инсектицидов способствуют не только повышению резистивности у насекомых, но и нарушению естественного функционирования биогеоценозов. Особую актуальность представляют биологические методы регуляции, заключающиеся в заражении насекомых энтомопатогенными микроорганизмами. Одной из главных задач является исследование фундаментальных основ взаимоотношений в системе «насекомое-патоген». На разных онтогенетических стадиях насекомые имеют различную восприимчивость к патогену, обусловленную разным составом защитного эпикуткулярного слоя. Данных по исследованию состава эпикуткулы личинок в онтогенезе практически нет, между тем данная стадия наиболее восприимчива к патогену.



Целью данной работы являлись идентификация и количественное определение состава эпикутикулярного слоя личинок колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata*) с помощью метода ГХ/МС и выявление динамики содержания основных компонентов в течение IV межлиночного периода.

Объектом исследования являлись личинки *L. decemlineata* трех возрастных групп в пределах IV возраста: свежеперелинявшие (4-6 ч после линьки), наиболее чувствительные к грибам *Metarhizium robertsii*; личинки промежуточного возраста (34-36 ч после линьки), со средней устойчивостью; личинки заканчивающие питание (84-86 ч после линьки), с наибольшей устойчивостью к патогену.

Идентификация основных компонентов проводилась путем анализа рассчитанных линейных индексов удерживания и характеристических ионов в масс-спектрах. Было идентифицировано 15 предельных моно-, ди- и триметилразветвленных углеводов состава C<sub>28</sub>-C<sub>32</sub>. Для всех возрастных групп мажорными компонентами являлись углеводороды состава C<sub>30</sub>. Показано, что с увеличением возраста личинок в пределах IV возраста наблюдается уменьшение суммарного содержания углеводов: сумма углеводов для групп свежеперелинявших, промежуточного возраста и заканчивающих питание личинок составила 24.7±5.5, 20.4±7.6 и 11.6±7.4 мкг на см<sup>2</sup> площади поверхности личинки соответственно (N=5, P=0.95). Уменьшение общего количества углеводов в течение исследуемого периода симбатно уменьшению уровня адгезии при заражении конидиями патогенных грибов, способных прикрепляться к поверхности кутикулы. В связи с этим, начальный период после линьки в IV возрасте является «критическим» в плане восприимчивости к энтомопатогенным грибам, при котором личинки содержат наибольшее количество углеводов в эпикутикулярном слое.

## СПОСОБНОСТЬ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ ТОРФОВ СТАБИЛИЗИРОВАТЬ ЭМУЛЬСИИ НЕФТИ И НЕФТЕПРОДУКТОВ

**Герцен М. М.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Тульский Государственный Университет, Тула, Россия

*mani.leontyeva@gmail.com*

Проблема защиты окружающей среды приобретает особую актуальность в связи с загрязнением гидросферы углеводородами нефти. Рекультивацию загрязненных акваторий можно проводить с помощью деструкции нефти экологически чистыми сорбентами на основе гуминовых веществ [1]. Цель работы – исследование стабилизирующей способности гуминовых веществ торфов по отношению к углеводородам нефти.

Объекты исследования – гуминовые вещества (ГВ) торфов Тульской области: тростникового низинного (ТНТ), черноольхового низинного (ЧНТ), сфагнового верхового (СВТ) и сфагнового переходного (СПТ) [2], выделенные по методике, описанной в ранее опубликованной работе [3]. Модельные загрязнители: гексадекан – представитель легкой фракции нефти, дизельное топливо с заправки Роснефть и нефть с нефтеперерабатывающего завода АО «ГАЗПРОМНЕФТЬ–МНПЗ».

Эксперимент по изучению влияния препаратов ГВ на агрегатное состояние нефтепродуктов проводили в пресной воде при комнатной температуре с пересчетом оптических плоскостей на коэффициент пропускания (Т, %), значения которого служили критерием стабильности эмульсии нефти в воде, по формуле (1) [1]:



$T = 10 - D \cdot 100\%$  (1), где  $D$  – оптическая плотность.

Выявлено, что водные эмульсии гексадекана и дизельного топлива более стабильны в присутствии ГВ (ТНТ) и ГВ (СВТ), чьи молекулы обладают развитой периферической гидрофобной частью, с которой осуществляется взаимодействие углеводов при образовании ими ассоциатов с капельками нефти. Нефтяные эмульсии максимально стабилизировались в присутствии всех образцов гуминовых веществ: значения коэффициента пропускания ниже на 10-62%, чем у эмульсий дизельного топлива и на 18-50%, чем у гексадекана: молекулы ГВ и  $n$ -алкан взаимодействуют за счет гидрофобных связей, а сама нефть связывается с гуминовыми веществами и ароматическими, и углеводородными фрагментами. ГВ (СВТ) и (ТНТ) максимально стабилизировали эмульсию нефти в воде и к моменту завершения эксперимента величина  $T$  уменьшилась на 8 и 10%.

Таким образом, ГВ (ТНТ) и ГВ (СВТ) представляют собой перспективные эмульгирующие агенты для утилизации углеводов нефти и нефтепродуктов в водных средах.

Список литературы

1. Гречищева Н.Ю., Мещеряков С.В. Технология восстановления почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами. Справочник. М.: РЭФИА. НИА. Природа. 2003. 258 с.
2. Бойкова О.И., Волкова Е.М. // Известия ТулГУ. Естественные науки. 2013. №3. С. 253.
3. Дмитриева Е.Д., Леонтьева М.М., Сюдюкова К.В. // Химия растительного сырья. 2017. №4. С. 187.

## АНАТОМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ, ПЛОТНОСТЬ И ОРИЕНТАЦИЯ УСТЬИЦ СТЕБЛЕЙ НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ПОРЯДКА *LAMIALES BROMHEAD* В СВЯЗИ С ФОРМИРОВАНИЕМ БЕЗЛИСТНОЙ ЖИЗНЕННОЙ ФОРМЫ

Десятиркина И.А.<sup>1</sup>

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

*innadesiatirkina@mail.ru*

Плотность устьиц может положительно коррелировать с интенсивностью фотосинтеза. Количество устьиц на 1 мм<sup>2</sup> может меняться в соответствии с порядком ветвления из-за опадения листьев в процессе онтогенеза. Эта величина может в определенной степени характеризовать отдельные экологические группы. Утрата листьев у растений аридной зоны связана с экономией влаги из-за сокращения испаряющей поверхности. Существует дефицит сведений об анатомических преобразованиях стеблей, утративших листья, но не изменившихся морфологически.

Цель работы - изучение анатомических особенностей безлистных и облиственных стеблей представителей порядка *Lamiales*: додартии восточной *Dodartia orientalis* L., *Mazaceae* Reveal и льнянки Биберштейна *Linaria biebersteinii* Besser, *Plantaginaceae* Juss. Материал собран в 2014-2016 гг. в степных сообществах в окрестностях г. Волгограда. Структуру побегов изучали на поперечных и парадермальных срезах, используя стандартную анатомическую методику. *D. orientalis* - травянистый многолетник с полурозеточным симподиальным побегообразованием. Развитые листья формируются на осях первого порядка и рано опадают. Сравнительный анализ анатомической структуры надземных осей показал, что толщина хлоренхимы и



плотность устьиц закономерно увеличиваются с порядком ветвления, причем последний показатель становится сопоставимым с плотностью устьиц у недолговечных листьев. Наклон устьиц относительно оси стебля значительно варьирует. У *L. biebersteinii*, имеющей сходную, но облиственную жизненную форму, хлоренхима тоньше и плотность устьиц ниже, чем у *D. orientalis*, увеличение этих параметров с порядком ветвления незначительное. Устьица в меньшей степени отклоняются от оси стебля.

Сравниваемые виды находятся в отдаленном родстве, но их объединяет сходство жизненных форм и условий произрастания, поэтому наличие или отсутствие листьев может сказаться на различиях в анатомической структуре стеблей этих растений. Меньшая плотность устьиц, меньшая относительная толщина хлоренхимы у *L. biebersteinii* очевидно связаны с функционированием развитых листьев. Преобразования анатомической структуры стеблей *D. orientalis* в связи с утратой листьев видимо состояли в увеличении толщины хлоренхимы, плотности устьиц, в изменении особенностей ориентации устьиц относительно оси стебля. Увеличение толщины хлоренхимы и плотности устьиц с порядком ветвления вероятно связано с тем, что оси 2-3 порядков формируются в период опадения развитых листьев и полностью принимают на себя функцию фотосинтеза.

## ЗАКОНОМЕРНОСТИ ОСЕННЕЙ РЕТРАНСЛОКАЦИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ ИЗ ЛИСТЬЕВ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ

Железнова О.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Рязанский государственный университет имени С.А. Есенина, Рязань, Россия

*zheleznova\_rzn@mail.ru*

Круговороты минеральных элементов являются важнейшей характеристикой экосистемы. Одно из существенных звеньев круговорота – ретранслокация веществ из стареющих фотосинтезирующих органов многолетних видов. Это ключевой процесс, определяющий судьбу питательных элементов листьев. Баланс между рециркуляцией элемента в растении и его возвращением в почву через подстилку влияет на химическую нагрузку на экосистему.

Цель настоящей работы – оценить величину осенней ретранслокации (R) тяжелых металлов (ТМ) – Cu, Zn и Cd – из листьев древесных растений и выявить наиболее важные аспекты влияния на данную величину видовых особенностей растений, природы ТМ и их концентрации в почвенном растворе.

Объект исследований – хвойно-широколиственные лесные сообщества юго-запада Мещерской низины. Сезонное почвенно-геохимическое опробование осуществлялось в 2013-2014 гг. Величины R рассчитывались на основе атомно-абсорбционного определения концентраций ТМ в листьях в летний и осенний сезоны.

Согласно полученным результатам, концентрация ТМ в фитомассе в зависимости от сезона меняется в 1,2-1,7 раза. При этом Cu, как правило, ретранслоцируется из листьев деревьев осенью (R = -11,7 – -24,2%). Отток Zn существенно меньше, кроме того, может наблюдаться его аккумуляция (R = -10,2 – +30,6%), связанная с участием Zn в синтезе различных протеаз, необходимых для процессов азотного катаболизма стареющих листьев. Ретранслокация Cd менее регулярна и широко варьирует между видами и между различными местообитаниями для одного вида.

Ярким примером влияния видовых особенностей растений на ретранслокацию элементов является отсутствие осеннего оттока Cu и Zn из листьев *Alnus glutinosa*. Это связано со способностью *A. glutinosa* фиксировать атмосферный азот через симбиоз с



актиномицетами, благодаря чему для нее не существует проблемы дефицита азота и, следовательно, необходимости гидролиза макромолекул и ремобилизации азота (и связанных с азотным метаболизмом элементов, в том числе Cu и Zn) осенью. Примером влияния концентрации элемента в питательной среде на величину его ретранслокации является снижение оттока Zn из листьев в условиях его повышенной почвенной биодоступности (на торфяных почвах), что способствует удалению накопленных в листьях излишков металла.

Другие фракции фитомассы являются органами-стоками для элементов, оттекающих из листьев. Древесина ствола – резервуар для зимнего хранения Cu, Zn, Cd; кора ствола – для Zn и Cd. ТМ на зиму ретранслоцируются также в тонкие ветви и корни.

## РЕДКИЕ ВИДЫ ПТИЦ ПРОЕКТИРУЕМОГО ЗАКАЗНИКА «ПАЗОВСКИЙ» (ПЕЧЕНГСКИЙ РАЙОН, МУРМАНСКАЯ ОБЛ.)

**Зацаринный И.В.<sup>1</sup>, Шаврина У.Ю.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Рязанский государственный университет им. С.А. Есенина, Рязань, Россия

*zatsarinny@mail.ru*

Одной из основных форм сохранения биологического разнообразия крупных географических районов служит создание сетей особо охраняемых природных территорий, в том числе международного уровня. В северо-западной части нашей страны к ним, в частности, относится Зеленый пояс Фенноскандии, который включает в себя как действующие, так и проектируемые ООПТ. В число проектируемых входит и региональный заказник «Пазовский», который располагается в северо-западной части Печенгского района Мурманской области на территориях, примыкающих к границе России и Финляндии. В работе обобщены результаты полевых орнитологических исследований, выполненных авторами в 2003-2018 годах, в этой части Мурманской области, в том числе частично опубликованные ранее (Хлебосолов и др., 2007; Зацаринный и др., 2018, 2018а; Бузун и др. 2019 и др.).

Цель исследования - описание роли проектируемой ООПТ в поддержании биоразнообразия редких видов птиц у северной границы таежной зоны Европы. Орнитофауна проектируемого заказника включает не менее 130 видов птиц, из которых к редким и очень редким видам можно отнести 47% видов (Хлебосолов и др., 2007; Зацаринный и др., 2018, 2018а; Бузун и др. 2019). Среди очень редких видов птиц, встречи с которыми носят не регулярный или единичный характер, большинство залетные или пролетные виды. К «вероятно, гнездящимся» на этой территории можно отнести беркута, кречета и тундряную куропатку. Редкие виды представлены преимущественно гнездящимися и, вероятно, гнездящимися видами. К редким гнездящимся можно отнести серого гуся, синьгу, перепелятника, орлана-белохвоста, сапсана, пустельгу, галстучника, травника, грязовика, бородастую неясыть, серого сорокопута, оляпку, таловку, щура, снегиря и ряд других. На территории проектируемого заказника встречаются и виды, внесенные в Красную Книгу Мурманской области (2014). Большинство из регистрируемых здесь «краснокнижных видов» редки. К малочисленным гнездящимся видам этой территории относятся лебедь-кликун, луток, скопа и журавль серый.

*Работы выполнены при поддержке РГУ имени С.А. Есенина, ГПЗ «Пасвик», АО «Кольская ГМК», Министерства природных ресурсов и экологии Мурманской области,*





частично при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Мурманской области (проект № 17-44-510841 «р\_а»).

## ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ СВЕДЕНИЯ ПО ФИЛОГЕОГРАФИИ ГОЛОГО ЗЕМЛЕКОПА *HETEROCEPHALUS GLABER*

**Землемерова Е. Д.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук (ИПЭЭ РАН), Москва, Россия

*zemlemerovalena@ya.ru*

Голый землекоп *Heterocephalus glaber* распространен в засушливых и полусушливых районах северо-восточной Африки, является эндемиком сомали-масайского биома и обладает рядом уникальных черт, которые не могли не повлиять на структуру его генетического разнообразия, явно недостаточно изученную.

Были проанализированы последовательности двух митохондриальных генов: цитохрома *b* (*cytb*) и контрольного региона (*D-loop*) 28 экземпляров голого землекопа из пяти локальностей Эфиопии, в анализ также были включены последовательности из ГенБанка. Реконструкция филогенетических деревьев была выполнена с помощью алгоритмов: максимального правдоподобия (ML) и байесовского анализа (BI).

По результатам анализа комбинированной последовательности *cytb* + *D-loop* внутри *H. glaber* можно выделить две крупные клады. Первую формируют образцы из южной Эфиопии и Кении, вторую - два образца из восточной Эфиопии (K2P ~ 11,2%). Такое разделение, вероятно, связано с географической изоляцией местообитаний двух данных филогрупп Сомалийским плато, а также долинами рек Гэнале и Вабэ-Шэбэле.

Внутри первой группы можно выделить еще две подгруппы с генетической дистанцией ~ 4%: одна из южной Эфиопии, а вторая из Кении и крайнего юга Эфиопии, что связано с изолирующим эффектом горного массива Мега и обширных лавовых полей. Внутри этих двух подгрупп выделяются более мелкие группировки с генетическими дистанциями от 1% до 2,5%.

Генетическая дистанция между образцами из восточной Эфиопии достигает 3,7%, по-видимому, это связано с наличием географического барьера - горного хребта Черчер между ареалами этих двух предполагаемых филогрупп.

Результаты нашего исследования показали, что *H. glaber* обладает выраженной филогеографической структурой. Вероятно, существует несколько глубоко дивергировавших форм *H. glaber*, некоторые из которых находятся на околовидовом уровне обособления. Проведение границы между внутри- и межвидовой изменчивостью *H. glaber* затруднено из-за таких особенностей его биологии как подземный образ жизни, эусоциальность. Для более обоснованных суждений требуется расширить выборку образцов голого землекопа из восточной Эфиопии и Сомали и провести анализ ядерных генов.

Работа была выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 18-74-00114) (молекулярно-генетические исследования) и в рамках госзадания ИПЭЭ РАН, проект № АААА-А18-118042490058-8 (сбор материала).



ПРИМЕНЕНИЕ ДИСТАНЦИОННЫХ МЕТОДОВ В ИССЛЕДОВАНИИ  
МИГРАЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ПЕЛАГИЧЕСКОЙ АМФИПОДЫ  
*MACROHECTOPUS BRANICKII* (DYB.)

**Карнаухов Д.Ю.<sup>1</sup>, Теплых М.А.<sup>1</sup>, Бирицкая С.А.<sup>1</sup>, Долинская Е.М.<sup>1</sup>, Зилов Е.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

*karnauhovdmitrii@gmail.com*

*Macrohectopus branickii* (Dyb.) является единственной известной на данный момент пресноводной пелагической амфиподой в мире. У данного вида наблюдается выраженный половой диморфизм, так самки в несколько раз больше самцов. И именно миграционные скопления самок данного вида периодически отмечаются в разных районах литоральной зоны оз. Байкал.

Использование для исследования миграционной активности данного вида стандартных гидробиологических методов сбора материала не дает желаемого результата. Взрослые женские особи, обладая достаточно большой скоростью передвижения, практически не улавливаются сетями Джели с малым диаметром ( $d = 25$  см) входного отверстия, и, по мнению ряда авторов, не долавливаются сетями Джели со стандартным диаметром ( $d = 37,5$  см) входного отверстия, а также океаническими моделями данных сетей.

Использование же на литорали Байкала для изучения миграционной активности *M. branickii* дистанционной видеосистемы является более результативным. Во-первых, видеозапись позволяет отмечать даже незначительное количество мигрирующих особей, а во-вторых, показывает более полную картину всего миграционного сообщества. Использование видеосъемки позволяет получать большие массивы данных, которые легко поддаются обработке и анализу. Недостаток данного метода заключается в невозможности интерпретации полученных данных в стандартные показатели численности особей, например, число особей на  $m^3$ . Поэтому используются альтернативные варианты, такие как численность экз./стоп-кадр. Для наиболее полного же изучения данных миграций стоит использовать как видеосъемку, так и классический лов планктонной сетью.

Работы выполнены при поддержке проекта Минобрнауки РФ 6.1387.2017/4.6 и гранта Фонда поддержки прикладных экологических разработок и исследований “Озеро Байкал”.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЧВ И ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ЕЛОВЫХ  
ЛЕСОВ ПЕЧОРО-ИЛЫЧСКОГО ЗАПОВЕДНИКА

**Квиткина А.К.<sup>1</sup>, Смирнов Н.С.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пущино, Россия; <sup>2</sup> Государственный Печоро-Илычский заповедник, пос. Якша, Россия

*aqvia@mail.ru*

Лесные подстилки – важнейшие источники органических и неорганических веществ, поступающих в биосферу и влияющих на процессы концентрирования и рассеивания элементов, их миграцию, аккумуляцию и перераспределение в наземных экосистемах (Богатырев и др., 2004). Формирование лесных подстилок – это функция нескольких



переменных: климата, почвы, лесной растительности, биологической активности комплекса беспозвоночных животных и микробного сообщества (Богатырев и др., 2004; Стриганова, 1980). Микробиологическая активность верхних горизонтов почвы определяется, в том числе, типом произрастающей на почве растительности, и составом опада, поступающего в почву. Поэтому важно изучать характеристики микробного сообщества, осуществляющего деструкцию органического вещества лесных биоценозов. Цель данной работы – оценить биологическую активность и микробную биомассу почв некоторых типов еловых лесов Печоро-Илычского заповедника, а также их связь с составом растительных сообществ.

Образцы почвы и лесной подстилки были отобраны в середине июля 2018 г. из межкрупного пространства в ельнике бореально-высокотравном (3 обр.), ельнике мелкотравно-зеленомошном (3 обр.), ельнике кустарничково-долгомошном (4 обр.), ельнике чернично-зеленомошном (3 обр.) и ельнике крупнопоротниковом (3 обр.). Подстилка была разделена на слои L, F, H либо L и FH. Во влажных образцах верхнего слоя почвы 0-5 см и в подстилке определяли базальное дыхание почв и микробную биомассу методом субстрат-индуцированного дыхания.

В результате почвы выстроились в ряд по мере уменьшения микробной биомассы в верхнем слое почвы (Смик, мкг/г сухой почвы): мелкотравно-зеленомошный ельник  $\geq$  бореально-высокотравный ельник > кустарничково-долгомошный ельник > чернично-зеленомошный ельник (489  $\pm$ 106) > крупнопоротниковый ельник. Таким образом, почвы по размеру микробной биомассы поразделялись на две группы: высокоактивные (мелкотравно-зеленомошный и бореально-высокотравный ельник) и низкоактивные (кустарничково-долгомошный, чернично-зеленомошный, крупнопоротниковый ельник).

Активность экзоферментов в верхнем слое почвы совпадала с показателями микробной биомассы и снижалась в следующем ряду: бореально-высокотравный ельник > мелкотравно-зеленомошный ельник > группа почв с низкой активностью (чернично-зеленомошный ельник, крупнопоротниковый ельник, кустарничково-долгомошный ельник). Т.о., в высокотравном ельнике с максимальным видовым разнообразием напочвенного покрова наблюдалась наибольшая биологическая активность почв.

Работа выполнена по гранту РФФИ мол\_а № 18-34-00987.

## ЗАГРЯЗНЕНИЕ ХЛОРООРГАНИЧЕСКИМИ ПЕСТИЦИДАМИ ЭКОСИСТЕМЫ АЗОВСКОГО МОРЯ В 2018 Г.

**Котов С.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Азово-Черноморский филиал ФГБУН ВНИРО (АзНИИРХ), Ростов-на-Дону, Россия

*KotovSerg2013@mail.ru*

Фактически с момента внедрения хлорорганических пестицидов (ХОП) в практику сельского хозяйства пришло осознание того, что эти соединения - не только эффективное средство защиты растений, но и вещества, представляющие значительную угрозу для окружающей среды. ХОП особенно опасны для водных экосистем. Источниками загрязнения водоемов ХОП могут быть утечки из мест хранения, смыв с водосборных площадей водоемов, а также атмосферный перенос и выпадение с осадками. Их действие может вызвать острое отравление водных беспозвоночных, рыб, амфибий, околоводных и водоплавающих птиц.



В настоящем сообщении приводятся основные результаты загрязнения ХОП экосистемы Азовского моря, полученные в результате летних и осенних исследований в 2018 г. Оценка содержания ХОП в пробах воды и донных отложений дана по сумме наиболее распространенных ХОП: изомеров ГХЦГ ( $\alpha$ -,  $\gamma$ -,  $\beta$ -) и метаболитов и изомеров ДДТ (n,n'-ДДЕ, o,n-ДДЕ, n,n'-ДДД, o,n-ДДД, n,n'-ДДТ, o,n-ДДТ).

Концентрации ХОП в воде Азовского моря в летний период 2018 г. изменялись в пределах  $<0,1-12,0$  нг/л, в осенний период –  $<0,1-2,2$  нг/л. В летний период концентрация ХОП, превышающая ПДК в 1,2 раза и, близкая к ней (0,96 ПДК), зафиксированы в пробах воды, отобранных в восточном районе собственно моря. Осенью превышение ПДК ХОП не зафиксировано. В летний период наиболее высокое загрязнение воды хлорорганическими пестицидами найдено в южном и восточном районах, а также на границе восточного и центрального районов собственно моря. В Таганрогском заливе наиболее загрязнен пестицидами восточный район залива. В осенний период в среднем наиболее загрязнена хлорорганическими пестицидами (1,3 нг/л) вода в южном, центральном и северном районах собственно моря. В исследованных пробах воды идентифицированы n,n'-ДДЕ и n,n'-ДДД. Концентрации остальных определяемых пестицидов, в том числе и пестицида ДДТ, находились ниже предела определения.

В летний период концентрации *стойких* ХОП в донных отложениях Азовского моря варьировали в пределах от  $<0,1$  до 1,1 мкг/кг, в осенний – от  $<0,1$  до 2,7 мкг/кг сухой массы. Наиболее высокие концентрации ХОП в донных отложениях в летне-осенний период обнаружены в восточных районах Таганрогского залива и собственно моря. В составе ХОП, обнаруженных в донных отложениях Азовского моря, идентифицированы только метаболиты пестицида ДДТ: n,n'-ДДЕ и n,n'-ДДД. Пестицид ДДТ в пробах не обнаружен, что характеризует загрязнение донных отложений Азовского моря в 2018 г. как давнее (коэффициент ДДТ/ДДЕ $<1$ ).

Таким образом, результаты исследований по накоплению ХОП в воде и донных отложениях Азовского моря, проведенные в 2018 г., показали, что, несмотря на официальный запрет использования ХОП, введенный в начале 70-х годов прошлого века, эти загрязняющие вещества до сих пор обнаруживаются в воде и донных отложениях Азовского моря.

## ВЛИЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА ПОКАЗАТЕЛИ АОС В ТКАНЯХ ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА *ANODONTA CYGNEA* L.

**Курпе С.Р.<sup>1</sup>, Суховская И.В.<sup>2</sup>, Кочнева А.А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия;

<sup>2</sup>Институт биологии ФГБУН КарНЦ РАН, Петрозаводск, Россия

*mvteam7@gmail.com*

Активная деятельность человека все чаще приводит к загрязнению окружающей среды. Среди загрязнителей особое место занимают тяжелые металлы (ТМ), которые играют двойную роль: с одной стороны, они являются эссенциальными, с другой - их избыток вызывает негативные последствия, в том числе окислительный стресс. В связи с этим, целью нашей работы является изучение реакции некоторых компонентов антиоксидантной системы (АОС) в жабрах и гепатопанкреасе пресноводного двустворчатого моллюска *Anodonta cygnea* на действие различных концентраций солей Ni и Cu, в зависимости от продолжительности воздействия.

Двустворчатые моллюски были подвергнуты действию растворимых солей хлоридов никеля и меди в концентрациях 50 и 100 мкг/л в течение 1, 3 и 7 суток. В тканях



определяли активность глутатион-S-трансферазы (GST), гваякол-зависимой пероксидазы (Px), каталазы (CAT) и концентрацию восстановленного глутатиона (GSH).

Показано, что медь и никель оказывают различное влияние на компоненты АОС в зависимости от ткани, концентрации металла и продолжительности воздействия. Через 24 часа после начала эксперимента в гепатопанкреасе при действии  $\text{Cu}^{2+}$  в концентрации 50 мкг/л уровень восстановленного глутатиона снижается относительно контроля, тогда как действие  $\text{Ni}^{2+}$  приводит к повышению уровня GSH при действии 100 мкг/л через 72 и 168 ч. от начала воздействия. В гепатопанкреасе отмечено увеличение активности GST, относящейся к ферментам второй фазы биотрансформации, при действии 50 и 100 мкг/л  $\text{Cu}^{2+}$  через 168 ч, в то же время действие  $\text{Ni}^{2+}$  приводит к повышению активности этого фермента уже через 24 ч. от начала воздействия при концентрации 100 мкг/л, а через 168 ч. изменения наблюдаются при 50 мкг/л, что, вероятно, связано с активным участием GST в процессах детоксикации.

Снижение уровня GSH через 72 часа и активности GST через 168 ч в жабрах при действии 50 мкг/л  $\text{Ni}^{2+}$  указывает на снижение адаптивных способностей в этом органе, который первым реагирует на изменения в окружающей среде. Реакция на действие меди проявляется в жабрах через 168 ч. в изменении активности CAT и Px. Полученные результаты, вероятно, указывают на более токсичное влияние ионов никеля, по сравнению с ионами меди.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №17-04-01431\_а и в рамках бюджетной темы №0221-2017-0050 (г.р. АААА-А17-117031710039-3).

## СКОЛЬКО ЛЕТ ЖИВУТ *MACOMA CALCAREA* (GMELIN) В БЕЛОМ МОРЕ: ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВОЗРАСТА ПО ВНЕШНЕЙ МОРФОЛОГИИ И СПИЛАМ РАКОВИНЫ

**Лисицына К.Н.<sup>1</sup>, Герасимова А.В.<sup>1</sup>**

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

*lisitsina\_ksenia\_1997@mail.ru*

Бореально-арктические *Macoma calcaria* относятся к одним из наиболее часто встречающихся относительно массовых представителей *Bivalvia* в инфауне шельфа всех северных морей России. Популяционные характеристики данного вида могут быть весьма показательны при экологическом мониторинге, однако до сих пор изучены крайне слабо из-за проблем с оценкой возраста представителей данного вида. В результате многолетних наблюдений за структурой нескольких поселений *Macoma calcaria* в Белом море было получено, что их максимальные размер и продолжительность жизни в изучаемой акватории, оцененные по внешней морфологии раковины, составили 29 мм и 9 лет соответственно. При этом не удалось выявить замедление скорости роста моллюсков с возрастом даже в старших возрастных группах. Возможно, причина такой ситуации была в недостаточной надежности определения возраста *Macoma calcaria* по наружным кольцам. Поэтому было интересно привлечь для определения возраста маком методику анализа меток во внутренних слоях раковины. Основная задача данной работы состояла в сравнении результатов определения возраста беломорских *Macoma calcaria* обоими способами.

Материалом для данной работы послужили дражные сборы маком в летний период 1991-1992 гг. на участке илисто-песчаной бентали (глубины 10-18 м) в проливе Подпахта (Кандалакшский залив). Возраст моллюсков был оценен как по наружным кольцам (174 особи), так по меткам во внутренних слоях раковины (по спилам). Под биноклем мы



подсчитывали количество меток роста на спицах подмакушечных зубов замка. Всего таким образом было обработано 20 особей.

В итоге нами было получено, что результаты определения возраста *Macoma calcarea* обоими методами вполне сопоставимы. Внутренние метки практически полностью дублировали наружные кольца. При использовании наружной морфологии раковины мы, по-видимому, немного недооценили максимальную продолжительность жизни маком в Белом море, по внутренним меткам она составила 10 лет. Как оказалось, беломорские *Macoma calcarea*, относятся к наиболее быстро растущим и короткоживущим представителям вида, достигая размеров 29 мм всего за 10 лет, в то время как аналогичные показатели вида в водах Западной Гренландии составили 30 мм и 17 лет соответственно (Petersen, 1978). При этом осталось неясным отсутствие в изученных беломорских поселениях крупных и медленно растущих маком, поскольку даже найденные самые большие особи (26-28 мм) были в состоянии весьма активного роста. В качестве предположения мы рассматриваем возможность выедания крупных маком бентосоядными рыбами.

## ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МИКРОВОДОРОСЛИ *CHLORELLA* SP. ДЛЯ СНИЖЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ТЯЖЁЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ

**Мамедова Л.В.<sup>1</sup>, Худокормов А.А.<sup>1</sup>, Волченко Н.Н.<sup>1</sup>, Самков А.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

*kubsu.mamedova@gmail.com*

Биологическая очистка вод является одним из самых активно развивающихся направлений экологической биотехнологии. В последние десятилетия наблюдается высокое содержание в сточных водах не только ранее изученных ионов, таких как нитраты и фосфаты, но и тяжелых металлов. Концентрация последних часто превышает допустимую концентрацию ПДК. Это негативно сказывается на флоре и фауне водных экосистем и здоровье человека, так как тяжелые металлы могут образовывать чрезвычайно токсичные комплексные соединения, взаимодействуя с другими веществами, и накапливаться в пищевой цепи.

В биотехнологии для экологически безопасной очистки водоемов наиболее часто используются различные микроорганизмы, но также могут применяться микроводоросли, которые в отличие от других микроорганизмов, являются естественными обитателями водоёмов и способны вместе с тяжелыми металлами утилизировать избыточные концентрации нитратов и фосфатов. Микроводоросли не нарушают баланс водной экосистемы, так как являются естественной флорой водоема. Поэтому использование микроводорослей для очистки водоемов, содержащих повышенные концентрации тяжелых металлов представляется наиболее перспективным.

Нами было оценено влияние *Chlorella* sp. D1 на способность снижать в питательной среде концентрации часто встречаемых тяжелых металлов: свинца, кадмия, меди, цинка и железа. Так как в сточных и промышленных водах загрязнение может превышать нормы ПДК в несколько раз, *Chlorella* sp. D1 культивировали при содержании металлов, равном 5 и 10 ПДК. *Chlorella* sp. D1 вносили в стандартную минеральную среду Пратта вместе с солями тяжелых металлов в следующих концентрациях: свинец 0,01 мг/л, кадмий 0,01 мг/л, медь 1 мг/л, цинк 1 мг/л, железо 1 мг/л, что соответствует 1 ПДК.



Время эксперимента составляло 14 дней, концентрацию металлов измеряли ежедневно.

Установили, что рост культуры *Chlorella* sp. D1 продолжался в течение всего эксперимента до 10 ПДК всех используемых металлов. Анализ полученных данных показал, что снижение металлов в среде составило в среднем 50%, вне зависимости от концентрации в 1, 5 или 10 ПДК. Больше всего снижалась концентрация цинка – 73%, затем меди – 65%, железа - 60%. Наименьшее снижение концентрации наблюдали у кадмия (50%) и свинца (47%). Полученные данные позволяют сделать вывод о перспективности применения *Chlorella* sp. D1 для снижения концентрации тяжелых металлов в среде.

## ОСОБЕННОСТИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ДЕГРАДАЦИИ КОМПОЗИЦИОННЫХ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ

**Мельникова А.А.<sup>1</sup>, Орехова В.А.<sup>1</sup>, Комарова Л.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ИАТЭ НИЯУ МИФИ, Обнинск, Россия

*komarova\_l411@mail.ru*

Актуальность проблемы утилизации полимеров обусловлена высокими темпами роста производства, потребления пластмасс, характерными для стран, развитых в промышленном отношении. В России годовой уровень накопления полимерных отходов достигает 1 млн. т. При этом доля использования отходов в качестве вторсырья составляет всего 5 % и является характерной для промышленных полимерных отходов, имеющих длительный срок эксплуатации.

Целью работы являлось изучение особенностей биологической деградации композиционных полимерных материалов.

Для оценки способности полимерных композиционных материалов к деструкции применяются модельные эксперименты, соответствующие реальным условиям деградации в окружающей среде, с воздействием на материал ограниченного количества факторов (температура, влажность, доступ кислорода). На основании проведенного литературного анализа для оценки биодеструкции ПКМ был выбран почвенный тест, позволяющий ускорить процесс оценки биодegradации объектов исследования благодаря созданию оптимальных условий.

На первом этапе эксперимента проводился почвенный тест. В работе использовалась серая лесная почва и суглинистая почва.

На первом этапе в жидкой питательной среде образцы полимерных пленок помещали в контейнер с почвой. Период активации микроорганизмов почвы составил 20 суток и состоял в увлажнении почвы водой, её рыхлении с поддержанием постоянной влажности  $30 \pm 5$  % и температуры  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  [1].

По истечении периода активации полимерные образцы изымались из контейнера, производился смыв. Полученная таким образом накопительная культура почвенной ассоциации микроорганизмов использовалась далее.

Анализ микробного сообщества почвенных организмов проводился по результатам посева на питательные среды с подсчетом числа колониеобразующих единиц. Далее проводилась идентификация доминирующих групп микроорганизмов. Доминирующими группами микроорганизмов оказались: *Rhizobium radiobacter*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus idosus*.



Развитие микроорганизмов почвенных сред оценивалось по ферментативной (дегидрогеназной и протеазной) активности, т.к. данные показатели отражают изменения в микробном сообществе в результате воздействия внешних факторов.

Список литературы:

1. Агзамов, Р.З. Оценка деградации полиэтиленовых пленок в процессе развития плесневого гриба / Р.З. Агзамов, Э.А. Рафаилова, А.В. Панкова // Ученые записки Казанского университета.-2010.-т.152, кн.2.с.-201-206.

## ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОГЕННОСТИ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫХ МИКРОКАПСУЛ В ПЕРВИЧНОЙ КУЛЬТУРЕ ГЕМОЦИТОВ АМФИПОД

**Назарова А.А.<sup>1</sup>, Гурков А.Н.<sup>1</sup>, Щапова Е.П.<sup>1</sup>, Тимофеев М.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

*annazarova1995@gmail.com*

Полиэлектролитные микрокапсулы являются одной из наиболее многообещающих структурных основ для создания вживляемых микросенсоров, используемых для регистрации физиологических параметров животных в динамике и *in vivo*. Важной характеристикой подобных имплантов при их внедрении в живые организмы является иммуногенность. Первичная культура иммунных клеток изучаемого организма может служить эффективным инструментом, с помощью которого может быть охарактеризована иммуногенность импланта.

Амфиподы (Amphipoda, Crustacea) являются одним из ключевых компонентов экосистемы озера Байкал, благодаря чему они стали объектами ряда экофизиологических исследований, в том числе с использованием имплантируемых микросенсоров. Клетки, циркулирующие в кровеносной системе амфипод, - гемоциты активно участвуют в иммунном ответе организма на чужеродные объекты. Следует отметить, что в литературе отсутствуют примеры получения первичной культуры гемоцитов каких-либо видов амфипод.

Целью данной работы было получение первичной культуры гемоцитов амфипод *Eulimnogammarus verrucosus* (Gerstfeldt, 1858), одного из наиболее распространенных эндемичных видов в литоральной зоне Байкала, и изучение иммуногенности полиэлектролитных микрокапсул с помощью полученной первичной культуры *in vitro*.

Первичную культуру гемоцитов амфипод содержали в среде L-15 (среда Лейбовича) с добавлением 15% фетальной бычьей сыворотки (ФБС) при температуре 6 °С. В данных условиях наблюдается выживаемость не менее 90 % клеток в течении 3 суток.

Для проверки чувствительности полученной первичной культуры к инородным телам, в среду вносили суспензию клеток дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Установлено, что в ответ на это повышается агрегация гемоцитов через 5 часов после начала эксперимента. В первые часы эксперимента с добавлением полиэлектролитных микрокапсул различий между контрольной и экспериментальной группами не обнаружено. Однако через сутки экспозиции наблюдается статистически значимое повышение агрегации гемоцитов в присутствии микрокапсул по сравнению с контролем, что, вероятно, говорит о развитии иммунной реакции гемоцитов на микрокапсулы к этому моменту. Таким образом, было показано, что гемоциты амфипод *E. verrucosus* проявляют





отсроченный иммунный ответ на полиэлектролитные микрокапсулы по сравнению с реакцией на микроорганизмы.

Настоящее исследование проведено при поддержке грантов Российского научного фонда (№ 18-74-00018), Фонда «Озеро Байкал» (№ ФОБ 02-3/14) и гранта для научно-исследовательской работы аспирантов и молодых сотрудников ИГУ (№ 091-18-221, руководитель Щапова Е.П.).

## БИОИНДИКАЦИОННАЯ ОЦЕНКА НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННОГО ВОДОЕМА

**Перминова В.В.<sup>1</sup>, Носков Ю.А.<sup>1</sup>, Воробьев Д.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>НИ Томский государственный университет, Томск. Россия

*vladaperm18@yandex.ru*

В современном мире нефтяное загрязнение водных объектов является одним из ведущих факторов антропогенного воздействия на водные экосистемы. Нефть оказывает негативное влияние на все группы организмов, обитающих как в поверхностном слое и толще воды, так и в грунте. Усугубляют экологическое состояние накопление нефтепродуктов в донных отложениях. Для комплексной оценки экологического состояния нефтезагрязненных водоемов помимо химического, физического и санитарно-микробиологического анализа применяют методы биоиндикации.

В предлеставный период 2017 года проведено исследование нефтезагрязненного водного объекта площадью 1.2634 га – озера без названия, расположенного в Нижневартовском районе ХМАО-Югры. Зоопланктонное сообщество озера в исследованный период представлено небольшим числом видов. Всего в пробах было обнаружено 8 видов зоопланктона, из которых два – ветвистоусые (*Cladocera*), два – веслоногие (*Copepoda*) и 4 – колероватки (*Rotatoria*). Два вида – *Bosmina longirostris* и *Chydorus sphaericus*, часто встречаются в водоемах с нестабильными экологическими условиями. Обилие зоопланктона было невелико и не превышало 14560 экз./м<sup>3</sup>, биомасса не превышала 0.6 г/м<sup>3</sup>, что соответствует β-олиготрофным водоемам по шкале С.П. Китаева. Наиболее обильным видом в исследованном озере был ветвистоусый рачок *Bosmina longirostris*, однако его высокая численность отмечалась не повсеместно. Наиболее равномерно по численности во всех точках был представлен веслоногий рачок *Eudiaptomus graciloides*, вносящий наибольший вклад в общую биомассу.

Отсутствие крупных видов-фильтраторов из рода *Daphnia* может свидетельствовать о нестабильных условиях в водном объекте. Несмотря на довольно низкие значения биомассы зоопланктона, и, соответственно, низкий класс трофности, сообщество представлено видами, характерными для эвтрофных водоемов. Признаком эвтрофирования можно считать присутствие таких видов-индикаторов как *Brachionus diversicornis*, *Bosmina longirostris*, *Chydorus sphaericus*. Соотношение эвтрофных и олиготрофных видов составило 2.5, что характерно для эвтрофных водоемов. Индекс видового разнообразия Шеннона составил 1.57 бит, что также соответствует эвтрофным водоемам.

Исследование донных отложений водного объекта показало отсутствие организмов макрозообентоса в пробах. Используемые для оценки качества донных отложений индексы Гуднайта-Уитли и Шеннона отражают очень низкое качество донных отложений озера, что обусловлено сильным нефтяным загрязнением донных отложений – VI класс качества (очень грязные).



## ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ КОМПЛЕКСА ФАКТОРОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ НА СТРУКТУРУ КАРОТИНОИДОВ ЛИСТЬЕВ *CERATOFILLUM DEMERSUM* L. И *BETULA PENDULA* ROTH.

**Порочкин А.В.<sup>1</sup>, Макурина О.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Самарский национальный исследовательский университет имени академика  
С.П. Королева, Самара, Россия

*avporochkin@ya.ru*

Для проведения исследования и сравнительного анализа конформации каротиноидов листьев двудольных растений были выбраны *Ceratofillum demersum* L. и *Betula pendula* Roth. различных сред произрастания. Факторы воздействия на растения химические (превышающие ПДК в три раза) и физические (длина светового дня и пониженная  $t^{\circ}$  воды). Воздействие на объекты исследования вызывает изменения соотношения величины пиков полос спектров комбинационного рассеяния света, которые регистрируются через трое суток спектрометром Renishaw in Via Basis.

Воздействие на опытные группы тяжелыми металлами приводило к переходу конформации каротиноидов в плоское состояние: изменения в величине соотношения 960 см-1/1004 см-1. Изменения соотношения 1004 см-1/1153 см-1 в опытных группах растений свидетельствует об усилении колебания метильной группировки относительно -C=C- связи.

Было установлено: под действием экспозиции с тяжелыми металлами и их смесями происходит изменение структуры, не влияющее на строение каротиноидов. Соотношение 1520 см-1/1153 см-1, показывающее изменение длины молекулы и конформационные изменения связей -C=C-, не изменилось ни в одной из опытных групп. Так же оставались постоянными соотношения 1004 см-1/1153 см-1 и 1004 см-1/1520 см-1, характеризующие колебания метила в молекуле каротиноидов. При анализе изменений, лишь в некоторых опытных группах есть тенденция к уменьшению соотношений, а значит - переходу молекулы каротиноида из плоской конформации, вероятно из-за изменения микроокружения (белков или липидов).

При сочетанном воздействии факторов на *Ceratophyllum demersum* L. и *Betula pendula* Roth. зафиксированы изменения длины цепи каротиноидов, более значительные колебания метильных группировок и увеличение вязкости микроокружения каротиноидов.

Как физические, так и химические факторы повлияли на конфигурацию и конформацию молекул каротиноидов. Сильнее изменения у молекул каротиноидов, подвергшихся воздействию химических веществ. Особенно при воздействии фосфо-агентами. У данных групп наиболее выраженный вклад метильного радикала в колебания углеродной цепи: молекула более сжата и имеет более плоскую конформацию. Возможно, это связано с более сильным воздействием фосфатов на гидробионты, а изменение конфигурации и конформации молекул каротиноидов является следствием, ответной физиологической реакцией растения на стрессорные факторы. В целом, химические вещества повлияли на изменения конфигурации молекул каротиноидов сильнее, чем физические.



## МЕХАНИЗМЫ ВОСПРОИЗВОДСТВА МЕЖВИДОВЫХ ГИБРИДОВ ЗЕЛЁНЫХ ЛЯГУШЕК КОМПЛЕКСА *PELOPHYLAX ESCULENTUS* В ПОПУЛЯЦИОННЫХ СИСТЕМАХ ПОЛЬШИ: ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

**Рюмин С.С.<sup>1</sup>, Дедух Д.В.<sup>1</sup>**

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

*sergriumin@yandex.ru*

Межвидовые гибриды из-за гетерозиса обладают высоким эволюционным потенциалом и могут занимать новые экологические ниши. Тем не менее, межвидовые гибриды большинства видов животных стерильны. Однако, для ряда гибридов животных была обнаружена способность к преодолению таких репродукционных барьеров путём перехода к клональной или гемиклональной стратегиям передачи геномов за счет изменения раннего гаметогенеза - элиминации одного и эндорепликации оставшегося геномов.

Моделью для изучения гемиклонального воспроизводства гибридов является комплекс зелёных лягушек *Pelophylax esculentus*. В его состав входят два родительских вида - озёрная лягушка *P. ridibundus* (RR) и прудовая лягушка *P. lessonae* (LL), а также их гибрид - съедобная лягушка *P. esculentus*. Широкое пересечение ареалов родительских видов и множественность очагов гибридизации стали основой разнообразия популяционных систем (ПС), различных по видовому составу, соотношению полов, уровню пloidности гибридов. Воспроизводство RL-гибридов характеризуется гаметной зависимостью от одного из родительских видов, что рассматривается как пример гаметного паразитизма. Однако, в ряде ПС гибриды воспроизводятся независимо за счёт появления триплоидов. Тем не менее, детали механизмов поддержания таких ПС остаются неизвестными.

Для выяснения механизмов воспроизводства гибридов *P. esculentus* мы провели отлов животных (Wysoka-Kamienska и Uciechow, Польша) и серию лабораторных скрещиваний с последующей идентификацией геномов головастиков методом FISH. Мы показали, что RL-гибриды производят как гаплоидные R-гаметы, так и редкие L-гаметы. Кроме того, RL-самки производят диплоидные RL-гаметы. Напротив, LLR-гибриды производят только L-гаметы. Для описания элиминации мы провели морфологический анализ гонад гибридных головастиков, обнаружив в цитоплазме клеток зародышевой линии микроядра. В результате анализа гонад 46 ди- и 23 триплоидных гибридных головастиков методом 3D-FISH мы показали наличие R-хромосом в составе 15% и 80% микроядер, что соответствует результатам лабораторных скрещиваний.

Мы считаем, что исследования механизмов поддержания природных ПС бесхвостых амфибий в настоящее время приобретают особую актуальность в связи с обильным вымиранием земноводных из-за пандемического распространения инфекции патогенным грибком *Batrachochytrium dendrobatidis*. Результаты таких исследований могут быть использованы для разработки программ сохранения биоразнообразия амфибий.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-74-00115 с использованием оборудования ресурсных центров Научного парка СПбГУ "РМИКТ" и "ОЭБ".



## ПИТАНИЕ МОЙВЫ (*MALLOTUS VILLOSUS*) В КАНДАЛАКШСКОМ ЗАЛИВЕ БЕЛОГО МОРЯ

**Смирнова К.А.<sup>1</sup>, Демчук А.С.<sup>1,2</sup>, Бахвалова А.Е.<sup>1</sup>, Полякова Н.В.<sup>1</sup>, Иванов М.В.<sup>1</sup>,  
Иванова Т.С.<sup>1</sup>, Лайус Д.Л.<sup>1</sup>**

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

<sup>2</sup>Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия

*katzoukimail@gmail.com*

В Белом море в настоящее время встречаются несколько массовых видов рыб-планктофагов: беломорская сельдь (*Clupea pallasii marisalbi*), атлантическая сельдь (*C. harengus*) молодь которой заходит сюда из Баренцева, трехиглая колюшка (*Gasterosteus aculeatus*) и мойва (*Mallotus villosus*) часто заходящая в Белое море из Баренцева. Эти виды играют важную экологическую роль, образуя так называемую «осиную талию» экосистемы, через которую происходит передача энергии с низших трофических уровней на более высокие.

Материал для данной работы был собран в марте 2018г в районе учебно-научной базы СПбГУ «Беломорская». Мойву вылавливали из-под льда жаберной сетью с ячейей 8 мм на глубине от 40 до 60 м. У рыб была измерена длина, определен пол, стадия зрелости гонад, а также вес без внутренностей. Желудки были зафиксированы 4% раствором формальдегида. Всего было обработано 50 рыб. Анализ содержимого желудков и определение организмов в них осуществлен до наименьшего возможного таксона.

Во время лова мойвы также были взяты пробы зоопланктона. Сбор проводили со льда планктонной сетью Джеди с трех горизонтов 0-20, 40-60 и 90-110м. Отбор проб зоопланктона был осуществлен по стандартной методике, с последующей фиксацией 40% раствором формальдегида. Все организмы определены до наименьшего возможного таксона и посчитаны. Всего обработано 12 проб зоопланктона.

В пробах зоопланктона было встречено 11 таксонов, почти все из которых являются представителями отряда Copepoda, кроме них встречены Нуперииды, морская стрелка *Parasagitta elegans* и гребневики. Среди копепод были отмечены *Metridia longa*, *Calanus glacialis*, *Pseudocalanus sp.*, *Oithona similis*, *Acartia sp.*, *Centropages hamatus* и представители отряда Harpacticoida, а также ювенильные копеподы, определение которых не проводилось. В пробах планктона со всех горизонтов 33% численности составил *Pseudocalanus sp.*, 23% составила *Oithona similis*, 20% - представители отряда Harpacticoida, 8% - *Acartia sp.*, 6% - *Metridia longa*, 5% - *Copepoda juv.*, 3% - *Centropages hamatus* и 2% - *Calanus glacialis*. Остальные таксоны составили менее 1 процента по численности.

92% массы пищевых комков в желудках составили гиперииды, 5% - копепода *Metridia longa* и 2% - *C. glacialis*, меньше 1% занимают представители прочих таксонов. Это говорит о том, что мойва проявляет избирательность в питании, в первую очередь по отношению к гипериидам, которые были встречены в пробах планктона в относительно незначительных количествах, в то время как в желудках они доминировали.



## ТРАНСПОРТ ЦЕОЛИТОВЫХ НАНОЧАСТИЦ В ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОМ ТРАКТЕ МЫШИ

**Степанова Т.А.<sup>1</sup>, Панаит А.И.<sup>1</sup>, Суворов О.А.<sup>1</sup>, Кузнецов А.Л.<sup>1</sup>, Погорелова М.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия

*taisiya94@mail.ua*

Применение современных методов нанотехнологий на основе природных минералов применяется для изготовления препаратов высокой эффективности для повышения продуктивности и улучшения качества продукции сельскохозяйственных животных.

В связи с этим актуальным является разработка наночастиц, обладающих высокими сорбционными характеристиками для эффективной доставки большого количества функционально активных веществ через желудочно-кишечный тракт.

Цеолит обладает выше описанным свойством, в связи с чем был выбран в качестве основы надмолекулярных комплексов. Для определения наличия сорбции у цеолитовых наночастиц проведено измерение и сравнение кинетики оседания водного раствора с чистыми цеолитовыми наночастицами и раствора с цеолитовыми наночастицами насыщенными фосфолипидами.

Нами была разработана технология получения наночастиц сорбента, для чего коммерческий препарат цеолита («Литовит М», АО НПФ «НОВЬ», Россия) последовательно размельчали на планетарной мельнице, далее полученный порошок фрагментировали при низкой температуре с его последующей дегидратацией в высоковакуумной камере, перед применением цеолитовую суспензию обрабатывали ультразвуком. Также был отработан протокол нанесения покрытия из фосфотидилхолина на цеолитовые наночастицы в спиртовом растворе экстракта, полученного из коммерческого препарата смеси фосфолипидов (эмульгатор лецитин соевый, Германия). Накопление наночастиц в тонкой кишке мышей линии NMRI анализировали методами электронно-зондового микроанализа (EPMA) и масс-спектрометрии (ToF-SIMS) по спектру алюминия (характерный элемент в составе цеолита).

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (проект № 16-16-00020).

## РАЗНООБРАЗИЕ ТОНАЛЬНЫХ СИГНАЛОВ БЕЛУХ (*DELPHINAPTERUS LEUCAS*) СОЛОВЕЦКОГО РЕПРОДУКТИВНОГО СКОПЛЕНИЯ (ПО МАТЕРИАЛАМ ПОЛЕВОГО СЕЗОНА 2018 Г.)

**Таганова М.М.<sup>1</sup>, Беликов Р.А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт океанологии им. П.П. Ширшова РАН, Москва, Россия

*mtaganova@inbox.ru*

Белуха (*Delphinapterus leucas*) – белый полярный кит, широко распространенный в северном полушарии. Для белух, как и для всех китообразных, основным каналом получения информации об окружающей среде является акустический. Таким образом,



изучение звуковой активности белух может дать огромное количество сведений, касающихся коммуникации и ориентации этих животных.

Разнообразие издаваемых белухами звуков огромно – они являются одними из самых акустически активных китообразных. Обычно выделяют две крупные категории – импульсные звуки (щелчки) и тональные звуки (свисты). Целью данной работы было краткое описание тональных сигналов белух, записанных с помощью массива стационарных гидрофонов в июле-августе 2018 года в репродуктивном скоплении у м. Белужий о-ва Соловецкий.

В результате изучения более 17 часов аудиозаписей в программе Adobe Audition 3.0 были отобраны 393 тональных сигнала. Для более подробного анализа была использована программа Raven (Cornell Lab of Ornithology). Всего в этой программе было проанализировано 262 сигнала.

В результате анализа доминантных частот сигналов весь массив был разбит на 2 крупные категории: сигналы, излучающиеся на частотах более 10 кГц (высокочастотные (ВЧ) свисты) и сигналы, излучающиеся на более низких частотах (свисты). Это соответствует литературным данным. На основании изученной литературы, особенностей частотных характеристик, формы контура, длительности и личном слуховом восприятии сигналы в этих категориях были разбиты на 15 типов.

После изучения отобранных сигналов можно сказать, что ВЧ свисты (к ним было отнесено 6 типов сигналов) животные используют достаточно редко. В среднем они длятся около 1 с, максимум энергии обычно приходится на первую гармонику. Часто излучаются сериями и комбинируются с импульсными сигналами. Чаще всего ВЧ свисты имеют уплощенную форму частотного контура.

Свисты излучаются на более низких частотах, чем ВЧ свисты (ниже 7 кГц), и гораздо чаще используются белухами. Всего в ходе этой работы было выделено 9 типов свистов. Самыми распространенными свистами являются: короткий «писк» (около 0,1 с); средний по длительности (около 1 с) «щебет», и довольно длительные (около 1,5 с) свисты с восходящим типом частотного контура, почти всегда излучающиеся в комбинации с широкополосными сериями импульсов. У многих сигналов этой категории большая часть энергии приходится не на частоту основного тона, а на вторую или третью гармонику. Также имеет место развитая гармоническая структура (до 14 гармоник).

## НОЧНОЕ МИГРАЦИОННОЕ СООБЩЕСТВО ОЗ. БАЙКАЛ В НАЧАЛЕ НОЧИ В ПОЗДНЕОСЕННИЙ ПЕРИОД

**Теплых М.А.<sup>1</sup>, Долинская Е.М.<sup>1</sup>, Бирицкая С.А.<sup>1</sup>, Карнаухов Д.Ю.<sup>1</sup>, Зилов Е.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

*mary250352@gmail.com*

С наступлением сумерек группы гидробионтов начинают совершать вертикальные миграции. Результатом данного явления является образование ночного миграционного сообщества. Такое сообщество характерно для многих водоемов, в том числе и для озера Байкал. Основными представителями ночного миграционного сообщества озера Байкал являются бентосные амфиподы, низшие ракообразные, коттоидные рыбы и пелагическая амфипода - *Macrohectorus branickii* (Dyb.).

Исследование проводилось в бухте Большие Коты с помощью системы ночного видеонаблюдения в позднеосенний период (24 ноября) в 22:00. Система состояла из видеокамеры и одного осветительного элемента, которые прикреплялись к сваренному металлическому каркасу. Система опускалась на дно (глубина 3 метра), после чего



производилась съемка на протяжении 15 минут, затем система поднималась к поверхности и съемка производилась в течении еще 5 минут. Результаты видеосъемки обрабатывали в лабораторных условиях следующим образом - запись видео останавливали каждые 5 секунд, подсчитывали и записывали количество организмов замеченных в стоп-кадре. В заключение работы составлялась таблица, подсчитывалось среднее количество мигрирующих организмов и строились графики их численности.

В процессе обработки видео была выделена основная миграционная группа - бентосные амфиподы. Максимальная численность особей наблюдалось на 2 минуте съемки у дна. Максимальное количество амфипод на протяжении всей съемки 2 экз./стоп-кадр. Средняя численность на данном участке составила 0,22 экз./стоп-кадр при съемки на дне и 0,3 экз./стоп-кадр при съёмки на поверхности. Единжды было отмечено присутствие коттоидной рыбы на 13 минуте съёмки. Присутствие макрогектопуса не было зафиксировано. В позднеосенний период прослеживается спад миграционной активности и обеднение группового состава.

Работа выполнена при поддержке проекта Минобрнауки РФ 6.1387.2017/4.6 и гранта Фонда поддержки прикладных экологических разработок и исследований “Озеро Байкал”.

## СОСТОЯНИЕ ДРЕВЕСНЫХ ЗЕЛЕННЫХ НАСАЖДЕНИЙ В ЗОНЕ АКТИВНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ АВТОТРАНСПОРТА НА ПРИМЕРЕ Г. ИЖЕВСКА

**Федоров А.М.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Удмуртский государственный университет

*fedam2017@mail.ru*

В настоящее время одним из основных источников загрязнения атмосферы в городской среде является автотранспорт. Для снижения загрязненности атмосферного воздуха используются защитные полосы зелёных насаждений вблизи автодорог. Поэтому исследование состояния придорожных древесных зелёных насаждений является актуальным.

Целью работы являлось изучение состояния и особенностей состава придорожных древесных зелёных насаждений в г. Ижевске.

Исследование проводилось в августе-сентябре 2016-2017 гг. Оценка состояния древесных насаждений происходила визуально по шкале категорий из санитарных правил РФ (утверждены приказом Рослесхоза от 18.05.92 №90). Для исследования были выбраны 18 участков с различной степенью антропогенной нагрузки общей протяжённостью 11,2 км. Всего на данных участках было описано и оценено 1103 дерева.

При описании наблюдаемых участков обнаружены следующие древесные породы: *Betula pendula* Roth, *Fraxinus pennsylvanica* Marsh., *Acer negundo* L., *Populus balsamifera* L., *Sorbus aucuparia* L., *Tilia cordata* Mill., *Malus prunifolia* (Willd.) Borkh., *Ulmus laevis* Pall., *Acer platanoides* L., *Acer tataricum* L., *Larix sibirica* Ledeb., *Quercus robur* L.

Доминирующими породами на исследованных участках являются: *Betula pendula*, *Acer negundo* и *Tilia cordata*. По возрастному составу самой многочисленной группой оказались средневозрастные деревья.

Средний балл состояния древостоя по всем участкам составил – 2,5, что можно охарактеризовать как переход от ослабленного состояния к сильно ослабленному. Были выявлены виды плохо переносящие антропогенную нагрузку: *Larix sibirica*, *Betula pendula*, *Ulmus laevis*. Единственная порода, чувствующая себя комфортно при антропогенной нагрузке - *Malus prunifolia*.



Важно отметить, что практически на всех исследованных участках зелёные насаждения представлены однорядной посадкой. Этот факт демонстрирует, что потенциал зелёных насаждений в полосе отвода на данный момент времени раскрыт не полностью и возможно повышение функциональности благодаря многорядности и многоярусности будущих посадок.

## РТУТЬ В ТКАНЯХ РЫЖЕЙ ЛИСИЦЫ ИЗ РАЙОНОВ ВОЛОГОДСКОЙ ОБЛАСТИ С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ РАЗВИТИЯ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

**Хабарова Л.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Череповецкий государственный университет, Череповец, Россия

*khabarovals@yandex.ru*

На территории Вологодской области располагаются районы с разной степенью антропогенного загрязнения: район крупного металлургического комплекса и особо охраняемая природная территория. Исследования последних десятилетий показывают, что данные о содержании ртути в органах хищников семейства псовые предлагают важную оценку ртутного загрязнения в этих экосистемах. Обыкновенная лисица (*Vulpes vulpes* L.) - коренной вид псовых, распространенный в исследуемом регионе. Таким образом, цель исследования: изучить содержание ртути в тканях обыкновенных лисиц из районов с разной степенью развития промышленности.

Исследование проводилось с 2009 по 2018 год на территории 3 районов Вологодской области: Верховажский (60°44' с.ш. 42°03' в.д.) – удаленный от промышленных территорий на 288 км, Кирилловский (59°52' с.ш. 38°23' в.д.) – расположен на особо охраняемой природной территории, Череповецкий (59°11' с.ш. 37°38' в.д.) – район крупного металлургического комплекса.

Ртуть была измерена на сырую массу в печени, почках, мышцах, мозге, селезенке, стенке кишечника, химусе представителей вида рыжая лисица. Общее количество анализируемого материала составило 102 пробы от 23 особей. Содержание металла определяли на ртутном анализаторе РА-915М (чувствительность прибора 0.001 мг/кг). Точность измерения контролировали с использованием сертифицированного биологического материала DOLT-5 и DORM-4 (Институт химии окружающей среды, Оттава, Канада).

Содержание ртути в тканях рыжей лисицы варьирует в широких пределах - от 0.001 мг/кг сырой массы в мозге до 0.713 мг/кг сырой массы в почках. Средние содержания металла для исследованного вида уменьшаются в ряду: почки > печень > мышцы > селезенка > стенка кишечника > химус > мозг.

Выявлена сильная корреляционная связь содержания ртути в отдельных парах исследованных тканей обыкновенной лисицы: коэффициент Спирмана ( $r_s$ ) = 0.56– 0.95,  $p \leq 0.05$ ,  $n = 7 - 18$ .

Наибольшие средние концентрации ртути во всех исследованных тканях куницы зарегистрированы у животных из Череповецкого района, ниже концентрации у животных из Кирилловского района, минимальные концентрации зарегистрированы у животных из Верховажского района. Установленные с использованием критерия Краскела-Уоллиса различия не являются достоверными, следовательно концентрация ртути в тканях лисицы из района крупного металлургического комплекса сопоставима с концентрациями ртути в тканях лисицы из особо охраняемой природной территории и района, значительно удаленного от промышленных предприятий.





Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00569.

## О ЗАРАЖЕННОСТИ КАРПА *CYPRINUS CARPIO* (LINNAEUS, 1758) МОНОГЕНЕЯМИ РОДА *DACTYLOGYRUS* (DIESING, 1850)

**Хорошельцева В.Н.<sup>1,2</sup>, Бортников Е.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Азово-Черноморский филиал ФГБНУ ВНИРО (АзНИИРХ), Ростов-на-Дону, Россия;

<sup>2</sup>Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия

*vikakhorosheltseva@gmail.com*

*Dactylogyrus* - род моногеней из семейства Dactylogyridae, являющийся самым крупным родом гельминтов, насчитывающим более 1000 видов, среди которых около 95 % паразитируют у карповых рыб. Как правило, дактилогирусы обладают высокой специфичностью к хозяину. Видовой состав у прудовых рыб на юге России представлен 14 видами.

Целью данной работы стала оценка современного уровня зараженности карпа дактилогирусами в рыбоводных хозяйствах южного региона России.

Материалом для исследования послужили 456 экз. разновозрастных групп (сеголетки, годовики, двух- и трехгодовики) культивируемого карпа, отобранные в течение 2016-2018 гг. в рыбоводных хозяйствах Ростовской области, Краснодарского и Ставропольского краев. Для характеристики инвазий использовались два основных показателя зараженности: экстенсивность инвазии (ЭИ) - доля зараженных рыб в выборке (%), и индекс обилия (ИО) - средняя численность паразитов во всей выборке (экз.).

Всего в рыбоводных хозяйствах было обнаружено 4 вида дактилогирусов: *D. extensus*, *D. vastator*, *D. minutus* и *Dactylogyrus* sp. Среди них эпизоотическое значение имеют первые два вида.

*D. extensus* - самый крупный дактилогирус из встречающихся на жабрах карпа, регистрировался у всех обследованных возрастных групп с максимальными значениями ЭИ и ИО у годовиков (86,7 % и 25,5 экз.). В литературе указывается, что паразит характерен для рыб старше одного года, однако нами он был зарегистрирован у сеголетков в хозяйстве Ставропольского края с ЭИ 39,3 %, при этом ИО составлял 2,1 экз.

Другой эпизоотически значимый вид - *D. vastator*, вызывающий тяжелые эпизоотии у мальков массой менее 5 г, регистрировался у годовиков и двухгодовиков в зимовальных прудах с максимальными значениями ЭИ и ИО у первых (76,7 % и 1,8 экз.).

*D. minutus* и *Dactylogyrus* sp. регистрировались гораздо реже и инвазировали сеголетков (*Dactylogyrus* sp.) и трехгодовиков (*D. minutus*) карпа. с ЭИ 3,3 и 61,5 % соответственно.

Таким образом, наиболее распространенным из числа выявленных паразитов был *D. extensus*, инвазировавший 39,3-86,7 % рыб. Все инвазии имели характер паразитоносительства в связи с низкими значениями интенсивности инвазии.



## КАЧЕСТВО ПЫЛЬЦЫ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ, ПРОИЗРАСТАЮЩЕЙ В РАЗЛИЧНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ ГОРОДА ВОРОНЕЖА

**Чугреев М.Ю.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУ Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии, Воронеж, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

*michael.yurievich@yandex.r*

Сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.) входит в число самых распространённых в Евразии деревьев и широко используется в лесокультурной практике в качестве основного лесообразователя во всех климатических зонах. Произрастающие в городских условиях деревья подвергаются воздействию множества стрессовых факторов. Мониторинг состояния генеративной сферы позволяет определить, какие из них оказывают наибольшее влияние, а также оценить уровень техногенного загрязнения.

Проведено исследование качества пыльцы и адаптационного потенциала деревьев сосны обыкновенной, произрастающих при фоновом (Экспериментально-показательный дендрарий ВНИИЛГИСбиотех (ЭПД)) и при сильном техногенном загрязнении (вдоль Московского проспекта и в Кольцовском сквере возле площади Ленина). Определено влияние на изучаемые показатели морфологической формы: в ЭПД и у Московского проспекта отобраны желтопыльниковая и краснопыльниковая формы, в Кольцовском сквере – только желтопыльниковая.

Жизнеспособность пыльцы в стандартных условиях проращивания (27°C) варьировала от 63,1±6,2 до 87,3±3,2%, при этом у морфологических форм достоверно не различаясь. Наибольшие показатели имели деревья, растущие в ЭПД: 87,3±3,2% – у желтопыльниковой и 86,3±6,0% – у краснопыльниковой формы. Деревья около Московского проспекта показали меньшее значение данного показателя: 63,1±4,4% у дерева с желтой и 63,2±4,4% у дерева с красной окраской микростробиллов. Дерево из Кольцовского сквера имело жизнеспособность 75,5±1,7%.

Повышение температуры проращивания (35°C) привело к снижению количества проросшей пыльцы у большинства деревьев на 10-20%. У растений из ЭПД оно составило: 75,5±3,0 и 79,2±8,1% у желто- и краснопыльниковой форм соответственно. У сосны в Кольцовском сквере жизнеспособность стала 58,9±3,5%, у желтопыльниковой возле Московского проспекта – 54,0±3,0%, у краснопыльниковой – 49,8±1,0%

В процессе исследования встречались различные аномалии пыльцы: оптически пустые зёрна; с редуцированным телом; двусторонне проросшие; ветвления пыльцевой трубки, её искривления либо вздутия на конце. В загрязнённых условиях встречалось больше аномалий и их спектр был шире.

Таким образом, на генеративную сферу данного вида воздействует комплекс факторов, включающий в себя уровень техногенного загрязнения, метеорологические условия во время созревания пыльцы и пыления, а также микроклимат конкретного местопроизрастания. Значимых различий в качестве пыльцы двух морфологических форм изучаемого вида в данных условиях не наблюдается.



## ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА ФЛУКТУИРУЮЩЕЙ АСИММЕТРИИ НАДКРЫЛИЙ ЖУЖЕЛИЦ ТУЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ

**Шатрова Т.О.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого,  
Тула, Россия

*shatrova.tanechka@mail.ru*

Жужелицы – обитатели поверхностного слоя почвы, обладают всеми признаками и характеристиками биоиндикаторов для мониторинга экологического состояния окружающей среды. Их флуктуирующая асимметрия взаимосвязана с содержанием тяжелых металлов, накопление которых вызвано антропогенными воздействиями (влияние урбанизации, рекреации, загрязнения воздуха, воды и почв). Последние влияют на фенотипические особенности насекомых и процесс их онтогенеза. В основу используемой методики положена теория «стабильности развития», разработанная российскими учеными А.В. Яблоковым, В.М. Захаровым и др., основанная на том, что стрессорирующие факторы различного типа вызывают в живых организмах изменение гомеостаза. Динамика показателей флуктуирующей асимметрии - ненаправленных различий между правой и левой сторонами различных морфологических структур, в норме обладающих билатеральной симметрией, сигнализирует о смене внешних воздействий, нарушающих нормальный ход морфогенетических процессов. Проявление данной асимметрии свидетельствует о ее адаптивном характере.

Цель исследования: изучение морфологического изменения надкрылий имаго жужелиц на территории промышленных и дорожных зон Тульской области.

Научная новизна и практическая значимость. Полученные результаты позволяют оценить влияние техногенных загрязнителей на насекомых, с целью использования их в качестве биоиндикаторов.

На территории Тульской области отмечено 185 видов жужелиц 51 рода. Представители данного семейства жесткокрылых представляют значительную часть энтомофауны наземных экосистем и обладают высокой чувствительностью к изменению среды обитания.

В ходе исследований оценивалась флуктуирующая асимметрия тела имаго жужелиц, коллекция которых была собрана в Тульской области на территории промышленных предприятий и автомобильных дорог, где наблюдается повышенное содержание тяжелых металлов. После определения видовой принадлежности мы отобрали ряд признаков, по которым проводили сравнение с нормальной особью. Этими признаками были выбраны: длина и ширина надкрылий, длина и ширина переднеспинки; длина головы; расстояние между глазами, а также различия в макро- и микроскульптурой поверхности надкрылий.

Наибольший показатель коэффициента флуктуирующей асимметрии наблюдается у жужелиц *Pterostichus melanarius* L. в районе завода "Штамп", что объясняется вредным воздействием промышленных и автотранспортных эмиссий.

Исследование морфологических изменений жужелиц, позволяет нам судить о пагубном влиянии антропогенных факторов на живые организмы на разно удалённых территориях от эпицентра воздействия.



## ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ХЛОРОФИЛЛА "А" В ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЯХ РЕКИ ТЕМЕРНИК

**Экилик В.С.<sup>1,2</sup>, Ермакова Я.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Азово-Черноморский филиал ФГБНУ ВНИРО (АзНИИРХ), Ростов-на-Дону, Россия;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО Южный Федеральный Университет, Ростов-на-Дону, Россия

*vikwhisky@mail.ru*

В связи с ростом загрязнения окружающей среды, в настоящее время актуальна разработка экспресс методов оценки качества среды обитания водных биологических ресурсов.

Повышенному антропогенному влиянию подвержены реки, протекающие в пределах мегаполисов. Огромное количество загрязняющих веществ, поступающих в эти водоемы, аккумулируются в донных осадках. Поэтому мы предлагаем в качестве показателя экологического состояния водных объектов использовать донные отложения, а именно, содержание в них хлорофилла «а». По количеству этого фотосинтетического пигмента можно судить не только о биомассе и численности фитопланктона, но и оценивать качество воды.

В настоящее время хлорофилл «а» в донных отложениях определяют, в основном, фотометрическим методом. Мы предлагаем использование экстракционно-люминесцентного метода, так как он является более чувствительным.

В целях сравнения спектрофотометрического метода и экстракционно-люминесцентного метода в сочетании с тонкослойной хроматографией были отобраны 11 проб донных отложений в летний период 2018 года на различных участках реки Темерник в пределах города Ростова-на-Дону. Для анализа был взят верхний (1-2 см) слой донных отложений, согласно ГОСТ 17.1.5.01-80. Каждую пробу отбирали в двух параллелях, далее образцы были доставлены в лабораторию для анализа.

Оптическая плотность ацетоновых экстрактов была измерена на спектрофотометре UV-2450 (фирма Shimadzu), интенсивность люминесценции элюатов проб – на спектрофлуорофотометре RF-5301 PC (фирма Shimadzu) при  $\lambda_{возб} = 418$  нм и  $\lambda_{люм} = 675$  нм.

Согласно результатам проведенных исследований, в донных отложениях с различным содержанием хлорофилла "а", расхождение между двумя методами составляло от 20% до 35%.

## ЭВОЛЮЦИЯ ПАРАМЕТРОВ ЖИЗНЕННОГО ЦИКЛА *DROSOPHILA MELANOGASTER* В РЕЗУЛЬТАТЕ ОТБОРА НА ПОЗДНЕЕ РАЗМНОЖЕНИЕ

**Яковлева Е.Ю.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*e.u.yakovleva@gmail.com*

Согласно гипотезе Уильямса отбор на позднее размножение должен приводить к увеличению продолжительности жизни (ПЖ), замедленному старению и сдвигу репродукции на более поздний возраст. Данная гипотеза верна в том случае, если ПЖ – признак, характеризующийся ненулевой наследуемостью, что подтверждается



исследованиями для различных организмов (Fukui et al., 1993; Herskind et al., 1996; Gögele et al., 2011; Lehtovaara et al., 2013).

В экспериментах на *D. melanogaster* показано, что гипотеза Уильямса находит подтверждение. За счет отбора на позднее размножение удалось получить линии мух с увеличенной ПЖ (Rose et al., 1980, 1981, 1984; Rauser et al., 2006; Nuzhdin et al., 1997; Remolina et al., 2012). Вопрос с плодовитостью более сложный: отмечается смещение репродукции на более поздний возраст, но некоторое замечают и общее снижение плодовитости за счет ее снижения в раннем возрасте, иные – напротив – рост плодовитости, но замедленное развитие личинок.

Указанные исследования были проведены на высокоинбредных линиях мух, характеризующихся высокой гомозиготностью и невысокой ПЖ.

Цель нашего исследования – проверить гипотезу Уильямса на линиях диких мух с высокой гетерозиготностью и высокой ПЖ (60-80 дней, против 30-40 в указанных выше экспериментах (Yakovleva et al., 2016)). Нам удалось получить линии мух с увеличенной ПЖ. Средняя ПЖ третьего поколения (F3) составила 96 дней против 75 дней у исходной когорты. В настоящее время изучаются следующие вопросы:

1) Какова роль факторов среды и генетической компоненты в наблюдаемом увеличении ПЖ? Предварительно оценена наследуемость ПЖ в нашем эксперименте.

2) Характеризуются ли линии, отбираемые на долголетие, только сдвигом репродукции или и также ее изменением?

3) Как меняется форма кривой выживания? Ответ на данный вопрос позволит понять, за счет групп какого возрастов меняется ПЖ. Согласно предварительным результатам ответ для разных полов различен. У долгоживущих самок смертность в раннем возрасте низка, но кривая выживания более крутая (и коэффициент вариации (CV) ниже по сравнению с родительскими когортами: 23 для F3 против 25,2 для F1). У самцов, напротив, смертность в раннем возрасте не снижается, зато кривая выживания более пологая (CV растет с 22,3 для F1 до 24,4 для F3), что означает снижение смертности в среднем и позднем возрастах. CV между поколениями у когорты в целом почти не меняется – 24 для F1 и 23,9 для F3.

Таким образом, в докладе будут представлены предварительные результаты эксперимента по отбору мух *D. melanogaster*, недавно содержащихся в лаборатории, на размножение в позднем возрасте.

## СЕКЦИЯ «ПОЧВОВЕДЕНИЕ И АГРОЭКОЛОГИЯ»

### ВЛИЯНИЕ МИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА РАСТИТЕЛЬНЫЙ И ПОЧВЕННЫЙ ПОКРОВ ВЫРАБОТАННЫХ ТОРФЯНИКОВ ВЕРХОВОГО ТИПА ПРИ ВОЗДЕЛЫВАНИИ ГОЛУБИКИ ВЫСОКОРОСЛОЙ

**Антохина С.П.<sup>1</sup>, Яковлев А.П.<sup>1</sup>, Булавко Г.И.<sup>1</sup>, Картыжова Л.Е.<sup>2</sup>, Алещенкова З.М.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

*antohina\_lana@mail.ru*

Выработанные торфяники порождают массу экологических проблем и поэтому требуют своевременного освоения и рационального использования. Одним из альтернативных способов вовлечения их в хозяйственный оборот является рекультивация с возделыванием ягодных растений – голубики и клюквы. Для их культивирования характерны повышенная кислотность субстрата и низкая обеспеченность его основными



элементами питания. Наиболее перспективным в фиторекультивации представляется использование микробно-растительных ассоциаций, которые способны активизировать микробиологические и биохимические процессы на исследуемых площадях.

Для этого на торфянике в посадках голубики высокорослой – *Northland* (сорт 1) и *Denise Blue* (сорт 2) по 4-х вариантной схеме: вариант 1 – контроль, без удобрений; вариант 2 – внесение  $N_{16}P_{16}K_{16}$ ; варианты 3 и 4 – обработка растений 10% и 50% рабочим раствором микробного удобрения МаКлоР в течение 2016-2018 гг. в полевом эксперименте изучены эдафические условия и ответная реакция растений на их изменения.

Показано, что микробная биомасса под голубикой сорта 2 во второй год исследований в вариантах 3 и 4 была выше на 23,8 и 9,2% по сравнению с контролем, а в последующие годы хотя и наблюдалась схожая тенденция, но степень этой активизации была ниже. Под посадками голубики сорта 1 показатели микробной массы торфяного субстрата в вариантах 3 и 4 на второй год возделывания были ниже контроля (в 1,1-1,5 раза), на третий год испытаний почти в 1,1 раза превышали его. Активность дыхания почвенных микроорганизмов для сорта 1 была прямо противоположной накоплению микробомассы. Так, во второй год возделывания на выработанном торфянике с использованием микробных удобрений (вариант 3 и 4) она превышала контроль на 14,5 и 21,5% соответственно. В третий год его культивирования дыхание почвенных микроорганизмов было таким же, как в посадках варианта 1.

В первый год наблюдений выявлено наиболее выраженное стимулирующее действие на развитие надземной фитомассы микробного удобрения в 50%-ной концентрации, эффективность которого превышала таковую полного минерального удобрения соответственно в 2,0 раза. В последующие годы, напротив, наиболее результативным в этом плане было полное минеральное удобрение, превосходившее таковое микробного, в зависимости от его концентрации и возраста растений, у сорта 1 в 1,3–2,2 раза, у сорта 2 – соответственно в 1,5–6,9 раза.

Такой подход позволяет рационально использовать нарушенные земли, получать экологически чистую продукцию, реализуя ее с высоким экономическим эффектом за счет замены минеральных удобрений микробными препаратами.

## ИЗМЕНЕНИЕ КАРБОНАТНОГО СОСТОЯНИЯ ЗАЛЕЖНЫХ ПОЧВ (НА ПРИМЕРЕ ЗАКАЗНИКА «СТЕПЬ ПРИАЗОВСКАЯ», РОСТОВСКАЯ ОБЛАСТЬ)

**Булешева А.М.<sup>1</sup>, Хохлова О.С.<sup>2</sup>, Мякшина Т.Н.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург; <sup>2</sup>ФИЦ ПНЦБИ РАН, ИФХиБПП РАН, Пущино

Сельскохозяйственное освоение почв приводит к изменению их режимов, что отражается не только на их гумусовом состоянии, которое чаще всего изучается в агропочвах, но и на карбонатном состоянии, которое изучено недостаточно. Карбонатные аккумулятивные функции педосферы в субаридных и аридных регионах Евразии сопоставимы с таковыми для гумуса, а в понятие «педогенный» углерод, помимо органического, необходимо включать и углерод карбонатов.

Цель исследования – выявление изменчивости карбонатного состояния в хроносерилах постагрогенных почв заказника «Степи Приазовья» Ростовской области.

Объектом исследования является хроноряд постагрогенных черноземов сегрегационных, находящихся на разных стадиях восстановления: 86, 30, 20, 14 лет на



опытном поле ЮФУ (заказник «Степь Приазовская»). В качестве контроля был изучен агрочернозем сегрегационный, расположенный под пашней. Были проведены полевое морфологическое описание, мезо- и микроморфологические исследования, изучены химические и физические свойства почвы, проведено радиоуглеродное датирование карбонатов в карбонатно-аккумулятивных и переходных к породе горизонтах. Были рассчитаны запасы органического и карбонатного углерода.

По результатам исследования отмечено накопление органического углерода и частичное вымывание карбонатов в залежных почвах, за счет чего их содержание и запасы снижаются. Значения рН становятся менее щелочными, происходит разуплотнение бывших пахотных и нижележащих горизонтов до глубины 50 см.

При переходе из пашни в залежь карбонатные новообразования претерпевают трансформацию по направлению от более стабильных форм к мобильным. Белоглазка теряет четкую форму, ее границы становятся диффузными. В горизонтах АВ<sub>сa</sub> и ВС<sub>A</sub> залежей 86 и 30 лет появляются карбонатные выпоты. В черноземах пашни и 14-летней залежи формируется белоглазка с твердым ядром в нижних горизонтах за счет дополнительного увлажнения весной-ранним летом и осенью.

Карбонаты в почве 14-летней залежи имеют самые «древние» 14C-даты. Предположительно, это связано с растительностью, произрастающей на этом участке, которая имеет мощную корневую систему и вытягивает воду с карбонатами, имеющими значительный возраст. Черноземы 86-летних и 30-летних залежей имеют одинаковые значения 14C-дат для карбонатов. По нашему мнению, это указывает на то, что карбонаты успевают перестроиться за время порядка 30 лет и получить новое квазистабильное состояние по сравнению с пахотной почвой.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-05-00669а.

## БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЧЕРНОЗЕМА ЮЖНОГО ПРИ РАЗЛОЖЕНИИ РАСТИТЕЛЬНОГО СУБСТРАТА

**Гритчин М.В., Каменева И.А.**

ФГБУН «НИИСХ Крыма», Симферополь

*Maxim\_GMV@mail.ru*

В настоящее время научный и практический интерес направлен на решение проблемы сохранения и повышения плодородия почвы за счет применения сидерации и соломы. Такие агроприемы позволяют не только пополнять запасы органического вещества почвы, но и улучшить биологические и физические свойства почвы, а также фитосанитарное состояние агроценозов. Интенсивность разложения растительного субстрата зависит от активности почвенных микроорганизмов. Одним из эффективных приемов интенсификации этих процессов в почве является внесение биопрепаратов на основе эффективных микроорганизмов – деструкторов.

Цель исследований - изучить влияние комплекса микробных препаратов (КБП-5М), фитомассы озимой тритикале и соломы пшеницы на показатели биологической активности чернозема южного.

Применение микробных препаратов при заделке фитомассы тритикале способствовала повышению эмиссии диоксида углерода на 14,3%, активности фермента полифенолоксидазы (ПФО) на 20,5% в сравнении с контролем. Отмечено увеличение численности целлюлозолитических микроорганизмов и амонификаторов на 23,5% и 44,1% соответственно в сравнении с контрольным вариантом. Такая тенденция сохранялась в течение 3-х месяцев исследований.



При заделке соломы, обработанной КБП-5М, также отмечалось повышение биологической активности чернозема южного: эмиссия диоксида углерода увеличилась на 22%, численность амонификаторов и целлюлозолитических микроорганизмов – на 6,5% и 210 % соответственно в сравнении с контролем.

Таким образом, установлено положительное влияние растительных субстратов и комплекса микробных препаратов для их деструкции на биологическую активность чернозема южного.

## СЕЗОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЫ

**Железова А.Д.<sup>1</sup>, Чернов Т.И.<sup>1</sup>, Тхакахова А.К.<sup>1</sup>, Ксенофонтова Н.А.<sup>1,2</sup>, Никитин Д.А.<sup>1</sup>,  
Кутовая О.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Почвенный институт им. В.В. Докучаева, Москва; <sup>2</sup>МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Микробное сообщество, как наиболее динамичный пул в составе органического вещества почвы, быстро реагирует на изменения экологических факторов. В дерново-подзолистых почвах хорошо выражены сезонные изменения температуры и влажности, что приводит к изменениям активности почвенной микробиоты. Для полной характеристики состояния микробного сообщества необходима оценка его пространственной и временной вариации. Целью исследования был анализ сезонной динамики микробного сообщества залежной дерново-подзолистой почвы и оценка влияния температуры и влажности почвы на биомассу и обилие отдельных таксономических групп.

Были исследованы образцы почвы залежи, находящейся на территории стационара «Ельдигино», Московская область, Пушкинский район. Отбор образцов проводили ежемесячно с марта 2017 по февраль 2018 с 5 точек с глубин 10 см, 35 см и 55 см в соответствии с залеганием генетических горизонтов Р, ВЕL, ВТ2. Температуру почвы в течение года определяли с помощью метеостанции «Vantage Pro2». Влажность почвы оценивали термостатно-весовым методом. Биомассу одноклеточных прокариот, актиномицетов и грибов оценивали с помощью метода люминесцентной микроскопии. Оценку количества копий генов бактерий, архей и грибов в препаратах ДНК и РНК проводили с помощью количественной ПЦР.

В течение года микробная биомасса изменялась в 2-6 раз. Наибольшее варьирование биомассы бактерий, актиномицетов и грибов наблюдалось в горизонте Р. Биомасса грибов составляла до 95% от микробной биомассы во всех горизонтах. Максимальные значения биомассы грибов выявлены в июле и сентябре, прокариот – в августе и сентябре. Биомасса всех исследованных групп была минимальной в период с ноября по март. Выявлено значимое влияние температуры и глубины отбора образца на показатели микробной биомассы. Количество копий рибосомальных генов бактерий в препаратах ДНК в горизонте Р в период с марта по сентябрь варьировало в пределах  $8,4 \cdot 10^9$ - $6,04 \cdot 10^{10}$  копий/г почвы, архей –  $1,3$ - $6,9 \cdot 10^{10}$  копий/г почвы, грибов –  $1,4$ - $8,9 \cdot 10^9$  копий/г почвы. В период с октября-ноября по февраль эти показатели снижались на 3-4 порядка. Схожие паттерны наблюдались для количества копий генов в препаратах РНК после обратной транскрипции.

Таким образом, выявлены основные тренды сезонной динамики микробного сообщества в дерново-подзолистой почве. Полученные результаты могут быть использованы при сравнении численности микроорганизмов в образцах, отобранных в разные сроки.





Работа выполнена при поддержке РФФ, проект № 17-16-01057.

## ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ ГИДРОЛАЗНЫХ И ОКСИДОРЕДУКТАЗНЫХ ФЕРМЕНТОВ ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ЛЕГКОСУГЛИНИСТОЙ ПОЧВЫ ПОД ДЕЙСТВИЕМ БЕНТОНитОВОЙ ГЛИНЫ

**Козлов А.В.**

ФГБОУ ВО Нижегородский государственный педагогический университет им. Козьмы  
Минина, Нижний Новгород

*a\_v\_kozlov@mail.ru*

Выращивание сельскохозяйственных культур требует постоянного применения научно обоснованных доз удобрительных веществ и мелиорантов, способствующих пополнению почвенного раствора питательными элементами и оптимизации кислотно-основного состояния почвенно-поглощающего комплекса. На биоценоотическом уровне данные мероприятия обеспечивают поддержание показателей эффективного плодородия почв агроценозов и их агроэкологической устойчивости.

В связи с современным низким уровнем насыщенности севооборотов удобрениями актуализированы поиски агрономической эффективности природных материалов, применяемых в качестве нетрадиционных удобрений. К таковым, в том числе, относят различные сыромолотые породы, минералогический состав которых представлен опал-кристобалитами, клиноптилолитом, монтмориллонитом, вермикулитом и другими алюмосиликатными минералами различного микроморфологического строения.

Микрополевой опыт проводили в течение трех лет (2015-2017 гг.) на дерново-подзолистой среднедерновой неглубокоподзоленной неоглеенной легкосуглинистой почве, образованной на покровном суглинке. Опыт включал контрольный вариант и 3 варианта с внесением в пахотный слой высоких доз (3, 6 и 12 т/га) бентонитовой глины Зырянского месторождения. Почвенные образцы отбирали непосредственно после уборки культур, в которых определяли активность основных ферментов из классов гидролаз и оксидоредуктаз по общепринятым в почвенной энзимологии методам.

Развитие целлюлазной активности почвы приходилось на 2 год исследования, где при минимальной дозе материала показатель повышался в 2,8 раза, а при средней и максимальной дозах – в 3,7 и 3,9 раза соответственно. Протеазная активность почвы также увеличивалась под действием бентонита – в наибольшей степени в 1 год исследования на варианте Б<sub>2</sub>. В среднем за три года активность протеаз в почве по вариантам опыта возрастала под действием породы от среднего до высокого уровня или на 36%, 93% и 80% соответственно. В 2015 году на вариантах Б<sub>1</sub>, Б<sub>2</sub> и Б<sub>3</sub> активность фосфатазных ферментов повышалась соответственно на 27%, 64% и 114%, то в 2016 году – положительное действие оказалось еще сильнее – соответственно на 42%, 95% и 147% по отношению к контролю. Активность полифенолоксидаз и пероксидаз почвы на вариантах исследования изменялась взаимно обратно. Так, если полифенолоксидазная активность увеличивалась как от дозы бентонита, так и в пролонгированности лет исследования на каждом из вариантов (в среднем за 3 года соответственно на 16%, 23% и 27%), то показатель пероксидазной активности в почве снижался до 2% в 1 год и до 5% на 2 и 3 годы исследования.



## ИЗМЕНЕНИЕ СВОЙСТВ ЛУГОВО-ЧЕРНОЗЕМНЫХ ПОЧВ ПОД ВЛИЯНИЕМ ПРОДУКТОВ ЭРОЗИИ ОТВАЛОВ СУЛЬФИДСОДЕРЖАЩИХ ПОРОД

**Костин А.С., Кречетов П.П.**

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

*alexanderk640@gmail.com*

Угледобыча на территории Подмосквовного бурогоугольного бассейна привела к трансформации почв и окружающих ландшафтов. Разработка угольного месторождения шахтным способом приводит к формированию конических отвалов (терриконов), сложенных выработанной породой супесчано-глинистого состава, слабооструктуренной, с высоким содержанием сульфидов железа (до 5%) в форме пирита, а также углерода (до 20%) угольного происхождения. Физико-механические свойства пород способствуют разрушению отвалов, вследствие чего образуются техногенные шлейфы породного материала отвалов. Образование полостей в отработанном шахтном поле приводит к формированию просадок, что также изменяет направление почвообразования в сторону усиления гидроморфизма.

В результате окисления пирита и кислотного гидролиза алюмосиликатов в отвалах в высоких концентрациях образуются токсичные для биоты серная кислота, сульфаты Fe и Al.

Целью работы являлась оценка влияния эрозионных шлейфов отвалов сульфидсодержащих пород на свойства лугово-черноземных почв. Исследовались почвы в зоне влияния отвалов шахты «Майская» в Узловском районе Тульской области.

На фоновой территории в подчиненных ландшафтах преобладают лугово-черноземные почвы под влажнотравно-луговой растительностью на лессовидных суглинках. Почвы характеризуются слабокислой и нейтральной реакцией (pH=5,6-7,1) и высоким содержанием гумуса (до 7%). Почвенно-поглощающий комплекс насыщен обменными  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$ , его емкость составляет около 20 ммоль (+)/100 г почвы.

Материал отвалов и наносов характеризуются сильнокислой реакцией (pH=3,5-3,9). В выделенных спиртом жидких фазах из наносов, выявлено высокое содержание сульфатов (до 25 ммоль (-)/дм<sup>3</sup>) и кальция (до 39 ммоль (-)/дм<sup>3</sup>). Величина титруемой кислотности почвенных растворов достигает 14 ммоль (+)/дм<sup>3</sup> и связана с  $\text{H}^+$  (до 13 ммоль (+)/дм<sup>3</sup>). Вследствие эрозии отвалов происходит погребение почв и формируются техногенно-трансформированные почвы.

В верхней части погребенного гор. AU отмечается обилие включений углистых частиц, зерен пирита и кристаллов гипса, в илювиальном гор. VI(g) - Fe-Mn примазки и стяжения, и углистые кутаны. В просадках из-за повышенного грунтового увлажнения происходит усиление оглеения лугово-черноземных почв.

Почвенные растворы в верхней части погребенного почвенного профиля приобретают кислую реакцию (pH=4,1-5,5), отличаются значительным содержанием  $\text{H}^+$  (до 8,5 ммоль (+)/дм<sup>3</sup>) и сульфатов (до 25 ммоль (-)/дм<sup>3</sup>), что 10-15 раз выше фоновых значений. Под воздействием кислых растворов содержание обменного  $\text{Ca}^{2+}$  в погребенных горизонтах снижается в 2 раза.



## НАКОПЛЕНИЯ Pb И Cd В УРОЖАЕ ЗЕРНОВЫХ И ПРОПАШНЫХ КУЛЬТУР ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СИСТЕМАХ УДОБРЕНИЙ НА ЧЕРНОЗЕМНЫХ ПОЧВАХ

**Курбаков Д.Н., Кузнецов В.К.**

ФГБНУ Всероссийский научно исследовательский институт радиологии и агроэкологии,  
Обнинск

*Kurbakov007@gmail.com*

Накопление тяжелых металлов (ТМ) растениями, произрастающими на загрязненных почвах, в значительной степени зависит от уровня загрязнения последних, от валового содержания и концентрации их подвижных форм, а также от вида сельскохозяйственных культур.

Цель исследования - изучение поступления ТМ в сельскохозяйственную продукцию при разных системах внесения удобрений и степень влияния агроメリорантов на качество урожая культур, произрастающих на глубоковыщелоченном среднекультуренном черноземе Тульской обл. Севооборот зерновой четырехпольный, количество вариантов 17, повторность опыта 4-х кратная. Размер делянок составляет 240 м<sup>2</sup>. В качестве опытной культуры использовалась яровая пшеница «Энита».

При внесении минеральных удобрений в дозах N<sub>0-150</sub>P<sub>0-120</sub>K<sub>0-150</sub> отмечалось повышение урожайности пшеницы и изменение биологической подвижности ТМ, и особенно, Cd. Содержание Pb в зерне пшеницы в большинстве случаев не выходило за пределы допустимых значений, установленных СанПиН 2.3.2.1078-01. Однако в вариантах с внесением несбалансированных доз удобрений (N<sub>90</sub>K<sub>60</sub>, N<sub>150</sub>P<sub>60</sub>K<sub>60</sub>) накопление Pb достигало максимальных значений равных 0,54 и 0,56 мг/кг и превышала норматив. Наибольшей урожайностью (3,52 т/га) характеризовались варианты с внесением полной дозы удобрений (N<sub>90</sub>P<sub>60</sub>K<sub>150</sub>), наименьшая – в контроле и при внесении фосфорно-калийных удобрений (2,48 т/га).

Применение повышенных доз азотных и калийных удобрений способствовало также значительной мобилизации Cd в системе почва-растение. При этом, несмотря на относительно небольшие уровни содержания Cd в почве, его накопление в зерне яровой пшеницы превышало нормы СанПиН 2.3.2.1078-01 (0,1 мг/кг) в 1,5-1,8 раза. Значительное накопление Cd в зерне яровой пшеницы по сравнению с Pb, вероятно, связано с очень высокой подвижностью этого элемента в кислых почвах, в результате чего он легко транслоцируется в растения и накапливается в них в больших концентрациях. При этом длительное применение повышенных доз азотных и калийных удобрений (N<sub>90</sub>K<sub>60</sub>, N<sub>90</sub>P<sub>60</sub>, N<sub>150</sub>P<sub>60</sub>K<sub>60</sub>, N<sub>90</sub>P<sub>60</sub>K<sub>150</sub>) обуславливало, соответственно, увеличение его накопления в зерне яровой пшеницы в 2, 1,5, 1,7 1,7 раза выше по сравнению с контролем. В то же время в вариантах с проведением известкования содержание Cd в зерне существенно не отличалось от растений в контрольных вариантах.

Таким образом, при планировании агрохимических мероприятий следует учитывать комплекс факторов, включая свойства почвы, соотношение в удобрениях элементов питания, видовые особенности растений, химические свойства и подвижность тяжелых металлов в системе почва - растение.



## ПОЧВЫ РАЗЛИЧНЫХ АГРОКЛИМАТИЧЕСКИХ РАЙОНОВ ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

Лазарева М.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Центральный музей почвоведения им. В.В. Докучаева, Санкт-Петербург;

<sup>2</sup>ФГБНУ Почвенный институт им. В.В. Докучаева, Москва

*margoflams@mail.ru*

В пределах Ленинградской области выделены почвы, относящиеся к 5 агроклиматическим районам.

*Первый агроклиматический район (I)* охватывает северо-восток и восток Области. В него входят Подпорожский, Бокситогорский, частично Лодейнопольский и Тихвинский административные районы. Данный климатический район располагает наиболее низкими ресурсами тепла.

Почвы здесь бедные, переувлажненные. Большие массивы территории заняты лесами, часто с вырубками, где распространены турбированные почвы, и болотами с торфяными олиготрофными почвами.

*Второй агроклиматический район (II)* занимает центральную часть Области. В него входят Волховский, Киришский, Кировский, частично Лодейнопольский, Тихвинский и Тосненский административные районы. Данный агроклиматический район умеренно теплый.

Здесь широко распространены торфяные, торфяно-глеевые почвы, глееватые подтипы и глеевые типы естественных почв. Выделены аллювиальные почвы в долинах рек. Почвы болот часто используются под торфоразработки.

*Третий агроклиматический район (III)* охватывает Карельский перешеек. В него входит большая часть Всеволожского, Выборгский, Приозерский административные районы. Территория района неоднородна в климатическом отношении. Более низкими суммами температур отличаются побережье Ладожского озера и Приневская низменность. Наиболее теплой является северо-западная часть района, омываемая Финским заливом.

На севере района распространены подбуры, их оподзоленные подтипы, петроземы, а также дерново-элювиально-метаморфические почвы, которые в связи с их высоким плодородием, большей частью распаханы. На юге района распространены торфяные олиготрофные почвы, часто используемые под торфоразработки, и перегнойно-глеевые почвы - по окраине г. Санкт-Петербург.

*Четвертый агроклиматический район (IV)* охватывает западную часть Области – "Ордовикское плато". В него входят Волосовский, частично Ломоносовский, Кингисеппский и Гатчинский административные районы.

Широко распространены пахотные почвы: агротемногумусовая, агроземы текстурно-дифференцированный и структурно-метаморфический. По окраинам района - перегнойно-глеевые и торфяные эуτροφные почвы, также часто освоенные.

*Пятый агроклиматический район (V)* занимает юго-западную часть Области. В него входят Сланцевский, Лужский, частично Кингисеппский и Гатчинский административные районы. В данном районе наблюдаются самые высокие суммы активных температур и наибольшая продолжительность периода со среднесуточными температурами воздуха выше +10 °С.

Распространены почвы с развитым дерновым горизонтом – дерново-подзолистые, дерново-подзолы, дерново-подбуры.



## ПОЧВЕННО-ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЕЛЕНИЯ «ОРОШАЕМОЕ» СТЕПНОЙ ЗОНЫ НИЖНЕГО ЗАВОЛЖЬЯ

**Овчинников А.Ю.**

ФИЦ ПНЦБИ РАН, ИФХиБПП РАН, Пущино

*ovchinnikov\_a@inbox.ru*

Представлены результаты расшифровки почвенного «архива» на поселении «Орошаемое» неолит-энеолитического времени, расположенного в Нижнем Заволжье. Основной задачей исследования, явилась попытка объяснить пестроту или слоистость почвенного профиля, включающего культурные археологические слои и «стерильные» горизонты. В работе использован комплексный подход включающий: почвенные, палеопочвенные, археологические, палеоклиматические, палеоботанические, радиоизотопные методы исследования.

Получены и уточнены данные о смене периодов увлаженности и аридизации территории, об этапах почвообразования и осадконакопления, о растительном покрове на археологическом памятнике и исследуемом регионе в разные этапы голоцена.

В результате проведенного исследования были уточнены природно-климатические особенности исследуемой территории в голоцене, которые отличаются от имеющихся данных в литературе. Система ландшафтно-климатических изменений в голоцене представлена на основе скандинавского эталона (Хотинский, 1991; Борзенкова, Зубаков, 1984), и основана на изменениях, происходивших в гумидных ландшафтах северного полушария. Разработанные и существующие схемы периодизации голоцена основаны на исследованиях, проводимых в гумидных регионах центра Восточно-Европейской равнины и для аридных территорий требуют корректировки и персонального анализа.

Проведенное исследование показало, что на данной территории Заволжья в течении всего голоцена происходили смены аридизации и гумидизации климата, смены этапов осадконакопления и почвообразования, а интенсивность и скорость данных процессов в разные периоды голоцена были различными.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 17-04-00078\_А).

## АКТИВНАЯ МИКРОБНАЯ БИОМАССА ДРЕВНИХ И СОВРЕМЕННЫХ ПОЧВ АРХЕОЛОГИЧЕСКИХ ПАМЯТНИКОВ НА СЕРЫХ ЛЕСНЫХ ПОЧВАХ ЦЕНТРАЛЬНОЙ РОССИИ

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

<sup>1</sup>Пушинский государственный естественно-научный институт, Пущино; <sup>2</sup>ФИЦ ПНЦБИ  
РАН, ИФХиБПП РАН, Пущино

*Alisa\_Mayakovskaya@bk.ru*

Почвы, погребенные под валами или насыпями, являются важным объектом исследования, которые изолируются от влияния внешних факторов среды, а также обеспечивают сохранность состояния свойств почв прежних эпох. Почвенный профиль выступает в роли архива, хранящего в себе информацию о всех фазах его развития, наложенных друг на друга.



Объектом наших исследований выступили почвы могильника у с. Кременье, включающие курган XII века, насыпь кургана, а также 800 и 100-ленте погребенные почвы. Определялись рН почв, влажность, полная полевая влагоемкость, гранулометрический состав, гумус, магнитная восприимчивость согласно общепринятым методикам (Аринушкина, 1970). Из показателей активности микробных сообществ определялись базальное и субстрат-индуцированное дыхание почв (Anderson and Domsch, 1980).

Результаты, полученные по физико-химическим свойствам почв, показали, что высока сохранность почвенных свойств в песчаной курганной насыпи. Биогенное распределение гумуса и фосфатов в современных горизонтах продемонстрировано в сформированной на насыпи почве. В образцах почв из курганного ровика обнаружены максимально высокие значения по всем показателям. Образцы строительного материала, с обломками печной обмазки, демонстрируют увеличение по количеству фосфатов и активности микробных сообществ. На курганной насыпи, над двумя хроносрезами, идет формирование почвы по типу серых лесных.

В почве курганной насыпи базальное и субстрат-индуцированное дыхание колеблется в пределах: от значений близких к 0 до 6-8 мкг СО<sub>2</sub>/г почвы час, во всех случаях субстрат-индуцированное дыхание активней. Максимумы значений для почв насыпи располагаются в поверхностных дневных горизонтах. Для почвы насыпи 800-летнего возраста происходит плавное убывание активности базального дыхания микроорганизмов вниз по профилю. Имеется повышение активности в погребенной 100 летней почве. В основном разрезе для субстрат-индуцированного дыхания происходит повышение активности в слоях со строительными остатками. Активация микроорганизмов глюкозосодержащими субстратами оживляет спящие их формы, и они демонстрируют повышенную дыхательную активность.

## ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПОЧВОГРУНТОВ КРЕМИРОВАННЫХ ЗАХОРОНЕНИЙ НА ФОНЕ СЕРЫХ ЛЕСНЫХ ПОЧВ

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

<sup>1</sup>Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино

<sup>2</sup>ФИЦ ПНЦБИ РАН, ИФХиБПП РАН, Пушкино

*Alisa\_Mayakovskaya@bk.ru*

При исследовании почв курганного могильника в районе г. Ступино Московской области впервые были отобраны образцы почвогрунтов другого обряда погребения, а именно, кремированных захоронений, расположенных в непосредственной близости от курганов, образующих условные ограждения вокруг поля кремированных захоронений. Место расположения кремаций археологами было условно названо «курганым двориком».

Мы применили методы почвоведения для исследований почвогрунтов кремированных захоронений. Были определены влажность почвогрунтов, полная полевая влагоемкость, магнитная восприимчивость, гумус, подвижные фосфаты (по Кирсанову), а также фосфаты минеральные и биологические (по Сэндерсу-Вильямсу), а также показатели дыхательной активности микробных сообществ (по Андерсон и Домш). Сравнение почвогрунтов кремаций проводилось с почвой насыпи кургана, одновременного кремациям, поскольку все природные события, произошедшие для этой



территории за последние 800 лет от строительства кургана и совершения кремированных захоронений, для этих объектов одинаковы в силу близости их расположения (расстояние между ними не более 10 м). На кургане почва формируется по типу серых лесных.

При исследовании выявлено, что содержание гумуса в профилях и интенсивность дыхания микроорганизмов демонстрируют сходную картину с увеличением в поверхностных горизонтах курганной насыпи и гумусированных горизонтах тела кремаций. Также выявлены повышенные содержания исследованных форм фосфатов в образцах тела кремаций. На контакте кремаций и фоновых образцов проведены дополнительные работы по выявлению следов присутствия шерсти.

## СЕКЦИЯ "БИОМЕДИЦИНА И БИОФАРМАЦЕВТИКА"

### ИЗУЧЕНИЕ ФРАКЦИЙ ФОСФОЛИПИДОВ КРОВИ БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Артыкбаева Г.М.<sup>1</sup>, Саатов Т.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биофизики и биохимии при Национальном Университете Узбекистана,  
Ташкент, Узбекистан

[gulnoraar@rambler.ru](mailto:gulnoraar@rambler.ru)

Нарушения липидного и углеводного обмена развиваются одновременно в момент развития сахарного диабета (СД), вызванного инсулиновой недостаточностью и инсулинорезистентностью. Большие изменения в структуре липидов претерпевают фосфолипиды. Данные относительно содержания фосфолипидов при сахарном диабете очень противоречивы.

Цель работы: изучение уровня фосфолипидов крови больных СД типа 1 и 2.

Материалы и методы: Было обследовано 24 больных с СД типа 1 и 34 больных – с СД типа 2. Больные были исследованы на уровень глюкозы, липидный спектр, а также фракции фосфолипидов сыворотки крови. Фосфолипиды экстрагировали смесью хлороформ-метанол. Разделение фосфолипидов на отдельные фракции проводили методом тонкослойной хроматографии.

Результаты: У больных СД 2 отмечалось снижение фракций общих фосфолипидов ( $103,63 \pm 4,774$  мкг Р/мг белка) по сравнению с контролем ( $207,6 \pm 4,4$  мкг Р/мг белка), в то время как у больных СД1 выявлено повышение фракций общих фосфолипидов ( $389,6 \pm 42,2$  мкг Р/мг белка). При исследовании отдельных фракций фосфолипидов сыворотки крови при СД 1 и 2 типа выявлен разнонаправленный характер изменений: содержание кислых фосфолипидов (фосфатидинозит, сфингомиелин) достоверно увеличено, нейтральных фосфолипидов (фосфатидилэтаноамин, фосфатидилхолин) уменьшено по сравнению с контролем. При инсулиновой недостаточности меняется интенсивность синтеза ацильных остатков всех фракций фосфолипидов. Нарушается трансацилирование жирных кислот в фосфолипидах вследствие ингибирования ацилазной реакции на фоне активации фосфолипаз, что приводит к подавлению синтеза ацильных групп.

Заключение: при СД 1 и 2 типа нарушается содержание основных и минорных компонентов фосфолипидов.



## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ГИСТОНОВ ДЛЯ ДОСТАВКИ ПЛАЗМИДНОЙ ДНК В КЛЕТКИ ОПУХОЛЕЙ

**Атрощик Е.А.<sup>1</sup>, Потапов В.К.<sup>2</sup>, Зиновьева М.В.<sup>2</sup>, Алексеенко И.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

[atroshikeva19@mail.ru](mailto:atroshikeva19@mail.ru)

В последние годы достигнуты значительные успехи в создании генотерапевтических конструкций. Использование таких препаратов ограничено способом их доставки в клетки пациентов. Поиск и исследование новых природных, невирусных агентов для транспорта плазмидной ДНК, кодирующей терапевтические молекулы, имеет большое значение. Использование положительно заряженных гистонов позволило бы решить проблемы иммунного ответа и безопасности при доставке генотерапевтических препаратов.

Целью данной работы было исследование возможности использования гистона человека H2A и химерного белка H2A-TAT, содержащего TAT-пептид (фрагмент белка вируса HIV-1) для доставки генетических конструкций в клетки опухолей *in vivo* и изучение эффективности таких конструкций для лечения опухолей на модели мышей.

Ранее нами была показана в экспериментах *in vitro* высокая эффективность трансфекции клеток разных линий с помощью комплексов плазмидной ДНК и гистона H2A человека или белком H2A-TAT. В данной работе использовали конструкцию, объединяющую два терапевтических гена: суицидный ген тимидинкиназы вируса простого герпеса HSVtk, и ген мышинового GM-CSF, продукт экспрессии которого обеспечивает индукцию специфичного противоопухолевого иммунного ответа. Под действием фермента HSVtk системно введенный в качестве пролекарства ганцикловир (GCV) переходит в высокотоксичную форму, что приводит к подавлению синтеза ДНК и вызывает гибель клеток. Терапевтическая эффективность такого препарата обусловлена эффективностью трансфекции опухолевых клеток генами, обеспечивающими внутриклеточную продукцию целевых белков. В качестве модели использовали перевиваемую линию клеток мыши С26 (карцинома толстой кишки). Мышам BALB/c подкожно прививали по  $1 \times 10^5$  клеток. После развития опухоли вводили внутриопухолево комплекс терапевтической плазмиды с гистонами H2A или белком H2A-TAT. После лечения мышей GCV в обоих случаях наблюдали существенное замедление роста опухолей и увеличение времени жизни мышей по сравнению с контрольной группой, которой внутриопухолево вводили раствор PBS.

Таким образом, в экспериментах *in vivo* показано, что гистон H2A и химерный белок H2A-TAT могут быть использованы в качестве эффективных невирусных средств доставки генотерапевтических конструкций в опухолевые клетки.

Работа выполнена при поддержке Программы фундаментальных исследований Президиума РАН “Фундаментальные исследования для биомедицинских технологий”.





## ИЗУЧЕНИЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОГО, АНТИАПОПТОТИЧЕСКОГО И ПРОЛИФЕРАТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ КСИМЕДОНА, L-АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ И КОНЬЮГАТА КСИМЕДОНА С L-АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТОЙ

**Беляев Г.П.<sup>1,2</sup>, Выштакалюк А.Б.<sup>2</sup>, Гумарова Л.Ф.<sup>2</sup>, Парфенов А.А.<sup>2</sup>, Хасаншина Л.Р.<sup>1,2</sup>, Повышева Т.В.<sup>2</sup>, Семенов В.Э.<sup>2</sup>, Галяметдинова И.В.<sup>2</sup>, Зобов В.В.<sup>2</sup>**

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

<sup>2</sup>ИОФХ им. А.Е. Арбузова - обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия

[gregoir4@gmail.com](mailto:gregoir4@gmail.com)

Изучение свойств потенциальных гепатопротекторов является актуальной задачей, в связи с ростом различных заболеваний печени. Проблемой синтеза новых лекарственных средств активно занимается ИОФХ им. А.Е. Арбузова, где ранее у препарата Ксимедон (I) выявлены гепатопротекторные свойства, которые усиливались у его конъюгата с L-аскорбиновой кислотой (II), в связи с чем важно сравнить эффективность конъюгата (II) и исходных веществ в эквимоллярных дозах. Целью данного исследования было сравнение гепатопротекторного действия Ксимедона, L-аскорбиновой кислоты (III) и конъюгата Ксимедона с L-аскорбиновой кислотой и изучение их влияния на пролиферативную, антиапоптотическую активность ткани печени крысы.

У крыс Sprague Dawley воздействием четыреххлористого углерода вызывали повреждение печени, затем в течение 5 дней проводили терапию препаратами (I), (II), (III) в дозах 1.45  $\mu$ M/kg (0.24, 0.50 and 0.26 мг/kg соответственно при в/б введении). Через сутки после последнего введения веществ животных эвтаназировали и проводили патоморфологическое исследование печени. Для изучения пролиферативной активности ткани печени за 2 часа до эвтаназии крысам в/б вводили бромдезоксигуанидин (BrdU) в дозе 50 мг/kg, затем проводили иммунофлуоресцентное окрашивание срезов антителами к BrdU и каспазе-3. Анализ осуществляли на конфокальном микроскопе LSM 780 (Carl Zeiss).

В результате было выявлено более выраженное уменьшение площади поврежденной ткани печени при введении конъюгата (II) по сравнению с (I) и (III): 72.2 $\pm$ 4.7% в контроле, 27.3 $\pm$ 4.2; 34.3 $\pm$ 2.9 и 48.7 $\pm$ 4.1 % при введении (I) и (III) соответственно. В ходе иммунофлуоресцентного исследования показано, что индекс пролиферативной активности клеток печени при введении (I) и (II) достоверно выше (1.9 $\pm$ 0.4% и 2.2 $\pm$ 0.4% соответственно), чем в группах, которым вводили (III) (0.9 $\pm$ 0.3%), а также в контроле и у интактных животных (1.0 $\pm$ 0.3% и 0.9 $\pm$ 0.3% соответственно). Также выяснено, что при введении (I) и конъюгата (II) происходит достоверное снижение апоптотического индекса (4.98 $\pm$ 1.22% и 2.00 $\pm$ 0.42% соответственно) до уровня интактного контроля (0.99 $\pm$ 0.41%) по сравнению с контрольной группой (10.02 $\pm$ 1.21%). Вещество (III) не оказало достоверного положительного эффекта (6.18 $\pm$ 1.47%).

В результате исследования показано, что конъюгат Ксимедона с L-аскорбиновой кислотой проявляет более выраженные гепатопротекторные свойства и проявляет более выраженное стимулирующее действие на пролиферативную активность ткани печени крыс и антиапоптотический эффект по сравнению с исходными веществами.



## РОЛЬ МОНООКСИДА УГЛЕРОДА В РЕГУЛЯЦИИ КАЛЬЦИЙ-ЗАВИСИМОЙ ГИПЕРПОЛЯРИЗАЦИИ МЕМБРАНЫ ЭРИТРОЦИТОВ

**Бирулина Ю.Г.<sup>1</sup>, Казакова Н.А.<sup>1</sup>, Балданова Ю.Ч.<sup>1</sup>, Петрова И.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России,  
Томск, Россия

[birulina20@yandex.ru](mailto:birulina20@yandex.ru)

Газовые трансмиттеры, как известно, участвуют в регуляции структурно-функционального статуса эритроцитов путем изменения проводимости их мембраны для ионов калия. Открывание  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимых  $\text{K}^+$ -каналов (Gardos-каналов) либо при увеличении внутриклеточной концентрации  $\text{Ca}^{2+}$ , либо при действии редокс-агентов, вызывает утечку ионов калия из клетки и обеспечивает гиперполяризацию мембраны красных клеток крови. Целью настоящей работы было изучение влияния донора монооксида углерода (CO) – CORM-2 на амплитуду гиперполяризационного ответа (ГО) мембраны эритроцитов.

Для исследования у 30 здоровых доноров обоего пола в возрасте от 21 до 33 лет забирали венозную кровь в пробирки с гепарином, из которой затем получали упакованные эритроциты. Для изучения Gardos-каналов использовали метод непрерывной регистрации мембранного потенциала клеток по изменениям pH среды в присутствии протонофора СИССР (20 мкМ). Для получения  $\text{Ca}^{2+}$ - и редокс-стимулированного ГО в среду инкубации клеток добавляли  $\text{Ca}^{2+}$ -ионофор A23187 (0,5 мкМ), либо электронно-донорную систему аскорбат (10 мМ) – феназинметосульфат (ФМС, 0,1 мМ). В обоих случаях развивался ГО, амплитуда которого отражала активность Gardos-каналов.

Амплитуда контрольного A23187-зависимого ГО составила  $-25,4$  ( $-26,3; -23,2$ ) мВ ( $n=15$ ). В присутствии 2 мкМ CORM-2 амплитуда ГО снизилась на 7% ( $n=10$ ,  $p>0,05$ ), тогда как добавление CORM-2 в концентрации 10 мкМ приводило к достоверному снижению величины ГО эритроцитов на 31% ( $n=10$ ,  $p<0,05$ ) от контроля. В отсутствие CORM-2 редокс-индуцированный ГО составил  $-48,6$  ( $-50,1; -47,5$ ) мВ ( $n=15$ ). Добавление в среду инкубации эритроцитов 2 мкМ CORM-2 привело к снижению амплитуды редокс-зависимого ГО на 10% ( $n=10$ ,  $p<0,05$ ), 10 мкМ CORM-2 – на 20% ( $n=10$ ,  $p<0,05$ ) по сравнению с контрольными значениями. Установлено, что снижение амплитуды ГО мембраны эритроцитов, индуцированного системой аскорбат-ФМС в присутствии CORM-2 менее выражено по сравнению с A23187-зависимым ГО.

Обнаруженные различия обусловлены особенностями активации Gardos-каналов. Так, вероятно, что редокс-система аскорбат-ФМС приводит к образованию редокс-агентов, которые оказывают свое влияние на  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимую калиевую проницаемость мембраны эритроцитов опосредованно через SH-группы белков каналов или их регуляторных белков.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-015-00395.



## СОЗДАНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ЛИНИЙ ИНДУЦИРОВАННЫХ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА, НЕСУЩИХ ТРАНСГЕН ПРОГРАММИРУЕМОЙ НУКЛЕАЗЫ ASCPF1 (CAS12A)

**Варганова В. А.<sup>1</sup>, Коваленко В. Р.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия; <sup>2</sup>ФИЦ Институт Цитологии и Генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

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

Развитие систем редактирования генома в последние годы значительно увеличило возможности ученых изучать функции различных генов и модифицировать их. Внося различные изменения в существующие гены или интегрируя новые, возможно оценить роль различных генетических элементов в формировании фенотипа клетки. Отклонения фенотипа клеток от нормального способны приводить к различным заболеваниям, например, болезни Паркинсона (БП), которая на данный момент является неизлечимой. Существующая терапия направлена на лечение симптомов заболевания, но со временем у пациентов возникает толерантность к используемым препаратам. Поэтому актуальной задачей является изучение причин, лежащих в основе болезни Паркинсона, а также создание и тестирование новых лекарственных средств и методов терапии. Одним из существующих подходов к решению этой задачи является создание изогенных клеточных линий на основе клеток пациентов. Получение изогенных линий позволит изучать процесс развития патогенеза без влияния генетического фона и получать более адекватные данные.

Создание клеточных линий с мутациями в целевых генах стало возможным с помощью CRISPR-опосредованных систем, которые считаются наиболее перспективным инструментом генетической инженерии. Однако CRISPR-ассоциированные системы имеют ряд недостатков, например, возникновение нецелевых эффектов, а также отсутствие высокой эффективности доставки компонентов системы в клетку. Уменьшить влияние этих ограничений возможно, встроив часть CRISPR-системы в геном клетки, например, ген, кодирующий CRISPR-ассоциированную эндонуклеазу. В данной работе мы создали трансгенные линии: тестовую линию на основе HEK293A и трансгенную линию индуцированных плюрипотентных стволовых клеток пациента, страдающего болезнью Паркинсона. В своем геноме они несут ген эндонуклеазы AsCpf1 (Cas12a) под управляемым доксициклиновым промотором. Таким образом, для того, чтобы запустить процесс редактирования в такой клеточной линии, в клетку необходимо доставить лишь направляющую РНК или вирус, ее кодирующий. Наличие управляемого промотора позволит снизить нецелевую активность системы CRISPR/AsCpf1. В будущем данные линии станут платформами для создания прочих изогенных линий с различными мутациями, что позволит изучить их роль в развитии БП.



## ПОМОГУТ ЛИ ЛИПОСОМЫ С НАНОЧАСТИЦАМИ МАГНЕТИТА ДЛЯ МРТ- ДИАГНОСТИКИ ВЫРАЖЕННОСТИ EPR-ЭФФЕКТА В ОПУХОЛЯХ ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ

**Водопьянов С.С.<sup>1,2</sup>, Власова К.А.<sup>3</sup>, Науменко В.А.<sup>1</sup>, Абакумов М.А.<sup>1,4</sup>, Мажуга А.Г.<sup>1,3,5</sup>**

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО НИТУ "МИСиС", Москва; <sup>2</sup> ФГОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва; <sup>3</sup> ФГОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет, Москва; <sup>4</sup> ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва; <sup>5</sup> ФГБОУ ВПО РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия

[stepan.vodopianov@yandex.ru](mailto:stepan.vodopianov@yandex.ru)

Цель работы – предложить подход для персонализированной диагностики и прогноза эффективности лечения опухолей липосомальными формуляциями лекарств. Диагностику осуществляли с помощью МРТ после системного введения пэгилированных липосом около 100 нм в диаметре, содержащих наночастицы магнетита (МК-диагностикум), или аналогичных липосом, включающих кроме магнитных наночастиц также липофильный флуоресцентный краситель DiD (ЛК-НЧ – липосомы комбинированные-наночастицы – для дополнительной съемки на приборе IVIS Spectrum intravital imaging system).

Суспензии ЛК-НЧ или МК-диагностикума в PBS вводили мышам, несущим опухоли, внутривенно в хвостовую вену. Использовали следующие модели: гетеротопическая и ортотопическая модели 4T1 (аденокарцинома молочной железы мыши) на мышах BALB/C, ортотопическая модель B16-F10 (меланома мыши) на черных мышах C57bl/6, гетеротопическая ксенографная модель 22rv1 (карцинома простаты человека) на иммунодефицитных мышах nude. Группы по 4-5 мышей каждое животное несло по 2 контралатеральные опухоли, на момент начала диагностического эксперимента возраст опухолей составлял около 10 дней после инъекции клеток. Животных снимали на МРТ до инъекции и через 1, 6, 24, 48 ч после. Оценивали динамику и степень негативного контрастирования опухолей наночастицами магнетита, входящими в состав липосом (степень оценивали с помощью показателя CNR – contrast-to-noise ratio – отношения сигнала к шуму). В каждой группе выявляли опухоли с «хорошим» и «слабым» накоплением негативного контрастного сигнала. В результате работы мы выяснили, что внутри каждой модели накопление индивидуальное, а также что гетеротопическая модель 4T1 лучше остальных накапливает МК-диагностикум и ЛК-НЧ, опухоли показывают накопление хуже остальных моделей, изученных в данной работе. Пик накопления негативного сигнала приходится на 6 ч после инъекции. Через 24 и 48 ч картина распределения сигнала меняется, он смещается к периферии опухолей. Для гетеротопической модели 4T1 картина распределения сигнала часто напоминала древовидную структуру, в случаях B16-F10 и 22rv1 сигнал распределялся либо точно, либо небольшим диффузным «облаком».

Работа продолжается и выполняется при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014 – 2020 годы», соглашение от 27.09.2017 г. № 14.575.21.0147, уникальный идентификатор соглашения RFMEFI57517X0147.



## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТРАНСФИЦИРУЮЩИХ СИСТЕМ ДЛЯ ДОСТАВКИ siРНК В КУЛЬТУРЫ НЕК-293 И ММСК

**Галицына Е. В.<sup>1</sup>, Бухарова Т. Б.<sup>1</sup>, Гольдштейн Д. В.<sup>1</sup>**

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

[snowbars888@yandex.rtu](mailto:snowbars888@yandex.rtu)

Актуальность. Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК) представляют собой одну из основных клеточных культур, используемых в регенеративной медицине благодаря легкому выделению у доноров разного возраста, высокому пролиферативному и дифференцировочному потенциалам. При разработке генно-клеточных технологий на основе ММСК доставка плазмидных конструкций и siРНК путем трансфекции является наиболее безопасным подходом и потому предпочтительным для клинического применения. Существенный недостаток трансфекции заключается в более низкой эффективности по сравнению с вирусной трансдукцией. В связи с этим возникает потребность в разработке новых агентов для повышения эффективности трансфекции.

Цель исследования. Провести сравнительную оценку эффективности трансфекции культур НЕК-293 и ММСК из жировой ткани и пульпы зуба с помощью систем доставки на основе липосом и катионных полимеров.

Материалы и методы. Трансфекцию культур НЕК-293 и ММСК из жировой ткани (ЖТ) и пульпы зубов осуществляли в течение суток в 24-луночном культуральном планшете. Для визуализации трансфицированных клеток использовали siРНК с флуоресцентной меткой 6-FAM. Трансфекцию проводили с помощью липосомальных систем доставки METAFECTENE® PRO («Biontex», США), Lipofectamine® 2000 («Thermo Fisher Scientific», США) и нелипосомальной системы TurboFect («Thermo Fisher Scientific», США) на основе катионных полимеров согласно протоколам производителей. Для повышения эффективности трансфекции использовали среду Opti-MEM («Thermo Fisher Scientific», США).

Результаты. Липосомальная система METAFECTENE® PRO оказалась наименее эффективной и показала около 20% трансфицированных клеток в культурах НЕК-293, менее 5% в культурах ММСК ЖТ и менее 1% в культурах ММСК пульпы. Большую эффективность показала другая липосомальная система - Lipofectamine® 2000 - 65% в культурах НЕК-293, 13% в культурах ММСК ЖТ и менее 4% в культурах ММСК пульпы. Система доставки TurboFect на основе катионных полимеров продемонстрировала наилучшие результаты - более 98,5% во всех клеточных линиях.

Выводы. Таким образом, было показано, что система доставки на основе катионных полимеров более эффективна в сравнении с липосомальными аналогами и позволяет добиться 98,5% эффективности даже в труднотрансфицируемых культурах ММСК, что позволяет рекомендовать данную систему для разработки генно-клеточных технологий с целью клинического применения.



## ИЗУЧЕНИЕ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ РИАМИЛОВИРА С ОСЕЛЬТАМИВИРОМ НА МОДЕЛИ ГРИППОЗНОЙ ПНЕВМОНИИ МЫШЕЙ

**Глубокова Е. А.<sup>1</sup>, Карташова Н. П.<sup>1</sup>, Фалынскова И.Н.<sup>1</sup>, Махмудова Н. Р.<sup>1</sup>, Ленёва И.А.<sup>1</sup>, Макарова О.В.<sup>2</sup>, Мхитаров В.А.<sup>2</sup>, Джалилова Д.Ш.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва; <sup>2</sup>ФГБНУ научно-исследовательский институт морфологии человека РАМН, Москва, Россия

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

Цель работы: изучение на модели вирусной гриппозной пневмонии мышей эффективности комбинации риамиловира и осельтамивира при различных дозах.

Материалы и методы: мышей BALB/c инфицировали вирусом гриппа А/Калифорния/04/2009. Патогенез инфекции и эффективность препаратов оценивались по клиническим признакам (выживаемость, продолжительность жизни, уменьшение снижения массы животных) и титру вируса в лёгких животных.

Результаты: В контрольных группах животных, зараженных вирусом гриппа и не получавших лечения, наблюдалась гибель 90-100% животных и значительная потеря веса. Лечение риамиловиrom отдельно снижало смертность животных и повышало среднюю продолжительность их жизни в дозах 12,5 и 25 мг/кг/день, однако эти эффекты не были статистически значимы. В этих группах также было отмечено меньшее снижение веса по сравнению с группой вирусного контроля. Лечение осельтамивиром в дозе 5 мг/кг/день было сходно по эффекту с лечением риамиловиrom в дозах 12,5 и 25 мг/кг/день, защищая 40% инфицированных животных, увеличивало их среднюю продолжительность жизни, при этом потери веса в данной группе не наблюдалось. Использование комбинации риамиловира в двух дозах 12,5 и 25 мг/кг/день с осельтамивиром в дозе 5 мг/кг/день было более эффективно, чем лечение каждым из препаратов в отдельности. Данное лечение приводило к защите от смертности 70-77% животных, увеличению их продолжительности жизни более, чем в 2 раза и к практически полному предотвращению потери веса. При комбинированном использовании препаратов, подавление размножения вируса в легких составляло 3,5-3,67lg ТЦИД<sub>50</sub>.

Выводы: Таким образом, на модели гриппозной пневмонии мышей показано, что комбинация риамиловира в дозах 12,5 или 25 мг/кг/день с осельтамивиром в дозе 5 мг/кг/день позволяет повысить эффективность лечения по сравнению с эффективностью лечения каждым препаратом в соответствующей дозе и по соответствующей схеме в отдельности. Данное лечение на модели гриппозной пневмонии мышей статистически значимо снижало гибель животных, предотвращало потерю ими массы тела, увеличивало продолжительность жизни, а также подавляло размножение вируса в легких животных по сравнению с контрольной группой нелеченых животных.



## ЗАЩИТНЫЙ ЭФФЕКТ ПЕРОКСИРЕДОКСИНА 2 ПРИ ИШЕМИЧЕСКИ – РЕПЕРФУЗИОННОМ ПОРАЖЕНИИ ПОЧЕК

**Гончаров Р.Г.<sup>1</sup>, Шарапов М.Г.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> ОП ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

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

Ишемически-реперфузионные (И-Р) поражения являются причиной развития многих патологических состояний организма, в основе которых лежит окислительный стресс. Одним из подходов в терапии И-Р поражений является использование ферментов-антиоксидантов. В качестве такого фермента - антиоксиданта предлагается использовать рекомбинантный пероксиредоксин 2 (Prx2) - восстанавливающий пероксиды как органической, так и неорганической природы, а также обладающий шаперонной и сигнально-регуляторной активностями. На модели И-Р поражения обеих почек мыши проведено исследование защитных свойств рекомбинантного Prx2. Животным внутривенно вводился раствор Prx2 (20 мкг/г веса) за 15 мин до 30-ти мин ишемии, с последующей реперфузией в течении 24 ч. В работе было использовано 3 группы мышей: №1-интактные животные; №2-И-Р; №3-И-Р+Prx2. В ходе биохимического анализа крови (мочевина; креатинин) обнаружено, что в группе №2 через 24 ч наблюдается увеличение уровня мочевины в 5 раз, а креатинина в 6 раз. В группе №3 уровень мочевины увеличен в 4 раза, а креатинина в 5 раз по сравнению с группой №1. Исследование конечных продуктов перекисного окисления липидов в почечной ткани преимущественно малонового диальдегида (МДА) через 24 ч после И-Р показало, что в группе №2 МДА увеличен в 8 раз, а в группе №3 в 1,6 раза по сравнению с группой №1. Гистологический анализ почечной ткани через 24 ч после И-Р показал, что в группе №2 отмечается гипертрофия клубочков и полнокровие их капиллярных петель, а также дистрофические изменения в эпителии почечных канальцев. В группе №3 отмечены аналогичные изменения характеризуются меньшей степенью выраженности, чем в группе №2. С помощью метода ОТ-ПЦР, было проведено исследование уровня экспрессии некоторых маркерных генов через 24 ч после И-Р. Выбраны гены маркеры: повреждения почек (KIM, IL18), воспаления (IL6, iNOS, eNOS), окислительного стресса (NRF2), апоптоза (Casp3; AP1, NF-kB). В группе №1 уровень экспрессии генов практически не меняется. В группе №2 наиболее значительный рост экспрессии (раз) показан для: KIM (106), eNOS (22), iNOS (14), AP-1 (7,5), IL18 (7), NF-kB (5,5), Casp3 (3,5). В группе №3 наблюдается рост уровня экспрессии тех же генов, но ниже чем в группе №2 на 30-50%. Выживаемость животных в течении 120 ч, в группе №2 ~20%, в группе №3 >40%. Таким образом, применение рекомбинантного Prx2 при И-Р поражении обеих почек мыши способствует нормализации биохимических, физиологических, гистологических показателей и способствует росту (в 2 раза) выживаемости животных. Работа поддержана грантами РФФИ 17-04-00356-а, 19-04-00080-а.



## ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЛЕЙКОЦИТОВ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ НОВЫХ АНТИМИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ

**Волкова Л.В.<sup>1</sup>, Гришина Т.А.<sup>1</sup>**

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

[tatyana\\_grishina\\_1990@mail.ru](mailto:tatyana_grishina_1990@mail.ru)

Резистентные инфекционные заболевания увеличивают уровни смертности, заболеваемости, особенно среди уязвимых групп населения. В последние десятилетия, проблемой является не только сам феномен устойчивости к противомикробным препаратам, но также ускоренное развитие устойчивости патогенных микроорганизмов.

Резистентность к противомикробным препаратам является проблемой во всем мире, так как новые формы устойчивости к противомикробным препаратам могут пересекать международные границы и легко распространяться между континентами. В 29 странах региона ВОЗ для Европы, по оценкам, 25 000 человек ежегодно умирают из-за инфекций, связанных с устойчивостью к антибиотикам, большинство из них в медицинских учреждениях.

За последние несколько в литературе все чаще стали встречаться сообщения об использовании лейкоцитов животных в качестве источника получения антибактериальных пептидов. В частности, получены пептиды, обладающие антимикробной активностью из лейкоцитов домашней козы, лисицы, обезьяны. К настоящему моменту, стало очевидным, что антибактериальные пептиды являются широко распространенным феноменом и неотъемлемой частью неспецифической иммунной системы всех многоклеточных организмов. В связи с вышеизложенным, весьма актуальным будет разработка технологии получения антимикробных пептидов из лейкоцитов млекопитающих.

Целью нашей работы является разработка технологии получения биологически активных белковых комплексов путем деструкции лейкоцитарных клеток млекопитающих.

Объектом исследования послужили лейкоциты человека, выделенные из крови, прошедшей вирусологический контроль на наличие гемотрансмиссивных инфекций. В качестве разрушающего агента было использовано ультразвуковое облучение при установленных параметрах. Использование ультразвука позволило разрушить клеточную стенку и высвободить во внеклеточное пространство содержимое лейкоцитов, которое, как известно, обладает биологической активностью. В результате проведенных экспериментов нами установлено, что лейкоцитарный лизат представляет собой белковый комплекс. Следующим этапом исследования стало изучение биологической активности субстанции, полученной в результате деструкции лейкоцитов. Нами получено, что данный комплекс обладал антибактериальной активностью в отношении грамм положительных и грамм отрицательных микроорганизмов и умеренной противовирусной активностью.

Таким образом, установлено, что полученная белковая субстанция обладает достаточной биологической активностью и может служить основой для разработки новых препаратов направленных на лечение инфекционных заболеваний.





## ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСПРЕССИИ TRAIL-РЕЦЕПТОРОВ У МАКРОФАГОПОДОБНЫХ КЛЕТОК ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА

**Евстратова Я.В.<sup>1</sup>, Кобякова М.И.<sup>1</sup>, Фадеев Р.С.<sup>1</sup>, Акатов В.С.<sup>1</sup>, Кирсанова П.О.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино; <sup>2</sup> ОП ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

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

Ранее нами было показано, что лейкозные монобластные клетки могут приобретать фенотип более зрелых макрофагоподобных клеток на фоне сохранения пролиферативной активности и приобретения устойчивости к TRAIL-индуцированному апоптозу. В формировании устойчивости к TRAIL-индуцированному апоптозу ключевую роль играет экспрессия проапоптотических рецепторов TRAIL-R1 и TRAIL-R2, а также экспрессия рецепторов-ловушек TRAIL-R3 и TRAIL-R4. Исследование механизмов устойчивости клеток к TRAIL-индуцированному апоптозу важно, прежде всего, для понимания механизмов ускользания опухолевых клеток от иммунного надзора.

В работе было проведено исследование экспрессии TRAIL-рецепторов у макрофагоподобных лейкозных клеток THP-1ad, в сравнении с монобластными лейкозными клетками THP-1wt, а также в сравнении с моноцитами периферической крови человека и дифференцированными из них макрофагами. Было показано отсутствие экспрессии TRAIL-R1, TRAIL-R3 и TRAIL-R4 у всех исследуемых типов клеток. В то же время у монобластных лейкозных клеток THP-1wt, макрофагоподобных лейкозных клеток THP-1ad и моноцитов периферической крови была обнаружена экспрессия TRAIL-R2. Показано, что TRAIL-R2 несут на своей мембране  $71 \pm 8$  % популяции монобластных лейкозных клеток THP-1wt и только  $33 \pm 11$  % популяции макрофагоподобных лейкозных клеток THP-1ad. В случае с моноцитами периферической крови экспрессия TRAIL-R2 присутствовала у  $19 \pm 7$  % популяции клеток. У макрофагов, дифференцированных из моноцитов периферической крови экспрессия TRAIL-R2 отсутствовала. Полученные данные соотносятся с проведенным ранее анализом цитотоксического действия TRAIL на исследуемые клетки, который показал, что  $82 \pm 6$  % монобластных лейкозных клеток THP-1wt,  $38 \pm 8$  % макрофагоподобных лейкозных клеток THP-1ad и  $13 \pm 4$  % моноцитов периферической крови были чувствительны к TRAIL-индуцированному апоптозу. Для макрофагов, дифференцированных из моноцитов периферической крови, показана устойчивость к TRAIL-индуцированному апоптозу.

Таким образом, показано, что снижение экспрессии TRAILR-2, а соответственно и устойчивость к TRAIL-индуцированному апоптозу, коррелирует с дифференцировкой клеток в макрофагальном направлении. Следовательно, одним из механизмов ускользания лейкозных клеток от иммунного надзора, может быть псевдодифференцировка или «мимикрия» лейкозных клеток под более зрелые клетки макрофагального ряда, сопровождающаяся потерей проапоптотических TRAIL рецепторов и повышением устойчивости к TRAIL-индуцированному апоптозу.



## ВЛИЯНИЕ ИНЪЕКЦИЙ АЛЛОГЕННОГО ГИДРОКСИАПАТИТА НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ КОСТНОЙ ТКАНИ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОСТЕОРЕЗОРБЦИИ

**Ерина Н.М.<sup>1</sup>, Романова Д.А.<sup>1</sup>, Даниэль М.А.<sup>1</sup>, Горченкова М.Ю.<sup>1</sup>, Глотов А.А.<sup>1</sup>, Власов М.Ю.<sup>2</sup>, Писарева Е.В.<sup>1</sup>, Волова Л.Т.<sup>2</sup>, Скрипачева О.В.<sup>1</sup>, Дорошенко Е.А.<sup>1</sup>, Тимченко Е.В.<sup>1</sup>, Нефедова И.Ф.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева, Самара; <sup>2</sup> ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России, Самара, Россия

[nadysha-05@mail.ru](mailto:nadysha-05@mail.ru)

В Институте экспериментальной медицины и биотехнологий Самарского государственного медицинского университета впервые предложена и разработана технология получения аллогенного гидроксиапатита (ГАП) в рамках безотходного и экологически безопасного производства имплантатов из биологических тканей.

Влияние аллогенного ГАП на состояние костной ткани лабораторных животных и процессы ее метаболизма исследовали в экспериментах с моделированием глюкокортикоидной остеорезорбции и гипогравитации.

Инъекции ГАП на фоне функциональной разгрузки задних конечностей и глюкокортикоидной резорбции сопровождаются снижением поверхностной микротвердости костей животных в значительно меньшей степени, чем в отсутствие этих инъекций.

Исследование морфометрических показателей подтвердило положительное влияние инъекций ГАП на состояние костной ткани как на фоне действия глюкокортикоидов (ГК), так и при моделировании гипогравитации.

Механическое испытание бедренных костей экспериментальных животных подтвердило улучшение состояния костной ткани при введении ГАП на фоне остеорезорбции.

Рентгенологическое исследование костей экспериментальных животных показало снижение минеральной плотности костной ткани при моделировании глюкокортикоидной остеорезорбции и гипогравитации, применение ГАП снижает интенсивность остеорезорбции.

Установлено повышение концентрации свободного оксипролина (маркера резорбции) в сыворотке крови экспериментальных животных при введении ГК и гипогравитации. В условиях введения ГАП изменение данного показателя менее выражено. Концентрация белковосвязанного оксипролина (маркера остеогенеза) увеличивается в условиях введения ГАП.

Показано повышение концентрации концевых телопептидов в сыворотке крови экспериментальных животных при введении ГК и гипогравитации, что является показателем усиления процессов резорбции. При инъекциях ГАП изменение данного показателя менее выражено относительно контрольных значений.

Определено, что эктопическое введение ГАП в мышечную ткань влияет не только на остеоиндуктивные процессы, но и на активизацию звеньев антиоксидантной защиты организма.

Таким образом, проведенный комплекс морфометрических, биохимических, рентгеноскопических исследований свидетельствует о том, что при введении ГАП сглаживается и в значительной степени устраняется остеодеструктивный эффект от



экзогенного поступления ГК как в нормальных условиях, так и в условиях гипогравитации.

## ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕЦИФИКИ ТКАНЕВОЙ ИНТЕГРАЦИИ МАТЕРИАЛОВ С ПОЛЯРНОЙ СТРУКТУРОЙ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА

**Звягина А.И.<sup>1</sup>, Кирсанова П.О.<sup>2</sup>, Фадеева И.С.<sup>1</sup>, Минайчев В.В.<sup>1</sup>, Одинцова О.А.<sup>3</sup>, Акатов В.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино; <sup>2</sup> ОП ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ Институт биофизики клетки РАН, Пущино; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО Тульский государственный университет, Тула, Россия

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

Известно, что использование материалов на основе децеллюляризованного донорского перикарда в клинической практике является преобладающим. В последнее время исследованию архитектоники внеклеточного матрикса (ВКМ) перикардальных материалов уделяется все большее внимание, в свете чего полярная структура перикарда представляет для тканевой инженерии особый интерес.

Целью работы стало исследование особенностей межтканевых взаимодействий и специфики биоинтеграции материалов с полярной структурой ВКМ в модели долгосрочной (13 нед) гетеротопической имплантации крысам. Бычий перикард был обработан с использованием авторских методик предимплантационной децеллюляризации, на основе чего было сформировано 2 экспериментальные группы: (1) децеллюляризованный бычий перикард с сохраненной полярной структурой (группа ДП, патент РФ №2499611. 2013), (2) неполярный децеллюляризованный бычий перикарда с удаленным фиброзным слоем (группа ДП-РП, РФ №2678966. 2019). Эксплантацию материалов осуществляли с захватом пограничных тканей реципиента, и проводили морфофункциональную оценку полученных образцов с помощью гистохимического анализа.

Все исследуемые материалы показали высокую степень биосовместимости и интенсивную биоинтеграцию, однако характер тканевой реакции на материал в группах ДП и ДП-РП был противоположен на полярных поверхностях материала. В группе ДП активная клеточная миграция и ремоделирование ВКМ образцов наблюдалось исключительно со стороны *p.fibrosum*. При этом *p.fibrosum* способствовала плотному контакту материала за счет срастания с реактивно измененной соединительной тканью реципиента. В пограничных областях со стороны *p.serosum* наблюдалась активная неоваскуляризация контактных тканей с формированием как продольных, так и поперечных сосудов, проходящих сквозь матрикс материала. Кроме того, было обнаружено, что удаление *p.fibrosum* (группа ДП-РП) полностью подавляет полярный эффект. При этом ремоделирование, клеточная миграция и индукция неоваскулогенеза пограничных тканей происходит с обеих сторон материала.

Полученные результаты имеют прикладное значение при разработке биоимплантов на основе ксеноперикарда и особенно актуальны для разработки барьерных мембран, предназначенных для обеспечения одновременной регенерации сразу нескольких гистотипов тканей.

Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда содействия инновациям с использованием приборной базы ЦКП ИТЭБ РАН.



## ПРОГАСТРИН КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ МАРКЕР В ДИАГНОСТИКЕ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

**Золотых М.А.<sup>1</sup>, Гафурбаева Д.У.<sup>1</sup>, Филина Ю.В.<sup>1</sup>, Садикова Г.И.<sup>1</sup>, Ахунзянов А.А.<sup>1</sup>,  
Мифтахова Р.Р.<sup>1</sup>, Ризванов А.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Институт фундаментальной медицины и биологии, Казанский Федеральный  
Университет, Казань Россия

[amonet95@rambler.ru](mailto:amonet95@rambler.ru)

**Введение.** Прогастрин является предшественником пептидного гормона гастрина и в норме не выявляется в крови человека. Недавние исследования продемонстрировали повышенный уровень прогастрина у пациентов, страдающих онкологическими заболеваниями, в связи с чем данный прогормон был предложен как универсальный биомаркер для онкодиагностики.

**Цель.** Целью данной работы стало исследование диагностической значимости и чувствительности прогастрина как биомаркера в онкологии.

**Материалы и методы.** Уровень прогастрина измерялся в образцах плазмы 220 пациентов: 81 пациент с онкологическими заболеваниями, включая рак молочной железы, рак яичников, рак шейки матки, 34 пациента с цервикальной интраэпителиальной неоплазией, 24 пациента с аутоиммунными заболеваниями (болезнь Крона, аутоиммунный тиреоидит, ревматоидный артрит), 19 пациентов с воспалительным процессом в активной стадии и 62 здоровых добровольца. Образцы с уровнем прогастрина, превышающим 10 пг/мл, считались положительными.

**Результаты.** В контрольной группе показатель уровня прогастрина не превышал 10 пг/мл. В группе пациентов с диагнозом рак яичников повышенный уровень прогастрина в крови был обнаружен в 32% образцов, при раке молочной железы в 8%, при раке шейки матки в 13%. У пациентов с цервикальной интраэпителиальной неоплазией 1 степени в 9% образцов уровень прогастрина превышал показатели нормы, у пациентов со 2 и 3 степенью данной патологии образцов с повышенным уровнем прогастрина обнаружено не было. В группе пациентов с аутоиммунными заболеваниями повышенный уровень прогастрина был отмечен в 25% образцов, у пациентов с текущим воспалительным процессом - в 10%.

**Заключение.** Повышенный уровень содержания прогастрина был отмечен как в образцах плазмы пациентов с онкологическими заболеваниями, так и при патологических состояниях, вызванных аутоиммунными и воспалительными процессами в организме, из чего следует, что использование прогастрина в качестве биомаркера имеет ограниченное применение в онкологии.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ОСАЖДЕНИЯ ЗАРЯЖЕННОГО АЭРОЗОЛЯ В ЛЕГКИХ МЫШЕЙ

**Канев И.Л.<sup>1</sup>, Шляпникова Е.А.<sup>1</sup>, Михеев А.Ю.<sup>1</sup>, Шляпников Ю.М.<sup>1</sup>, Морозов В.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

[4kanev@gmail.com](mailto:4kanev@gmail.com)

Существующие физические модели позволяют предсказывать дозу, получаемую при вдыхании аэрозолей, только для электрически нейтральных аэрозольных частиц. Метод получения наноаэрозолей, основанный на электрораспылении с последующей газофазной нейтрализацией, позволяет получать аэрозоль, значительная часть частиц которого имеют



электрический заряд. Для выяснения особенностей осаждения заряженного аэрозоля в легких мышей был распылен флуоресцентный маркер - флуоресцеин-5-изотиоцианат (ФИТЦ). Показано, что при электрораспылении спиртового раствора ФИТЦ с массовой концентрацией 0.1% получаются наночастицы со средним размером 89 нм. В ходе эксперимента через камеру с мышами пропускали аэрозоль, содержащий наночастицы ФИТЦ, в течение 3 часов. Сразу после опыта животные подвергались декапитации. Левую долю извлечённых лёгких делили на две части: внутреннюю, прилегающую к бронхам, и внешнюю, формирующую край легкого. Полученные образцы замораживали, измельчали и помещали в раствор, содержащий додецилсульфат натрия и дитиотреитол. Экстракцию водорастворимой фракции проводили в течение 30 минут на водяной бане. После центрифугирования измеряли концентрацию флуоресцентного маркера в супернатанте. Такой же процедуре подвергали контрольные образцы легких мышей, не получавших аэрозоль. Предварительную калибровку флуориметра проводили по ФИТЦ с использованием в качестве растворителя супернатанта, полученного после центрифугирования контрольного образца. При анализе отдельных участков легких мышей, дышавших наноаэрозолем ФИТЦ, обнаружено равномерное распределение красителя по объему легкого. Таким образом показано, что наночастицы, получаемые методом электрораспыления с последующей электронейтрализацией в газовой фазе, способны проникать в глубокие отделы лёгких.

## ВЛИЯНИЕ НА ИММУНУЮ СИСТЕМУ СУБСТАНЦИИ ИЗ ПЕПТИДНЫХ СОЕДИНЕНИЕ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ВИРУСНОМ ГЕПАТИТЕ

**Кахаров Б.А., Джураева Ш.И.**

Национальный университет имени Мирзо Улугбека, Ташкент.

[qaxorov@mail.ru](mailto:qaxorov@mail.ru)

Организм, испытывающий влияние неблагоприятных факторов, нуждается в поддержке и защите от губительного воздействия среды. Поэтому проблема разработки и использования в медицине различных стимуляторов продуктивности и общеукрепляющих средств стоит по-прежнему остро. Практика доказала, что многие из средств, снимающих или профилактирующих стрессы, иммунодефицитные состояния, одновременно укрепляют здоровье и повышают активность организма. Для определения влияния субстанции из пептидных соединений и оценки специфичности фармакологической активности на иммунную кроветворную систему, необходимо определить состояние иммунной системы организмов животных в их иммунодефицитном состоянии по различной форме.

В данной серии экспериментов использовали беспородных мышей. Для индукции гепатита мышам трех дней вводили 20% масляный раствор четыреххлористого углерода (CCl<sub>4</sub>) по 0,2 мл внутривентриально. При вторичном иммунодефицитном состоянии, определить глубокую зараженность животных и их использование для определения влияния на антителообразующие клетки селезенки животных и определить кроветворную систему организмов, для каждого эксперимента выделены пять групп по 10- шт животных. Одновременно животных иммунизировали эритроцитами барана в дозе  $2 \times 10^8$ . Через семь дней проводили забой животных и получали результаты. Для коррекции иммунодефицитного состояния мышам вводили 2мг/кг веса пептидных соединений.

По результатам эксперимента выявлено, что у интактных животных АОК селезенка составило  $(12075 \pm 785)$  у иммунодефицитных животных АОК (антителообразующих клеток) составило  $(3623 \pm 210)$ , что явилось 3,3 раза в ниже чем у интактных животных.



Введение пептидных соединений в течение пяти дней сопровождалось повышением иммунологической реактивности и восстановлением иммунной системы. Число АОК в селезенке повысилось 2,3 раза и составило ( $8475 \pm 560$ ), достигнув уровня интактных животных. Одновременно, у этих же животных в 1,8 раз увеличилось число эритроцитов. Приведенные результаты экспериментов показывают, что пептидные соединения обладают выраженным иммуностимулирующим свойством и также стимулируют количество эритроцитов в организме животных.

## АНТИПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ГЛИКОПРОТЕИДОВ *CUSCUTA EUROPEAE*

**Кахорова К.А.<sup>1</sup>, Хашимова Г.Я.<sup>2</sup>, Рахматуллаев Э.А.<sup>3</sup>, Хашимова З.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Институт биоорганической химии АН Руз, Ташкент; <sup>2</sup> Ташкентский педиатрический медицинский институт, Ташкент; <sup>3</sup> Ташкентская медицинская академия, Ташкент, Узбекистан

[kamola\\_kaharova@list.ru](mailto:kamola_kaharova@list.ru)

Известно, что разные типы клеточных культур обладают различной восприимчивостью к действию веществ, т.е. можно оценивать мишенные эффекты и механизмы тех или иных воздействий на специфические типы клеток и их ассоциаций. В связи с выше изложенным актуальным является получение новых перевиваемых линий культуры клеток. Клеточная культура Акат выведена нами из перевиваемой опухоли Акатон (рак тонкой кишки мыши) для изучения биологически активных веществ, в том числе и противоопухолевых. Изучена чувствительность данной клеточной линии к действию некоторых клинических противоопухолевых препаратов разных классов: антиметаболиты (метотрексат); противоопухолевые антибиотики (доксорубицин); вещества растительного происхождения (винбластин); синтетические противоопухолевые препараты – цисплатин. Все препараты проявляли цитотоксическую активность как по МТТ – тесту, так и по подсчету клеток трипановым синим. Наиболее высокую чувствительность проявил синтетический препарат цисплатин – при дозах 100, 10 и 1 мкг/мл подавление роста клеток по МТТ – тесту составил 96,7%, 92,3% и 56,5%. Винбластин и доксорубицин проявляли выраженный цитотоксический эффект – цитотоксическая активность по МТТ-тесту составила 81,2%, 65,5%, 57,1, 72,2%, 58,1% и 38,4%, соответственно. Умеренную чувствительность проявил препарат метотрексат. Полученные по ММТ – тесту данные коррелируют с данными по подсчету клеток. Таким образом, перевиваемая культура клеток Акат достаточно чувствительна к действию клинических противоопухолевых препаратов и может быть использована как модельная клеточная система для скрининга минимальных количеств биологически активных веществ,

Ранее нами были выделены лектиноподобные белки из семян повилики, паразитирующей на *AlhagiL.*, по стандартной методике путем экстракции соевым раствором с последующим ступенчатым высаливанием сульфатом аммония. Изучены физико-химические характеристики белка, включая гемагглютинирующую активность и углеводную специфичность. Изучено сравнительное антипролиферативное действие фракции белков *Cuscuta europea* на культурах клеток Hela и Акат. Антипролиферативную активность оценивали с помощью МТТ-метода и подсчета клеток. Фракции белков повилики оказывает различное воздействие на культуру клеток. Так, цитотоксическое действие на клетки Hela оказывает суммарная фракция белка, фракции ЛПБ<sub>20</sub> и ЛПБ<sub>50</sub> -



100%, 98% , 94% и на клетки Акат 86%, 89% и 96% при дозе белка 100 мкг/мл, соответственно. Аналогичные результаты подавления роста клеток получены при подсчете клеток в присутствии трипанового синего.

Таким образом, установлено, что новая перевиваемая культура клеток Акат достаточно чувствительна к действию клинических противоопухолевых препаратов и может быть использована как модельная клеточная система для скрининга биологически активных веществ. Показано, антипролиферативное действие ЛПБ<sub>20</sub> и ЛПБ<sub>50</sub> на перевиваемых линиях клеток.

## ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ P2Y-РЕЦЕПТОРОВ В ПРОЦЕССЕ АДИПОГЕННОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК

**Котова П.Д.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> ОП ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

*polinakotova88@gmail.com*

Глобальной эпидемией нашего времени стало ожирение. Несмотря на то, что для борьбы с ожирением достаточно ограничить калорийность рациона пациента, такой подход лишь представляется легким, а рекомендованные диеты и изменение образа жизни зачастую не приводят к значительной и долгосрочной потере веса. В связи с этим, фармакологическая терапия рассматривается как альтернатива или комплементарный подход для тех пациентов, которые не достигли успеха в борьбе с лишним весом. Существующие на сегодняшний день препараты для борьбы с ожирением малоэффективны и обладают широким спектром побочных эффектов. Для создания эффективных препаратов необходим новый подход к поиску мишеней, на которые они будут направлены. Такой мишенью могут стать мезенхимные стволовые клетки (МСК), которые содержатся в жировой ткани человека и способны дифференцироваться в адипоциты. Объем жировой ткани в организме определяется не только размером жировых капель, содержащихся в зрелых адипоцитах, но и количеством самих адипоцитов. То есть, блокада дифференцировки МСК в адипогенном направлении теоретически может привести к снижению количества адипоцитов в жировой ткани, что в условиях дефицита потребляемых калорий может вести к снижению массы жировой ткани. В МСК экспрессируется большинство генов семейства пуринорецепторов. Кроме того, существующие данные указывают на то, что пуринергические агонисты и их рецепторы, в первую очередь P2Y играют существенную роль в процессе дифференцировки МСК в жировую ткань. Поэтому эти рецепторы являются перспективной мишенью для фармакологического воздействия с целью предотвращения дифференцировки МСК в адипогенном направлении и, соответственно, коррекции ожирения.

Эта работа была направлена на выявление изменений в уровнях экспрессии P2Y-рецепторов МСК в процессе их адипогенной дифференцировки. Были исследованы первичные культуры МСК человека, выделенных из жировой ткани восьми доноров. Из МСК выделяли тотальную РНК, проводили реакцию обратной транскрипции с олиго-dT-праймерами, после чего проводили реакцию qПЦР в реальном времени. В результате проделанной работы были выявлены донор-зависимые различия в уровнях экспрессии генов P2Y-рецепторов и в недифференцированных, и в дифференцирующихся МСК. Однако в процессе адипогенной дифференцировки в МСК всех доноров достоверно увеличивался уровень экспрессии гена P2Y<sub>11</sub>-рецептора и уменьшался – P2Y<sub>4</sub>.

Работа поддержана стипендией Президента Российской Федерации молодым ученым и аспирантам СП-924.2018.4.



## АСТАКСАНТИН ИНДУЦИРУЕТ ОТКРЫТИЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПОРЫ В МИТОХОНДРИЯХ СЕРДЦА КРЫС

**Крестинин Р.Р.<sup>1,2</sup>, Бабурина Ю.Л.<sup>1</sup>, Одинокова И.В.<sup>1</sup>, Сотникова Л.Д.<sup>1</sup>, Крестинина О.В.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино; <sup>2</sup> ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия

[rkrestinin@bk.ru](mailto:rkrestinin@bk.ru)

Астаксантин (АСТ) является производным кетокаротиноидов и обладает сильной антиоксидантной активностью. Известно, что АСТ может играть ключевую роль в предотвращении инфаркта миокарда, препятствуя повреждению сердечной ткани из-за своей антиоксидантной активности. Поскольку митохондрии являются одним из основных источников активных форм кислорода в клетках, было бы логично предположить, что влияние АСТ опосредовано митохондриальными механизмами. Окислительный стресс и ухудшение  $Ca^{2+}$ -гомеостаза считаются важными факторами в митохондриальных дисфункциях, в результате чего развивается программируемая гибель клеток. Причиной клеточной гибели, обусловленной нарушением функций митохондрий, может служить неспецифическое увеличение проницаемости внутренней мембраны (permeability transition), вызванное повышением уровня кальция в митохондриальном матриксе до сверхпорогового значения и открытия неспецифической поры (mPTP). В настоящей работе мы исследовали влияние АСТ на функциональное состояние изолированных митохондрий сердца крысы в присутствии различных концентраций АСТ в условиях открытия mPTP. В результате проведенного исследования было обнаружено, что при возрастании концентрации АСТ от 10 нМ до 5 мкМ, способность митохондрий удерживать  $Ca^{2+}$  снижалась, а набухание ускорялось. Астаксантин индуцировал открытие mPTP, что может применено для исследований клеточной гибели в опухолевых клетках.

## ИССЛЕДОВАНИЕ БИСОВМЕСТИМОСТИ И ОСТЕОГЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА КОМПОЗИЦИЙ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНОВОГО И КОЛЛАГЕНОВОГО ГИДРОГЕЛЕЙ, ИМПРЕГНИРОВАННЫХ RNVMP-2, НА МОДЕЛЯХ КРЫС

**Кузнецова В.С.<sup>1</sup>, Васильев А.В.<sup>1,2</sup>, Бухарова Т.Б.<sup>2</sup>, Загоскин Ю.Д.<sup>3</sup>, Григорьев Т.Е.<sup>3</sup>, Осидак Е.О.<sup>4</sup>, Фатхудинова Н.Л.<sup>1</sup>, Галицына Е.В.<sup>2</sup>, Бабиченко И.И.<sup>1</sup>, Домогатский С.П.<sup>4,5</sup>, Чвалун С.Н.<sup>3</sup>, Гольдштейн Д.В.<sup>2</sup>, Кулаков А.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии» Минздрава России, Москва; <sup>2</sup>ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва; <sup>3</sup>ФГБУ НИЦ «Курчатовский институт», Москва; <sup>4</sup>ООО фирмы «ИМТЕК»; <sup>5</sup>ФГБУ «НМИЦ Кардиологии» Минздрава России, Москва, Россия

[tilia7@yandex.ru](mailto:tilia7@yandex.ru)

Актуальность. BMP-2 - высоко эффективный остеоиндуктор. Однако его клиническое применение связано с использованием супрафизиологических доз, которые нередко служат причиной осложнений. Поэтому актуальным является выбор носителя для BMP-2, обеспечивающего пролонгированное высвобождение белка, сопоставимое с





кинетики физиологического релиза. Ранее нами были получены и исследованы *in vitro* композиционные материалы с BMP-2 на основе хитозана и коллагена. Требуется исследование их эффективности *in vivo*. Цель исследования. Изучить биосовместимость и остеоиндуктивный потенциал композиционных материалов на основе хитозанового и коллагенового гидрогеля, импрегнированных rhBMP-2, на моделях орто- и эктопического остеогенеза у крыс. Материалы и методы. Композиционные материалы на основе хитозана получали растворением хитозана в уксусной кислоте с последующим диализом. Далее к смеси добавляли водный раствор  $\beta$ -глицерофосфата при 4°C. Образовавшийся гель насыщали высокопористыми полилактидными гранулами с rhBMP-2, которые получали методом криолиофилизации из эмульсий и растворов. Для изготовления материалов на основе высокоочищенного коллагена смешивали 10% нейтральный раствор коллагена I типа свиньи со стерильным rhBMP-2 и фибронектином человека в соотношении по объему 1:4. Концентрация rhBMP-2 в материалах составила 10 мкг/мл. Для оценки биосовместимости самцам крыс линии Wistar массой 300-350г имплантировали исследуемые материалы подкожно в области холки. Остеоиндуктивные свойства оценивали на критическом дефекте теменных костей. Некропсию производили на 7, 14 сутки для исследования реакции окружающих тканей на имплантацию и на 28 сутки для исследования неоостеогенеза в области костных дефектов. **Результаты.** Имплантация исследуемых материалов не сопровождалась воспалением. Материалы на основе хитозанового гидрогеля и полилактидных гранул к 28 суткам стимулировали неоостеогенез в виде напластований костной ткани, окружающих остатки резорбирующихся гранул. Материалы на основе коллаген-фибронектинового геля обеспечивали интенсивный остеогенез вдоль участков врастания сосудов. Объемы новообразованной костной ткани в группах исследования составили  $56 \pm 25\%$  и  $78 \pm 18\%$  от объемов костных дефектов, соответственно.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ № 16-15-00298 и госзадания для ФГБНУ «МГНЦ».

## ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ БАНКОВ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ-ПРОДУЦЕНТА АНТИТЕЛА К STLA-4 В СООТВЕТСТВИИ С РЕКОМЕНДАЦИЯМИ ICH

**Кузнецова Я.А.<sup>1,2</sup>, Таранов А.И.<sup>1,2</sup>, Басовский Ю.И.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино; <sup>2</sup> ЗАО "Биокад", Россия

[ku2nets0vayana@yandex.ru](mailto:ku2nets0vayana@yandex.ru)

При разработке и производстве лекарственных препаратов особое внимание уделяется контролю отдельных этапов технологических процессов. Регистрационное досье на лекарственный препарат белковой природы должно содержать информацию о создании и характеристике клеточных банков линии-производителя. Перечень тестов и выполняемых процедур регламентируется документами Международной Конференции по Гармонизации (ICH - International Council for Harmonisation).

Целью данной работы являлась характеристика клеточных банков линии-производителя антитела к STLA-4 в соответствии с рекомендациями ICH с использованием молекулярно-генетических методов. Данный иммуноонкологический препарат предполагается использовать при терапии меланомы, рака лёгкого и рака простаты.



В рамках разработки технологии производства препарата на основе антитела к СТЛА-4 в компании «Биокад» была получена клеточная линия-производитель СНО (Chinese hamster ovaries) и заложены основной, рабочий банки клеток, банк клеток предельного клеточного возраста *in vitro*.

Согласно рекомендациям ИСН все клеточные банки должны быть исследованы по ряду фенотипических и генотипических характеристик. Молекулярно-генетические методы исследования играют здесь важнейшую роль. Так, они позволяют охарактеризовать видовую принадлежность, генетическую стабильность, а также микробиологическую и вирусную безопасность исследуемой линии-производителя.

В нашей работе генетическая стабильность клеточной линии продемонстрирована тестами на определение количества копий трансгенов и стабильности уровня их экспрессии в клеточных банках с использованием количественной ПЦР. Отсутствие мутаций в генах антитела показано методом секвенирования кДНК целевых трансгенов по Сэнгеру. Стабильность интеграции экспрессионных кассет антитела в геноме и отсутствие хромосомных перестроек показаны методом Саузерн-блот гибридизации. Продемонстрирована видовая принадлежность линии-производителя виду *Cricetulus griseus* путём определения нуклеотидной последовательности гена цитохромоксидазы С и поиска соответствия в базе данных *Barcode of life*. Отсутствие контаминации микоплазмами и мелким вирусом мышей в банках клеток подтверждено методами ПЦР и количественной ПЦР.

Таким образом, характеристика клеточных банков линии-производителя антитела к СТЛА-4 проведена в полном соответствии требованиям ИСН. Полученные молекулярно-генетическими методами данные свидетельствуют о возможности использования линии-производителя для производства терапевтического рекомбинантного белка.

## РАЗРАБОТКА МОДЕЛИ ВТОРИЧНОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИИ, ИНДУЦИРОВАННОЙ S.PNEUMONIA, ПОСЛЕ ГРИППОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ ЛАБОРАТОРНЫМ И ПАНДЕМИЧЕСКИМ ШТАММАМИ ВИРУСА ГРИППА H1N1

**Ленева И.А.<sup>1</sup>, Егоров А.Ю.<sup>1</sup>, Фалынскова И.Н.<sup>1</sup>, Махмудова Н.Р.<sup>1</sup>, Карташова Н.П.<sup>1,2</sup>,  
Глубокова Е.А.<sup>1</sup>, Варганова Н.О.<sup>1</sup>, Поддубиков А.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва; <sup>2</sup>ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева, Санкт-Петербург, Россия

[nadezdakartasova10571@gmail.com](mailto:nadezdakartasova10571@gmail.com)

Наибольшую опасность при гриппе представляют осложнения, среди которых ведущую роль, несомненно, занимают пневмонии. Наиболее часто с тяжестью заболевания коррелирует вторичная инфекция, индуцированная *S. pneumoniae*.

Цель работы - разработка и характеристика экспериментальной модели вторичной бактериальной пневмонии, вызываемой *S. pneumoniae*, после гриппозной инфекции, индуцированной пандемическим и лабораторным штаммами подтипа H1N1, а также их реассортантом.

Мышей BALB/c инфицировали вирусами гриппа пандемическим адаптированным к мышам А/Калифорния/04/2009МА, А/Пуэрто Рико /8/34 и их реассортантом NIBRG-121хр в дозах 0,5 МЛД50 с последующим заражением *S. pneumoniae* дозами  $12,5 \times 10^6$  и  $25 \times 10^6$  КОЕ/мл. Патогенез инфекций оценивали по выживаемости и снижению массы животных, титру вируса и плотности бактерий в легких.



Для индуцирования вторичной бактериальной пневмонии были изучены наборы комбинации двух доз *S. Pneumoniae* и трех доз каждого из вирусов гриппа, описанных выше. Заражение каждым из патогенов в отдельности вызывали заболевание у мышей иногда с частичной гибелью, в то время как последовательное заражение *S. pneumoniae* в обеих дозах после гриппозной инфекции вирусами А/Калифорния/04/2009МА или А/Пуэрто Рико /8/34, сходными по своей патогенности, всегда вызывали полную гибель мышей. При заражении менее патогенным NIBRG-121хр, полная гибель животных наблюдалась при последующем заражении *S. pneumoniae*, в дозе  $25 \times 10^6$  КОЕ/мл, снижение дозы заражения *S. pneumoniae* до  $12,5 \times 10^6$  КОЕ/мл приводило к снижению гибели и выживанию 25% мышей. Изучение легких мышей выявило, что при заражении всеми тремя вирусами отдельно титр в легких животных был достоверно на 2-3 log ТЦИД50 ниже, чем при комбинированном заражении. Несмотря на гибель животных во всех группах, зараженных *S. pneumoniae*, после гриппозной инфекции, размножение вируса и плотность бактерий в легких животных, инфицированных А/Калифорния/04/2009МА, было значительно выше, чем в аналогичных группах, зараженных А/Пуэрто Рико /8/34 и NIBRG-121хр.

В результате, нами разработана модель вторичной бактериальной пневмонии, индуцированной *S.pneumoniae* после заражения пандемическим и лабораторным штаммами вируса гриппа H1N1

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Научного Фонда, грант № 18-45-05002 «Вирусоподобные частицы для борьбы с постгриппозными бактериальными инфекциями», 2018-2020 гг.

## ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ INDOLINE-3,3-PYRROLIZIN M215 и M216 НА ПОВЕДЕНЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ВЗРОСЛЫХ ОСОБЕЙ DANIO RERIO В ТЕСТЕ «NOVEL TANK»: ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

**Леонтьева Е.А.<sup>1</sup>, Бытов М.В.<sup>1</sup>, Хацко С.Л.<sup>1</sup>, Барков А.Ю.<sup>2</sup>, Коротаев В.Ю.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО «УрФУ им. первого Президента России Б.Н. Ельцина». Институт естественных наук и математики. Кафедра экспериментальной биологии и биотехнологий. Екатеринбург; <sup>2</sup> ФГАОУ ВО «УрФУ им. первого Президента России Б.Н. Ельцина. Институт естественных наук и математики. Отдел химического материаловедения. Екатеринбург, Россия

[fosashosa26@mail.ru](mailto:fosashosa26@mail.ru)

Из многих классов химических веществ в течение последних десятилетий возрастает интерес к производным indoline-3,3-pyrrolizin. Отечественными и зарубежными учеными уделяется много внимания по ведению синтеза и поиску их полезного биологического и медицинского действия. Производные indoline-3,3'-pyrrolizin обладают антимикробной, антипролиферирующей, противоопухолевой и другими активными свойствами. Зебраданио (*Danio rerio*) является одной из эффективных моделей *in vivo* исследованиях и широко используется в мире для скрининга новых соединений и биофармакологических исследований.

Цель исследования - изучение влияния (1'S\*,2'R\*,3R\*,7a'S\*)-2'-nitro-1'-(trichloromethyl)-1',2',5',6',7',7a'-hexahydrospiro[indoline-3,3'-pyrrolizin]-2-one и (1'R\*,2'S\*,3S\*,7a'R\*)-2'-nitro-1'-(trifluoromethyl)-1',2',5',6',7',7a'-hexahydrospiro[indoline-3,3'-pyrrolizin]-2-one под сокращенным названием M216 и M215 соответственно, на поведенческую активность зебраданио.



**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ:** Каждую рыбу помещали в стакан для экспозиции с исследуемым веществом на 20 минут перед тестом в Novel tank. В эксперименте 1 исследовали поведенческую активность M215 в концентрациях 1, 5, 10, 15, 20, 25 мг/л (n=16 на группу) по отношению к контролю. Эксперименте 2 - M216 1, 5, 10, 15, 20, 25 мг/л (n=16 на группу). Оценивались количество выходов и время пребывания в верхней части аквариума, латентный период выхода наверх, частота и продолжительность фризинга, частота эрратических движений.

Полученный материал анализировался в программе «Statistica 10.0». Сравнение групп проводилось с помощью критерия Манна-Уитни. Различия считались значимыми при значении  $p < 0,05$ .

**РЕЗУЛЬТАТЫ:** В ходе исследования M215, для группы 20 мг/л наблюдалось значимое снижение частоты переходов и продолжительности пребывания в верхней части аквариума, также было выявлено значимое увеличение латентного периода переходов в верхнюю часть аквариума. При анализе фризинга было выявлено значимое увеличение количества и суммарной длительности фризинга для группы 20 мг/л и наблюдалось значимое снижение латентного периода фризинга. Выявленные в ходе исследования значимые изменения для группы 20 мг/л по сравнению с контрольной группой свидетельствуют о снижении исследовательской активности и увеличении уровня тревожности зебраданию, что предполагает наличие у исследуемого вещества анксиогенных свойств при концентрации 20 мг/л вещества в растворителе. Исследование M216 не выявило значимых изменений в показателях поведенческой активности *Danio rerio*, что говорит об отсутствии психотропных эффектов у данного соединения.

### 3-ЦИАНО-4-МЕТИЛ-2,6-ДИОКСОПИРИДИН-5-АМИНОЕНОНЫ – НОВЫЙ КЛАСС ИНГИБИТОРОВ GSK3-В КИНАЗЫ

**Лысенко А. С., Якименко Д.Д., Тилинин М.С., Самохвалова М.С., Малышева И.А.**

ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». Белгород, Россия

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

АТФ-связывающий сайт GSK-3 $\beta$  киназы является одной из самых перспективных биологических мишеней при поиске новых препаратов в фармакотерапии некоторых опухолевых, нейродегенеративных и аутоиммунных заболеваний, а также воспалительных процессов, связанных с этими заболеваниями. Поэтому дизайн и синтез новых классов ингибиторов данной протеинкиназы является актуальной задачей современной биофармацевтики.

Особый интерес в этой области представляет поиск миметиков известных ингибиторов GSK-3 $\beta$  киназы природного происхождения, таких как индирубин.

Нами было установлено, что цианиновые красители на основе 3-циано-4-метил-2,6-диоксопиридинового скаффолда, известные как красители Гуареши, являются структурными миметиками молекулы индирубина и проявляют схожую ингибиторную активность. Наличие имидного фармакофора также сближает красители Гуареши с известными синтетическими ингибиторами GSK-3 $\beta$  киназы малеинимидного ряда.

Нами был осуществлен синтез ряда 3-циано-4-метил-2,6-диоксопиридин-5-аминоенонов путем трехкомпонентной конденсации 3-циано-4-метил-2,6-диоксопиридина, ортомуравьиного эфира и ароматических аминов, который протекает как клик-процедура.



Способность данных соединений выступать в роли ингибиторов GSK-3 $\beta$  была подтверждена с помощью ELISA-анализа. Были получены графики зависимости «действующая концентрация / активность ингибирования». Показано, что синтезируемые соединения способны умеренно ингибировать GSK-3 $\beta$  киназу в диапазоне концентраций 1-10 ммоль/л, что сравнимо с активностью индирубинов, содержащих заместители у углеродных атомов индолиноновых фрагментов.

Как и в молекуле индирубина, наличие донорных заместителей в ароматическом ядре ведет к повышению активности ингибитора, введение электроноакцепторных заместителей - к ее понижению вплоть до полного исчезновения.

Учитывая синтетическую доступность цианиновых красителей Гуареши и широкий спектр возможных модификаций синтезируемых соединений, ингибиторы GSK-3 $\beta$  киназы на основе 3-циано-4-метил-2,6-диоксопиридинового скаффолда являются перспективными и нуждаются в дальнейшем изучении.

## СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПОДАВЛЕНИЯ ЛПС-ИНДУЦИРОВАННОЙ СЕКРЕЦИИ ЦИТОКИНОВ АНТАГОНИСТОМ TLR4 И ИНГИБИТОРОМ P38 МАРК

**Морозова А.А.<sup>1</sup>, Радзюкевич Я.В.<sup>1</sup>, Кабанов Д.С.<sup>1</sup>, Прохоренко И.Р.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ОП ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ Институт фундаментальных проблем биологии РАН. Пущино, Россия

[honorikvudi@mail.ru](mailto:honorikvudi@mail.ru)

МАР-киназа p38 представляет собой привлекательную лекарственную мишень из-за ее роли в регуляции синтеза воспалительных цитокинов (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6) и ферментов, ответственных за воспаление (COX-2, iNOS). Ключевым рецептором эндотоксинов (ЛПС) является Толл-подобный рецептор 4 (TLR4).

Цель нашей работы - оценка эффективности нетоксичного ЛПС *R. capsulatus* PG – антагониста TLR4 и ингибитора p38 МАР-киназы SB203580 в снижении синтеза провоспалительных TNF- $\alpha$  и IL-8 при активации клеток крови ЛПС *E. coli* 055:B5.

Исследование проводили на цельной крови условно-здоровых доноров (n=8). Кровь инкубировали в 24-луночных планшетах в следующих вариантах: а) контроль; б) SB203580 (10 мкМ, 15 мин); в) ЛПС *R. capsulatus* PG (400 нг, 30 мин); г) ЛПС *E. coli* 055:B5 (40 нг/мл); д) ЛПС *E. coli* 055:B5 (40 нг/мл), прединкубация с SB203580 (10 мкМ, 15 мин); е) ЛПС *E. coli* 055:B5 (40 нг/мл), прединкубация с ЛПС *R. capsulatus* PG (400 нг, 30 мин). Полученные образцы инкубировали 6 ч в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при 37° С и 5% CO<sub>2</sub> и центрифугировали (10 мин, 1000 об/мин). Супернатанты отбирали и замораживали (-20°С) до измерения цитокинов методом ИФА.

Нами показано, что при активации клеток крови ЛПС *E. coli* продукция TNF- $\alpha$  снижалась при блокировании киназы p38 на 44% (p<0,05), при блокировании TLR4 (ЛПС *R. capsulatus* PG) на 68% (p<0,005). Более эффективное снижение продукции TNF- $\alpha$  при прединкубации клеток крови с ЛПС *R. capsulatus* PG в сравнении с ингибированием киназы p38 может объясняться тем, что при блокировании пути p38 синтез этого цитокина компенсируется другими путями (ERK1/2, JNK).

При активации клеток крови ЛПС *E. coli* продукция IL-8 снижалась при блокировании киназы p38 (на 38%; p<0,05). Прединкубация лейкоцитов с ЛПС *R. capsulatus* PG не оказывала влияния на продукцию IL-8 в ответ на ЛПС *E. coli*. В литературе показано, что до 50% синтезированного IL-8 опосредуется зависимой от G-белков активацией PI3K, что, возможно, объясняет отсутствие влияния ЛПС *R. capsulatus* PG на продукцию IL-8.



Полученные данные показывают эффективность использования ЛПС *R. capsulatus* PG в качестве препарата направленного на подавления продукции воспалительных цитокинов, которые синтезируются по MyD88-зависимому пути TLR4.

## УЧАСТИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК В ВОССОЗДАНИИ НИШИ СТВОЛОВЫХ И ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК IN VITRO

**Новоселецкая Е.С.<sup>1,2</sup>, Сагардзе Г.Д.<sup>1</sup>, Басалова Н.А.<sup>1,2</sup>, Григорьева О.А.<sup>1</sup>,  
Нимирицкий П.П.<sup>1,2</sup>, Макаревич П.И.<sup>1,2</sup>, Ефименко А.Ю.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> ФГБОУ ВПО Институт регенеративной медицины, МНОЦ, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва; <sup>2</sup> Факультет фундаментальной медицины, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

[novoseletskaya.es@gmail.com](mailto:novoseletskaya.es@gmail.com)

Внеклеточный матрикс (ВКМ) является важным компонентом микроокружения клетки, который способен регулировать судьбу клетки, включая адгезию, пролиферацию и дифференцировку. Существенное значение имеет, какие клетки являются продуцентами ВКМ. По современным представлениям мезенхимные стромальные клетки (МСК) играют ключевую роль в процессах регенерации тканей, поддерживая пул резидентных стволовых клеток (СК), в том числе за счет продукции ВКМ. Одним из перспективных подходов, позволяющих стимулировать накопление ВКМ МСК, является 3D культивирование клеток в составе клеточных пластов. В данной работе мы исследовали возможность моделирования микроокружения с помощью ВКМ МСК, способного поддерживать дифференцировку и жизнеспособность стволовых и прогениторных клеток.

Нами был подобран протокол децеллюляризации клеточных пластов из иммортализованных МСК жировой ткани человека с помощью SNAPs и ДНКазы I. Структура и сохранение основных белков ВКМ после децеллюляризации было оценено с помощью иммуногистохимического анализа и СЭМ. Влияние МСК ВКМ на дифференцировку прогениторных клеток (МСК) в остеогенном и адипогенном направлениях было оценено с помощью гистохимического окрашивания ализариновым красным и суданом красным, а также с помощью ПЦР в реальном времени.

Оценка возможности ВКМ выполнять поддерживающую функцию микроокружения СК была проанализирована на модели поддержания жизнеспособности сперматогониальных стволовых клеток (ССК) при долговременном культивировании. Для этого ССК были выделены из яичек крыс и высажены на ВКМ, полученный из МСК жировой ткани.

Было показано, что в децеллюляризованном ВКМ сохранены ключевые компоненты ВКМ. Кроме того, ВКМ стимулирует дифференцировку МСК жировой ткани человека в адипогенном и остеогенном направлениях на ранних сроках (4-й день). Также было установлено, что ВКМ способен поддерживать выживаемость ССК на протяжении, по крайней мере, 14 дней. При этом, жизнеспособность ССК, культивируемых на ВКМ, была выше таковой на культуральном пластике.

Таким образом, нами было изучено влияние ВКМ в поддержании ниши стволовых и прогениторных клеток. Показана перспективность использования ВКМ для стимуляции



восстановления поврежденных тканей. Результаты наших исследований могут стать основой для разработки новых бесклеточных продуктов для регенеративной медицины.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (грант № 18-315-00403, работы по разработке биоматериала для стимуляции сперматогенеза) и РНФ (19-75-30007 РНФ), работы по разработке децеллюляризованного биоматериала).

## ИССЛЕДОВАНИЕ ХЕЛАТИРУЮЩИХ СВОЙСТВ NDCTR1 И РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ЕГО ВЫДЕЛЕНИЯ

**Орлов Ю.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия

[iaorlov@corp.ifmo.ru](mailto:iaorlov@corp.ifmo.ru)

Медь (Cu) – жизненно необходимый микроэлемент. Cu является каталитическим кофактором в ряде ферментов, которые участвуют в процессах клеточного дыхания, антиоксидантной защиты, метаболизме железа и некоторых других. Кроме каталитической функции Cu также регулируют активность некоторых транскрипционных факторов (HIF, Sp1) и белковых комплексов, участвуя в регуляции клеточного цикла, не опосредованной аппаратом Гольджи секрецией, сигналинге и неоваскуляризации.

Хотя Cu необходима, в свободном состоянии её ионы токсичны, так как вызывают образование свободных радикалов. Ряд заболеваний, среди которых болезнь Вильсона, болезнь Паркинсона и Альцгеймера характеризуются наличием свободных ионов Cu. Для их выведения из организма при данных заболеваниях используют хелаторы, соединения, которые прочно связывают ионы меди и удаляются вместе с мочой. Применяемые сейчас малые синтетические хелаторы способны разобщать метаболизм других микроэлементов, проникать внутрь клеток и вызывать аллергические реакции.

В данной работе исследуется внеклеточный N-концевой домен высоко аффинного импортера меди в клетку человека CTR1 (NdCTR1), который имеет три мотива для связывания Cu, серебра (Ag(I) – изоэлектронный аналог иона Cu(I)) и цисплатина. NdCTR1 – потенциальный селективный хелатор Cu естественного происхождения.

NdCTR1, слитый с GST, клонировали в *E. coli*. Наличие NdCTR1 увеличивало выживаемость бактерий при инкубации в растворах CuSO<sub>4</sub>, AgNO<sub>3</sub> и наночастиц серебра на несколько порядков несмотря на то, что они накапливали больше металла по сравнению с контролем. Было показано, что металл в большей степени ассоциирован с хроматографическим пиком, совпадающим по молекулярной массе с GST-NdCTR1. Связывание NdCTR1 ионов Ag(I) было также подтверждено методом иммунопреципитации с антителами к NdCTR1. Наличие на C-конце NdCTR1 гидрофобного кластера и способность GST к димеризации приводили к агрегации рекомбинантного белка в тельца включения, что не позволяло выделить белок в чистом виде, но была показана возможность его выделения методом лигандообменной хроматографии на колонке, заряженной ионами Ni(II), т.к. NdCTR1 содержит 10% остатков гистидина. Функциональный NdCTR1 без гидрофобного кластера, слитый с белком носителем GB1, был клонирован и хроматографически выделен. В настоящее время продолжаются исследования хелатирующих свойств очищенного NdCTR1 для его дальнейшего применения в качестве безопасного хелатора меди.

Работа поддержана грантами РФФИ 18-015-00481, МК2718.2018.4.



## СТРУКТУРА И СВОЙСТВА БИОПЛЁНОК НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА И ПОЛИВИНИЛОВОГО СПИРТА, ПОЛУЧЕННЫХ В СРЕДЕ СВЕРХКРИТИЧЕСКОГО ДИОКСИДА УГЛЕРОДА

**Петленко А. А.<sup>1</sup>, Чащин И. С.<sup>2,3</sup>, Крашенников С.В.<sup>4</sup>, Абрамчук С. С.<sup>3</sup>, Анучина Н. М.<sup>2</sup>, Григорьев Т. Е.<sup>4</sup>, Бакулева Н. П.<sup>2</sup>**

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

<sup>2</sup> ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева" Минздрава России, Москва; <sup>3</sup> ФГБУН Институт элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова РАН, Москва; <sup>4</sup> ФГБУ НИЦ

Курчатовский институт

[petlenko.antonina@yandex.ru](mailto:petlenko.antonina@yandex.ru)

Для придания имплантантам антимикробных свойств и усиления их прочности в качестве основы для биоплёнок использовали комплексы из хитозана, поливинилового спирта и наночастиц серебра, образующиеся при смешивании их растворов. Хитозан и поливиниловый спирт обладают антимикробными свойствами, характеризуются хорошей биосовместимостью. Высокая бактериальная устойчивость образцов обеспечивается за счёт введения наночастиц серебра, которые являются эффективными антисептическими агентами для борьбы с микробами широкого спектра действия. С помощью вариации режимов обработки готовых образцов в среде сверхкритического диоксида углерода (скСО<sub>2</sub>) становится возможным контролировать пористость получаемых плёнок.

Задачей данного исследования было найти оптимальное соотношение полимеров хитозан/поливиниловый спирт, обеспечивающее пленкам достаточную эластичность, а также выяснить влияние обработки в сверхкритической среде на изменение механических и физических свойств образцов.

В ходе исследования нами были получены образцы с различными соотношениями полимеров хитозан/поливиниловый спирт, изучена их структура с помощью просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ). Показано, что обработка в сверхкритических средах приводит к значительному увеличению влагопоглощения образцов от 15 до 50 раз в зависимости от соотношения полимеров в композитной плёнке. Устойчивость плёнок в среде крови и сыворотке человека зависит как от соотношения полимеров в их составе, так и от способа обработки в скСО<sub>2</sub>. Причем модификация в сверхкритической среде увеличивала стабильность некоторых плёнок в крови человека в 7 раз, а в модельном растворе альбумина в 3 раза. Исследования структуры пленок методом ПЭМ выявило взаимосвязь структурных особенностей образцов с их составом, а также присутствие в них наночастиц серебра размером 2-3 нм.

Разработанная технология позволила подготовить образцы для цитотоксических, антимикробных, микроструктурных и механико-прочностных исследований.

Полученные результаты позволяют сделать выбор перспективных композитных биопленок с антимикробными свойствами для использования в реконструктивных кардиохирургических вмешательствах при инфекционных поражениях сердечно-сосудистого русла.





## НОВЫЙ ТЕРАНОСТИЧЕСКИЙ АГЕНТ НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ЦЕРИЯ, ДОПИРОВАННЫХ ГАДОЛИНИЕМ

**Попов А.Л.<sup>1</sup>, Баранчиков А.Е.<sup>2</sup>, Иванова О.С.<sup>2</sup>, Ермаков А.М.<sup>1</sup>, Савинцева И.В.<sup>1</sup>, Колманович Д.Д.<sup>3</sup>, Аккизов А.Ю.<sup>3</sup>, Попова Н.Р.<sup>1</sup>, Шекунова Т.О.<sup>4,2</sup>, В.К. Иванов<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова, Москва, Россия;

<sup>3</sup>Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова, Нальчик; <sup>4</sup>

ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия

[toshka\\_bf@mail.ru](mailto:toshka_bf@mail.ru)

Магнитно-резонансной терапия (МРТ) является одним из наиболее распространенных методов диагностики патологических состояний организма. Разработка новых безопасных и высокоэффективных контрастирующих агентов для МРТ является актуальной задачей биомедицины, в виду отсутствия на рынке препаратов отечественного производства. Одним из наиболее перспективных направлений в разработки таких препаратов является использование наночастиц оксидов металлов, обладающих парамагнитными свойствами.

В рамках данной работы с использованием полиольного и гидротермально-микроволнового методов синтеза нами получены образцы нанодисперсных зольей диоксида церия, допированных гадолинием. Проведен комплексный анализ физико-химических характеристик полученных образцов методами энергодисперсионной спектроскопии, спектроскопии характеристических потерь энергии электронов, просвечивающей электронной микроскопии, динамического светорассеяния, определены значения дзета-потенциала, а также проведен анализ функциональных характеристик синтезированных образцов наночастиц путем оценки их антиоксидантной активности и времен спин-решеточной релаксации. Результаты анализа среднего размера наночастиц при разведении в различных растворителях подтвердили высокую агрегативную устойчивость синтезированных образцов при их разведении в деионизованной воде и фосфатно-солевом буфере. При этом разведение в культуральной среде также лишь незначительно увеличивало средний размер наночастиц. При добавлении образцов в среду DMEM/F12, содержащую сыворотку, наблюдается стабилизация размеров наночастиц. Поскольку цитрат-ионы, на поверхности наночастиц обеспечивают отрицательный дзета-потенциал частиц можно предположить, что фактором, стабилизирующим размер наночастиц, являются белки сыворотки, адсорбируемые на их поверхности. Анализ седиментационной устойчивости водных зольей диоксида церия, допированного гадолинием, показал, что большинство синтезированных образцов сохраняют высокую стабильность, однако через 90 суток происходит агрегация частиц до 50-80 нм. Проведен анализ антиоксидантной активности синтезированных образцов путем оценки уровня АФК в суспензиях наночастиц после их генерации под воздействием рентгеновского излучения. Показано, что большинство синтезированных образцов обладает ярко выраженной антиоксидантной активностью, снижая концентрацию пероксида водорода с начальных значений (400 нМ) до 100-150 нМ. Таким образом, данный тип наночастиц может рассматриваться как основа для разработки новых тераностических агентов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 17-73-10417.



## СЕЛЕКТИВНАЯ ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ НАНОКРИСТАЛЛИЧЕСКОГО ТРИОКСИДА ВОЛЬФРАМА IN VITRO

**Шекунова Т.О.<sup>1,2</sup>, Иванова О.С.<sup>2</sup>, Ермаков А.М.<sup>3</sup>, Савинцева И.В.<sup>3</sup>, Колманович  
Д.Д.<sup>4</sup>, Аккизов А.Ю.<sup>4</sup>, Баранчиков А.Е.<sup>2</sup>, А.Л. Попов<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова, Нальчик; <sup>2</sup>  
ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва;  
<sup>3</sup>ФГБУН Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова, Москва; <sup>4</sup>ФГБУН  
Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

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

В последние годы было предпринято много усилий для разработки и исследования новых наноразмерных материалов для биомедицинского применения. Особые физико-химические свойства наноматериалов позволяют применять их в диагностике и лечении социально значимых заболеваний. Одним из наиболее перспективных материалов является нанокристаллический оксид вольфрама ( $WO_3$ ). Нами синтезирован новый тип фотохромных наночастиц  $WO_3$ , стабилизированных поливинилпирролидоном. Проведена комплексная оценка их физико-химических характеристик с помощью ПЭМ, СЭМ, EDX, УФ-видимой спектроскопии. Наночастицы  $WO_3$  продемонстрировали высокоселективный цитотоксический эффект в отношении трансформированных клеток остеосаркомы линии MNNG/Hos по сравнению с нормальными клетками человека. Было обнаружено, что наночастицы  $WO_3$  индуцируют состояние окислительного стресса, увеличивая количество внутриклеточных АФК, значительно снижая митохондриальный потенциал, что, в конечном счете, приводит к развитию апоптоза и гибели клетки. Максимальная ингибирующая концентрация (IC50) для клеток остеосаркомы составила 5 мг/мл через 24 часа культивирования, в то же время мезенхимальные стволовые клетки человека, взятые для сравнительного анализа, не показали достоверного снижения жизнеспособности через 24 часа сокультивирования при такой же концентрации наночастиц. Также стоит отметить ингибирование пролиферативной активности трансформированных клеток под действием наночастиц  $WO_3$  и значительное изменение их профиля экспрессии генов, ответственных за редокс-систему клетки. Подобный селективный цитотоксический эффект обусловлен различной чувствительностью клеток к наночастицам и pH культуральной среды.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-73-10150.

## АНАЛИЗ МЕТАБОЛОМА СЫВОРОТКИ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГХ-МС С ЦЕЛЬЮ ВЫЯВЛЕНИЯ БИОМАРКЕРОВ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИХ РЕГУЛЯТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ НА КЛЕТОЧНОЙ МОДЕЛИ ЗАБОЛЕВАНИЯ

**Салль Т.С.<sup>1</sup>, Демьянова Е.В.<sup>1</sup>, Щербакова Е.С.<sup>1</sup>, Жахов А.В.<sup>1</sup>, Ищенко А.М.<sup>1</sup>, Ситкин  
С.И.<sup>1</sup>, Вахитов Т.Я.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГУП «Государственный НИИ особо чистых биопрепаратов» Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

[t.s.sall@hpb.spb.ru](mailto:t.s.sall@hpb.spb.ru)

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) – распространенное заболевание, прогрессирующее от накопления триглицеридов (ТГ) в гепатоцитах до развития воспаления - неалкогольный стеатогепатит (НАСГ), фиброза, цирроза. В настоящее время



актуальным является использование метаболомики для выявления маркеров заболевания. Выявленные метаболиты могут обладать регуляторным действием: являться этиологическими факторами, предикторами или факторами ответа организма на заболевание. Цель работы - изучение состава низкомолекулярных метаболитов сыворотки крови с помощью газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) у пациентов с НАЖБП для оценки их диагностической значимости и изучение роли метаболитов в развитии заболевания с использованием модели *in vitro*.

В исследование были включены пациенты со стеатозом (n=10, ИМТ 31,0±2,5), НАСГ (n=10, ИМТ 32,6±1,9) и здоровые добровольцы мужского пола (n=5, ИМТ 27,5±0,6). Хроматограммы обрабатывали с помощью программ, прилегающих к хроматографу – AMDIS, MetAlign, AOutput. Полученные данные обрабатывали с помощью классификаторов SVM, PLS-DA, Naïve Bayes, которые позволяли по идентифицированным метаболитам разделить группы здоровых и пациентов со стеатозом и НАСГ, а также выделить соединения, внесшие наибольший вклад в разделение групп. Модель НАЖБП *in vitro* была получена путем воздействия на клетки HepG2 пальмитиновой и олеиновой кислот (0,5 мМ) в присутствии бычьего сывороточного альбумина. С помощью данной модели оценивали действие выявленных метаболитов на липогенез и воспаление.

В сыворотке крови пациентов методом ГХ-МС было идентифицировано 319 соединений. Наибольший вклад в разделение группы здоровых и группы пациентов со стеатозом внесли гипоксантин, 3-метил-2-оксвалерановая кислота, а в разделение здоровых и пациентов с НАСГ - гипоксантин, изовалериановая кислота, 4-гидроксимасляная кислота.

При создании модели стеатоза добавление жирных кислот к клеткам HepG2 приводило к повышению уровня ТГ и провоспалительного цитокина IL-8 в 5,4 и 2 раза соответственно. Добавление янтарной, изовалериановой, 3-фенилмолочной кислот приводило к увеличению уровня ТГ от 7 до 36% и IL-8 от 17 до 24% по сравнению с контролем. Напротив, глицин, пропионовая и каприловая кислоты снижали содержание ТГ и IL-8 на 4-11% и 10-16% соответственно по сравнению с контролем.

Таким образом, показана роль ряда метаболитов как маркеров НАЖБП, а выявленная биологическая активность метаболитов позволяет не только глубже понимать механизмы развития заболевания, но и открывает перспективы для разработки биологически активных препаратов на их основе.

## РАЗРАБОТКА ПОДХОДОВ ПРИЦЕЛЬНОЙ ЭЛИМИНАЦИИ АУТОРЕАКТИВНЫХ Т- И В-ЛИМФОЦИТОВ

**Скрябина М.Н.<sup>1</sup>, Карагяур М.Н.<sup>1</sup>**

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

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

Аутоиммунные заболевания составляют около 5% в общей структуре заболеваемости. Наиболее распространенными подходами к их терапии является применение цитостатической, иммуносупрессивной (глюкокортикоидной) терапии или использование моноклональных антител, нейтрализующих определенные звенья аутоиммунного процесса. Чаще всего достигаемый эффект является временным и не очень избирательным. В то же время природа иммунных клеток позволяет специфически идентифицировать и элиминировать клоны Т- и В-лимфоцитов, несущие аутореактивные



T- и B-клеточные рецепторы, что потенциально может являться инструментом для высокоспецифичной терапии аутоиммунных заболеваний. Этого можно попытаться достичь с использованием CAR T-лимфоцитов или моноклональных антител, специфически распознающих аутореактивные формы B- и T-клеточных рецепторов. Описанный подход особенно актуален для таких болезней как диффузный токсический зоб, миастения, некоторые разновидности сд I-го типа и пр. При этих заболеваниях мишенями для иммунной системы становятся преимущественно эпитопы рецептора ТТГ, никотинового ацх рецептора, рецептора инсулина и пр. Поскольку при данных патологиях основные клинические проявления связаны именно с направленным воздействием аутоантител/аутореактивных клеток на конкретный названный антиген (зачастую рецептор), предполагается, что элиминация аутореактивных T- и B-лимфоцитов в данном случае способна остановить прогрессию подобных аутоиммунных заболеваний и нормализовать состояние пациента.

В данной работе нами будет предпринята попытка элиминации B-лимфоцитов и плазматических клеток, продуцирующих антитела к известному эпитопу. В качестве клеток-мишеней будет использована линия B-клеточной гибридомы, производящей IgG антитела к десмоглеину-3 человека (вырабатываются при пузырчатке Pemphigus vulgaris). В качестве эффекторных CAR T-клеток линия T-лимфоцитов человека Jurkat, трансфицированных генетической конструкцией, кодирующей chimeric antigen receptor к антителу/B-клеточному рецептору, специфически распознающему десмоглеин-3 человека.

На первом этапе нами была собрана описанная выше генетическая конструкция. Внеклеточный домен химерного рецептора включает в себя фрагмент молекулы десмоглеина-3 человека (650 а/к) с антигенными эпитопами для распознавания аутореактивных BCR, а внутриклеточный идентичен таковому CAR 2-го или 3-го поколения (CD28-4-1BB-CD3z).

В случае успешного применения подобный подход может быть применен для элиминации B-лимфоцитов, B-клеток памяти и плазматических клеток, продуцирующих аутореактивные антитела, а также аутореактивных T-лимфоцитов.

## ИЗМЕНЕНИЕ БИОФИЗИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЭРИТРОЦИТОВ В УСЛОВИЯХ АКТИВАЦИИ ПУРИНЕРГИЧЕСКОЙ СИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

Сладкова Е.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

[sladkova@bsu.edu.ru](mailto:sladkova@bsu.edu.ru)

Известно, что в норме в микроциркуляторном русле форменные элементы крови функционируют в условиях механического стресса, в ответ на который эритроцитами и клетками эндотелия экскретируются молекулы АТФ, выступающие ключевыми лигандами, активирующими пуриновые рецепторы клеток крови. **Цель исследования** - изучить изменения биофизических свойств эритроцитов в условиях активации пуринергической сигнальной системы.

**Методы исследования.** Экспериментальные исследования выполнены на крови здоровых людей зрелого возраста от 36 до 59 лет (n=30). Активацию пуринергических сигнальных путей осуществляли путем моделирования механического стресса in vitro согласно методике, описанной в работе Oonishi T. (1997). Каждый образец крови был



разделен на опытную и контрольную пробы. Опытные пробы крови подвергали механическому стрессу, контрольные оставляли без воздействия.

Жесткость поверхности эритроцитов оценивали по численным данным модуля Юнга. Измерение модуля Юнга осуществляли на атомно-силовом микроскопе (АСМ) ИНТЕГРА ВИТА в режиме атомно-силовой спектроскопии. Электрические свойства плазмалеммы эритроцитов оценивали путем измерения поверхностного потенциала (ПП) в режиме зонда Кельвина на АСМ. Из каждого образца было отсканировано по 20 эритроцитов.

Достоверность различий между контрольными и опытными пробами определяли с использованием *t* критерия Стьюдента.

**Результаты исследования и их обсуждение.** При активации пуринергической сигнальной системы установлено изменение механических и электрических свойств эритроцитов. Так, модуль Юнга красных клеток крови был выше на 29 % ( $p < 0,05$ ), а потенциал поверхности стал более отрицательным на 23, 5 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению со значениями в контроле.

В настоящее время доказано, что на мембране эритроцитов нет специфических Р-рецепторов непосредственно для молекулы АТФ, но были идентифицированы рецепторы для АДФ (ADP-P2Y<sub>13</sub>) и аденозина (аденозин-A<sub>2B</sub>). Ввиду чего, мы предполагаем, что продукты распада молекул АТФ (в форме АДФ и аденозина) могли оказывать влияние на изменение механических и электрических свойств красных клеток крови за счет входа ионизированного кальция через ионную пору.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РНФ, соглашение № 18-75-00041.

## АКТИВАЦИЯ АЛЬФА2-АДРЕНЕРГИЧЕСКИХ РЕЦЕПТОРОВ ЗАЩИЩАЕТ КЛЕТКИ МОЗГА ОТ СИНДРОМА ГИПЕРВОЗБУДИМОСТИ И ГИБЕЛИ ПРИ ИШЕМИИ

Туровская М.В.<sup>1</sup>, Гайдин С.Г.<sup>1</sup>, Мальцева В.Н.<sup>1</sup>, Туровский Е. А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ОП ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

[turovsky.84@mail.ru](mailto:turovsky.84@mail.ru)

В экспериментах использовали первичные нейроглиальные клеточные культуры гиппокампа крысы в возрасте 10 дней *in vitro*. Клетки загружали кальций-чувствительным зондом Fura-2 и регистрировали изменения концентрации ионов кальция в цитозоле ( $[Ca^{2+}]_i$ ) во время ишемии, индуцированной с помощью вытеснения кислорода из среды инертным газом – аргоном и замены глюкозы на сахарозу. Для выявления процессов апоптоза и некроза, клетки загружали зондами NucView488 и Propidium iodide, соответственно. ПЦР-анализ проводили в соответствии со стандартными методиками. Было выявлено, что активация  $\alpha_2$ -адренергических рецепторов вызывает генерацию транзиторных  $Ca^{2+}$ -сигналов в астроцитах с сохранением повышенного базового уровня  $[Ca^{2+}]_i$  в течение нескольких, поскольку не происходит полной откачки ионов  $Ca^{2+}$  до уровня покоя после прохождения сигнала. Повышенный уровень  $[Ca^{2+}]_i$  вызывает усиление секреции АТФ и, вероятно, других глиотрансмиттеров, астроцитами, активирующими защитные сигнальные пути и подавляющими симптомы гипервозбудимости нейрональных сетей. Агонисты  $\alpha_2$ -адренорецепторов (гуанфацин, UK-14,304, и др.) обладают комплексным действием и в течение 24 часов инкубации, могут модулировать не только уровень экспрессии генов-регуляторов апоптоза, воспаления и



некроза, но и подавлять секрецию возбуждающих нейротрансмиттеров с одной стороны, и способствовать секреции трофических факторов мозга, оказывающих защитный эффект, с другой стороны. Сигнальные пути, активируемые при хроническом воздействии агонистов  $\alpha 2$ -адренорецепторов, являются  $Ca^{2+}$ -зависимыми или модулирующими динамику ионов  $Ca^{2+}$  в цитозоле, защищая нейроглиальные сети от повреждения и гибели во время ишемии и реперфузии. Таким образом, показанные нейропротекторные механизмы активации  $\alpha 2$ -адренергических рецепторов могут служить перспективной мишенью для профилактики и защиты ишемических заболеваний мозга.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента РФ – МК-626.2018.4.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КОАГУЛЯЦИОННОГО ЗВЕНА ГЕМОСТАЗА МЫШЕЙ CD 1 НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ ПАКЛИТАКСЕЛА

**Филонова М. В.<sup>1,2</sup>, Федорова Е.П.<sup>1</sup>, Чуринов А.А.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> ФГБНУ НИИ фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ РАН, Томск; <sup>2</sup> ФГАОУ ВО НИ Томский государственный университет, Томск, Россия

[Maria-Caurus7@yandex.ru](mailto:Maria-Caurus7@yandex.ru)

Для онкологических больных характерен высокий риск развития тромботических осложнений индуцированных как самой опухолью, так и противоопухолевой терапией. Паклитаксел является одним из широко используемых химиотерапевтических препаратов. Известно, что возникновение тромботических осложнений у больных раком, получающих паклитаксел, связано с индукцией образования тромбина в эритроцитах и увеличение их адгезивных способностей. В связи с вышеизложенным, актуальным является изучение действия паклитаксела на показатели коагуляционного звена свертывающей системы.

Цель: изучить влияние паклитаксела на показатели коагуляционного звена свертывающей системы аутобредных мышей.

Эксперименты проведены на 80 мышах (самцы и самки) линии CD 1 массой 20-30 г (питомник НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга). Паклитаксел вводили внутрибрюшинно в максимально переносимой дозе 40 мг/кг. Анализ показателей системы коагуляционного гемостаза проводились стандартными методами на коагулометре Helena C-4 (Helena Biosciences Europe, Великобритания) с использованием реактивов компании «Технология-Стандарт» (г. Барнаул, Россия).

Изучение показателей проводили на 5, 8, 10, 15 сутки после введения цитостатика. Коагуляционное звено изучали в плазме, полученной из стабилизированной цитратом натрия крови.

Нарушение активности коагуляционного звена системы гемостаза определяли по следующим показателям: активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ), протромбиновое время (ПВ), международное нормализованное отношение (МНО), концентрация фибриногена.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программы Statistica 6. Межгрупповые различия были оценены с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни.

В результате исследования при введении паклитаксела в МПД мышам на 5 сутки наблюдали увеличение концентрации фибриногена у самцов на 77%, у самок на 65% относительно контроля. В этот же период отмечено сокращение ПВ и МНО на 25 и 28 % у самцов и на 22 и 24 % - у самок относительно контрольной группы. Значение АПТВ



снизились на 24 % у самцов и 25% у самок в сравнении с контрольными величинами. Таким образом, снижение значений показателей ПВ и МНО, АПТВ, а так же одновременное увеличение концентрации фибриногена, свидетельствует о нарушении системы гемостаза в сторону образования тромбов.

## СПОСОБ ОЦЕНКИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ Р-ГЛИКОПРОТЕИНА В ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОМ БАРЬЕРЕ

**Черных И.В.<sup>1</sup>, Шулькин А.В.<sup>1</sup>, Мыльников П.Ю.<sup>1</sup>, Гацанога М.В.<sup>1</sup>, Сеидкулиева А.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, Рязань, Россия

[alekseyshulkin@rambler.ru](mailto:alekseyshulkin@rambler.ru)

**Введение.** Р-гликопротеин (Pgp) – это АТФ-зависимый белок-транспортер, экспрессирующийся в гематоэнцефалическом барьере (ГЭБ) и препятствующий проникновению в головной мозг широкого спектра токсичных экзогенных и эндогенных веществ. Развитие синдрома паркинсонизма, по некоторым данным, является следствием снижения активности Pgp в ГЭБ.

**Цель** – разработать и апробировать способ оценки функциональной активности Pgp в ГЭБ.

**Материалы и методы.** Работа выполнена на 120 крысах-самцах вистар, разделенных на 4 группы (n=30 в каждой). 1-й группе в хвостовую вену вводили маркерный субстрат Pgp – фексофенадин (Ф.) (10 мг/кг); 2-й – в течение 14 дней вводили рифампицин (Р.) (индуктор Pgp) 100 мг/кг два раза в день, а затем на 15-й день в/в вводили Ф. 3-й группе животных за 30 мин до Ф. внутривенно вводили верапамил (В.) (ингибитор Pgp) (1,65 мг/кг). 4-й группе крыс за 30 мин до введения Ф. внутривенно вводили омепразол (О.) (ингибитор Pgp, не влияющий на сердечно-сосудистую систему) (17,6 мг/кг).

Через 5, 10, 15, 30, 45 и 60 мин для анализа у крыс забирали кровь и кору головного мозга, в которых определяли концентрацию Ф. методом ВЭЖХ. Суммарное количество Ф. в системном кровотоке и в коре мозга оценивали по площади под кривой концентрация Ф. – время ( $AUC_{0-t(плазма)}$  или  $AUC_{0-t(мозг)}$ ). Для оценки проницаемости ГЭБ рассчитывали отношение  $AUC_{0-t(мозг)}/AUC_{0-t(плазма)}$ .

**Результаты.** Введение Р. и О. не влияло на  $AUC_{0-t(плазма)}$  Ф. в плазме по сравнению с контролем. При введении В. параметр  $AUC_{0-t(плазма)}$  по сравнению с контролем был выше на 56,49% ( $p=0,0185$ ), что свидетельствует о снижении функциональной активности Pgp в печени и почках животных.

Введение Р. приводило к снижению  $AUC_{0-t(мозг)}$  Ф. в 2,74 раза ( $p=0,0045$ ), а применение О. увеличивало данный показатель в 1,49 раза ( $p=0,012$ ). В. на данный параметр влияния не оказал ( $p>0,05$ ).

$AUC_{0-t(мозг)}/AUC_{0-t(плазма)}$  Ф. снижался при применении индуктора Pgp – Р. в 3,36 раза ( $p=0,003$ ), а при использовании О. – возрастал в 1,71 раза ( $p=0,003$ ).

Таким образом, разработан способ тестирования активности Pgp в ГЭБ, основанный на:

- внутривенном введении маркерного субстрата Pgp – Ф. в дозе 10 мг/кг;
- определении фармакокинетики Ф. и его содержания в коре больших полушарий;
- расчете соотношения  $AUC_{0-t(мозг)}/AUC_{0-t(плазма)}$ , которое непосредственно и характеризует проницаемость ГЭБ и активность Pgp в нем.

Работа поддержана грантом РФФИ №18-415-62003 p\_a



## ИССЛЕДОВАНИЕ ПРЕПАРАТОВ ПИРИМИДИНОВОГО РЯДА НА КЛЕТОЧНОМ И ОРГАНИЗМЕННОМ УРОВНЕ НА МОДЕЛИ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЛАНАРИЙ *GIRARDIA TIGRINA*.

**Чешаева А.О.<sup>1</sup>, Нефедова С.Е.<sup>2,3</sup>, Порфирьев А.Г.<sup>1</sup>, Тирас Х. П.<sup>2,3</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань; <sup>2</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия;;  
<sup>3</sup>ФГБОУ ВПО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия

[nastya.cheshaeva@gmail.com](mailto:nastya.cheshaeva@gmail.com)

Препараты пиримидинового ряда обладают широким спектром действия. Одним из наиболее важных является их активность, направленная на регенерацию тканей и органов. В клинической практике при лечении трофических язв, ожогов, остеомиелита используется препарат «Ксимедон», производное пиримидина. В настоящее время ведётся модификация данного препарата методом удвоения молекулы действующего вещества для ускорения регенерации тканей и органов.

Целью данной работы является изучение действия препарата «Ксимедон» (1-(β-оксиэтил)-4,6-диметил-1,2-дигидро-2-оксипиримидин) и нового препарата Н25 (α,ω-бис[(1-(2-карбоксиэтил)-2-оксо-4,6-диметилпиримидинил]алкилен) - «сдвоенной» молекулы «Ксимедона» на регенерацию плоских червей - планарий.

Работа проводилась на планариях *Girardia tigrina* - бесполой лабораторной расе червей. Использование планарий в качестве объекта для исследования лекарственных средств имеет ряд преимуществ: простая структурно-функциональная организация и уникальная способность к регенерации за короткий период времени. Регенерацию планарий вызывали путём декапитации переднего конца тела. После перерезки червей помещали в исследуемые растворы препаратов. Изучалось действие препарата «Ксимедон» в концентрациях  $10^{-7}$ М и  $10^{-9}$ М. Препарат Н25 брали в концентрациях  $10^{-7}$ М,  $10^{-9}$ М,  $10^{-11}$ М и  $10^{-13}$ М. Для оценки динамики роста бластемы у экспериментальной и контрольной групп использовали метод прижизненной компьютерной морфометрии. Измерение регенерации хвостовой части проводили на 3,5 и 7 день после перерезки. Полученные в ходе эксперимента изображения регенерантов обрабатывали в программе *Plan 5.0*, которая позволяет анализировать электронные изображения планарий и определять площади проекции тела регенеранта и бластемы.

Для оценки регенерации на клеточном уровне применили метод вычисления митотического индекса (число митозов на 1000 клеток). Для его определения использовали клеточную суспензию, полученную из зоны регенерирующего фрагмента бластемы (0.5 мм), расположенной под раневой поверхностью, регенерирующей планарии. Идентификацию митотических фигур произвели модифицированным методом суспензирования клеток по Багунья. Подсчёт числа митотических фигур проводился с помощью инвертированного флуоресцентного микроскопа *Zeiss Axio Imager 2*.

После анализа полученных данных, было выяснено, что препарат «Ксимедон» в концентрации  $10^{-7}$ М стимулирует регенерацию головы планарий. В свою очередь препарат Н25 в концентрациях  $10^{-9}$ М,  $10^{-11}$ М и  $10^{-13}$ М оказывает противоположное действие - ингибирует отрастание бластемы.





## ЛИЗИС БАКТЕРИЙ РОДОВ PSEUDOMONAS И BACILLUS С ПОМОЩЬЮ ФАГОСПЕЦИФИЧЕСКИХ ПЕПТИДАЗ

**Шадрин В.С.<sup>1,2</sup>, Мачулин А.В.<sup>3</sup>, Чернышов С.В.<sup>1</sup>, Дорофеева Л.В.<sup>3</sup>, Микулинская Г.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пущино; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва; <sup>3</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пущино

[valerian94@yandex.ru](mailto:valerian94@yandex.ru)

Эндолизины бактериофагов представляют собой возможную альтернативу антибиотикам, так как способны вызывать гибель клеток бактерий, в том числе патогенных или антибиотикорезистентных, разрушая пептидогликановый слой их клеточной стенки извне.

Объектом настоящего исследования являются эндолизины колифагов RB49, RB43 (*Myoviridae*) и T5 (*Siphoviridae*). Изучаемые ферменты – цинксодержащие L-аланоил-D-глутаматпептидазы семейства M15, которые способны осуществлять гидролиз пептидогликана типа А (по классификации Шлейфера). Цели работы – анализ бактериолитической активности эндолизинов RB49, RB43 и T5 на различных штаммах грамположительных и грамотрицательных бактерий и оценка их перспектив как потенциального антибактериального средства.

На первом этапе работы был осуществлен скрининг бактерий с различным строением пептидогликана, в результате которого было отобрано 3 вида подверженных лизису грамположительных бактерий - *Bacillus subtilis*, *B. megaterium* и *B. licheniformis*, - и 2 вида грамотрицательных - *Pseudomonas aeruginosa* и *P. putida*, - в том числе штамм с устойчивостью к канамицину и рифампицину. На исследуемых штаммах были определены удельные литические активности всех ферментов. Для ускорения лизиса грамотрицательных бактерий была применена пермеабиллизация их наружной мембраны селективным для псевдомонад агентом - ЭДТА. Было показано, что наиболее эффективно протекает лизис грамотрицательных бактерий рода *Pseudomonas*.

Количественный анализ КОЕ подверженных лизису бактерий обнаружил, что для большинства штаммов отсутствует корреляция между убыванием оптической плотности и числом жизнеспособных КОЕ; так, например, в случае *B. licheniformis* наблюдался гидролиз клеточных стенок эндолизинами RB49 и RB43, но количество жизнеспособных КОЕ не уменьшалось.

С помощью фазово-контрастной микроскопии было обнаружено, что лизис грамположительных бактерий происходит постепенно без резкого разрушения клеток, сопровождаясь изменением коэффициента преломления и увеличением объема клеточного содержимого. Лизис клеток грамотрицательных штаммов для части популяции бактерий мгновенный и протекает с полным разрушением клеточной стенки и потерей целостности клеток.

Таким образом, ферменты вирулентных колифагов RB49, RB43 и T5 способны эффективно лизировать бактерии родов *Pseudomonas* и *Bacillus*, в том числе антибиотикорезистентные штаммы, а значит, обладают перспективой для биотехнологии и биомедицины.

Работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-04-00492.



## РОЛЬ АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИНА В РЕГУЛЯЦИИ ПРОЛИФЕРАЦИИ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ Т-ХЕЛПЕРОВ 17 ТИПА (Th17)

**Шардина К.Ю.<sup>1</sup>, Тимганова В.П.<sup>2</sup>, Бочкова М.С.<sup>2</sup>, Заморина С.А.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», Пермь; <sup>2</sup>ФГБУ Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения РАН, Пермь, Россия

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

Во время беременности иммунная система матери подвержена аллоиммунизации антигенами плода. В формировании иммунной толерантности к эмбриону важную роль играют белки беременности, в частности, альфа-фетопротеин (АФП). Он синтезируется плацентой и представляет собой гликопротеин (3–5% углеводов) с молекулярной массой 68–75 кДа. Известно, что основным продуктом Th17, является провоспалительный цитокин IL-17. Иммуносупрессивные эффекты АФП хорошо известны, однако его роль в дифференцировке Th17 до сих пор остается не исследованной. Таким образом, целью работы являлась оценка влияния АФП на пролиферацию и дифференцировку Th 17.

В работе использовали мононуклеары периферической крови (МПК) здоровых небеременных женщин репродуктивного возраста (n=11). Клетки получали центрифугированием в градиенте плотности фиколла–верографина. Монокультуры CD4<sup>+</sup>-клеток (Т-хелперы) были получены методом иммуномагнитной сепарации из суспензии МПК. Выделенные Т-хелперы культивировали в полной питательной среде (ППС) при 37°C 72 часа. Нами были использованы физиологические концентрации (10, 50 и 100 МЕ/мл) нативного препарата АФП, полученного из сыворотки беременных женщин (ООО «Биалекса»). Для активации Т-лимфоцитов использовали частицы, покрытые антителами к CD2, CD3, CD28 человека. Для индукции лимфоцитов в фенотип Th17 в культуры вносили цитокины IL-1β и IL-6 (10 нг/мл). После инкубации оценивали количество Th17 как процент CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов, экспрессирующих транскрипционный фактор ROR-γt. Одновременно измеряли экспрессию маркера пролиферации Ki67 после пермеабиллизации клеток (реагенты «MiltenyiBiotec», Германия) методом проточной цитометрии.

Обнаружено, что под воздействием TCR-активатора и цитокинов (IL-1β и IL-6) исходное количество Th17-клеток в контрольных пробах составляло 77,90±8,30 % против 1,14±0,97 (n=11) в пробах без активаторов. Установлено, что в присутствии АФП количество Th17 клеток (CD4<sup>+</sup>RORγt<sup>+</sup>) не изменялось. Также не выявлено достоверных эффектов исследуемого белка на процентное содержание Ki67<sup>+</sup>, RORγt+Ki67<sup>+</sup>, и RORγt+Ki67<sup>-</sup> в популяции CD4<sup>+</sup> Т-клеток.

В целом, это говорит о том, что АФП не принимает участие в регуляции процессов пролиферации Th17, а также не влияет на дифференцировку этих клеток. По-видимому, отсутствие эффекта связано с особенностями устройства рецепторного аппарата для АФП на лимфоцитах. Можно предположить, что активированные Т-хелперы, индуцированные в фенотип Th17 не экспрессируют АФП-рецептор.

*Исследование поддержано грантом РФФИ, № 16-44-590971.*



## АНАЛИЗ ТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА КОМБИНАЦИИ ВЕЩЕСТВ ДИЭТИЛДИТИОКАРБАМАТА И ГИДРОКСИКОБАЛАМИНА

**Шошина О.О.<sup>1</sup>, Соловьева М.Е.<sup>2</sup>, Акатов В.С.<sup>2</sup>**

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

<sup>2</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия

[lesyash145@gmail.com](mailto:lesyash145@gmail.com)

Широко известен факт, что тиоловые соединения, помимо антиоксидантных свойств, проявляют достоверный цитотоксический эффект в присутствии ионов переходных металлов. Присутствие иона кобальта ( $\text{Co}^{2+}/3+$ ) в витамине В12 позволяет ему вступать в реакцию с тиолами, приводя к окислительному стрессу в клетке. Анализ реакций тиолоподобных соединений, используемых в медицинских целях, таких как диэтилдитиокарбамат (DDC), с В12, позволит в дальнейшем избежать в ходе терапии побочных негативных эффектов. В предыдущих исследованиях было установлено образование дисульфирама и его окисленных форм, сульфонов и сульфоксидов в качестве продуктов реакции DDC с В12 в форме гидроксикобаламина (ОНСбI). При этом было отмечено усиление цитотоксического эффекта, сопровождающегося интенсивной вакуолизацией клеток. Цель работы – установить механизм инициации гибели опухолевых клеток. Анализ спектров поглощения растворов DDC с ОНСбI выявил появление дополнительного пика на 210 нм, который в совокупности с проведенными ранее исследованиями масс-спектрометрией свидетельствует в пользу образования сульфоксидов в ходе реакции. Измерение с помощью кислородного электрода выявило падение концентрации свободного кислорода в среде, однако анализ реакции с использованием каталазы не обнаружил присутствия перекиси в среде. После 48 ч инкубации опухолевых клеток линий НEr-2 и MCF-7 с 1 mM DDC в пробах остается 70 % клеток от контроля, при добавлении 25  $\mu\text{M}$  ОНСбI в среду погибает 90% клеток. Нами было отмечено отсутствие признаков, характерных для апоптотической гибели клеток: каспазной активности, субG1 пика при анализе распределения клеток по фазам клеточного цикла, а также блеббинга мембраны при фазово-контрастной и конфокальной микроскопии. Формирование вакуолей на фоне увеличения эндоплазматического ретикулума зафиксировано, начиная с 3-4-часового воздействия веществ. С помощью окраски флуоресцентным красителем MitoSOX было обнаружено, что 4- и 6- часовая инкубация с DDC и В12 приводит к накоплению активных форм кислорода, генерируемых митохондриями, и повышению концентрации цитоплазматического  $\text{Ca}^{2+}$ . В совокупности данные свидетельствуют в пользу того, что кобаламин катализирует окисление DDC кислородом воздуха, приводя к образованию сульфоксидов, что стимулирует вакуолизацию цитоплазмы и параптозоподобную клеточную гибель.

Работа была поддержана грантом Правительства РФ № 14.Z50.31.0028.



## УРОВЕНЬ МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОВ, СВЯЗАННЫХ С ТЯЖЕСТЬЮ СПИНАЛЬНОЙ МЫШЕЧНОЙ АТРОФИИ

**Штыкалова С.В.<sup>1,2</sup>, Маретина М.А.<sup>1,2</sup>, Цыганова Н.А.<sup>2</sup>, Егорова А.А.<sup>1</sup>, Валетдинова К.Р.<sup>3,4,5,6</sup>, Закиян С.М.<sup>3,4,5,6</sup>, Баранов В.С.<sup>1,2</sup>, Киселев А.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> ФГБНУ НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д. О. Отта, Санкт-Петербург; <sup>2</sup> ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург; <sup>3</sup> ФГБНУ «ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск; <sup>4</sup> ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН», Новосибирск; <sup>5</sup> ФГБУ «СФБМИЦ им. ак. Е.Н. Мешалкина», Новосибирск; <sup>6</sup> ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия

[sofia.shtykalova@gmail.com](mailto:sofia.shtykalova@gmail.com)

Спинальная мышечная атрофия (СМА) - тяжелое наследственное нейродегенеративное заболевание. Основным симптомом является прогрессирующая мышечная слабость, которая возникает из-за потери функции мотонейронов передних рогов спинного мозга вследствие мутаций в гене *SMN1*. СМА характеризуется высокой клинической гетерогенностью и включает в себя болезнь Верднига-Гоффмана (СМА I типа) – одну из основных причин младенческой смертности, а также ряд переходных (СМА II-III типов) и редких легких форм (СМА IV типа). Основным модификатором тяжести заболевания является ген *SMN2*, однако существуют и другие факторы, которые могут влиять на проявления болезни. Одним из таких факторов является метилирование ДНК – наиболее стабильная эпигенетическая модификация, изменяющая характер экспрессии генов. Исследования показали, что изменения в уровне метилирования ДНК могут быть связаны с патогенезом и тяжестью СМА. Ранее нами был проведен полногеномный анализ метилирования, в результате которого был выявлен ряд генов с различиями в уровне метилирования между группой пациентов и контрольной группой здоровых индивидов соответствующего возраста. Среди этих генов для дальнейшего анализа были выбраны те, для которых наиболее вероятно связь с патогенезом СМА. Целью данного исследования является изучение характера метилирования генов *SMN2*, *DYNC1H1*, *SLC23A2*, *RPL9*, *ARHGAP22* на разных этапах дифференцировки индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК), полученных от пациентов с разной тяжестью СМА, в мотонейроны. В результате проведенного анализа были выявлены значимые различия в уровне метилирования регуляторных областей генов *SMN2* и *RPL9* между пациентами со СМА I и II типа и здоровым индивидом. Также было обнаружено понижение уровня метилирования участков генов *DYNC1H1* и *ARHGAP22* у пациента со СМА I типа по сравнению со здоровым индивидом. Полученные в работе данные важны для лучшего понимания молекулярных механизмов, лежащих в основе развития СМА, а также для выявления новых модификаторов фенотипа пациентов с данным заболеванием.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №18-315-00258.



## РАЗРАБОТКА ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА НА ОСНОВЕ КОСТНОЙ КРОШКИ И МИКРОРАЗМЕРНОГО ГИДРОКСИАПАТИТА

**Минайчев В.В.<sup>1,3</sup>, Кирсанова П. О.<sup>3</sup>, Сенотов А.С.<sup>3</sup>, Фадеева И.С.<sup>1,3</sup>, Звягина А. И.<sup>3</sup>,  
Одинцова О.А.<sup>2,3</sup>, Акатов В.С.<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Тульский государственный университет, Тула; <sup>3</sup>ФГБУН Институт Теоретической и Экспериментальной Биофизики РАН, Пущино, Россия

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

Разработка эффективных остеопластических материалов для аугментации костной ткани при различных травмах является актуальной задачей в современной реконструктивной хирургии костной ткани. Однако свойства материалов, лежащие в основе их успешной биоинтеграции в организме остаются во многом не изученными. Так до сих пор остается нерешенным вопросом влияния особенностей архитектоники ксеногенных материалов на их остеогенные свойства. В литературе имеются данные демонстрирующие, что материалы на основе губчатой и кортикальной кости обладают разной степенью биоинтеграции в организме.

Целью данной работы являлось исследование особенности биоинтеграции остеопластических материалов на основе донорской костной крошки (ДКК), в зависимости от ее состава, а также оценка повышения остеоиндуктивного эффекта ДКК за счет модификации различными концентрациями микроразмерного гидроксиапатита (м-ГАп).

В проведенных исследованиях использовалась деминерализованная костная крошка (дДКК), полученная из бедренной кости крупного рогатого скота и прошедшая специальную обработку, включающую дробление с последующей децеллюляризацией, делипидизацией и щадящей деминерализацией. Особенности обработки позволили получить материал с максимально сохраненной архитектурой костной ткани при полном удалении антигенов. Средний размер частиц полученной ДКК составлял 300-800 мкм.

Для изучения остеогенных свойств в условиях *in vivo* была проведена субкутанная имплантация крысам образцов дДКК (губчатой и губчато-кортикальной), а также комбинация дДКК с м-ГАп в различной концентрации (10, 15 и 20 об. %).

В условиях *in vivo* дДКК на основе губчатой костной ткани подвергалась резорбции материала с формированием грубоволокнистой соединительной ткани на месте имплантации. Использование смеси губчатой и кортикальной дДКК сопровождалось построением структурированного неколлагенового матрикса между частицами дДКК, сопровождавшимся резорбцией губчатого компонента с сохранением кортикального.

Одновременно с этим было обнаружено, что добавление м-ГАп с смесь губчатой и кортикальной дДКК в концентрации 20 об. % приводило к полной остановке процессов биоинтеграции, включая миграцию/пролиферацию клеток и прорастание соединительной ткани в контактных зонах имплантированных образцов. При этом, содержание м-ГАп 15 об. % в образцах смесовой дДКК инициировало частичную резорбцию м-ГАп и слабо выраженное построение неструктурированной фиброзной ткани по границе контакта образца с тканями реципиента. В свою очередь, снижение концентрации м-ГАп до 10 об. % не только способствовало заселению материала клетками реципиента, но и построению структурированного неколлагенового (трабекулоподобного) матрикса между отдельными частицами костной крошки и минерализацией компонентов дДКК.



Таким образом, полученные данные свидетельствуют о более выраженных остеогенных свойствах компактного вещества костной ткани по сравнению с губчатым, а также указывают на выраженный дозозависимый эффект м-ГАп в остеопластических материалах.

Работа выполнена при поддержке ЦКП ИТЭБ РАН и Фонда содействия инновациям.

## ПОВЫШЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ КЛЕТОК ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА К ДЕЙСТВИЮ ГЕНОТОКСИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ АКТИВАЦИИ ГОМОТИПИЧЕСКОЙ МЕЖКЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИИ

**Кобякова М.И.<sup>2</sup>, Сенотов А.С.<sup>1,2</sup>, Евстратова Я.В.<sup>2</sup>, Краснов К.С.<sup>3</sup>, Кирсанова П.О.<sup>2</sup>, Акатов В.С.<sup>2</sup>, Фадеев Р.С.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Тульский государственный университет, Тула; <sup>2</sup>ФГБУН Институт Теоретической и Экспериментальной Биофизики РАН, Пущино

[rita49@gmail.com](mailto:rita49@gmail.com)

Одной из основных причин недостаточной эффективности терапии острых форм миелоидного лейкоза (ОМЛ) считается формирование лекарственной устойчивости у лейкозных клеток. Ранее в наших работах было показано, что при активации гомотипической межклеточной адгезии в трехмерных многоклеточных агрегатах клеток острого миелоидного лейкоза происходит повышение устойчивости к действию ДНК-повреждающих препаратов, таких как этопозид, цитарабин, метотрексат и доксорубин. В данной работе обсуждаются некоторые механизмы, лежащие в основе данного феномена.

Авторским коллективом ранее было показано, что в многоклеточных агрегатах клетки остаются пролиферирующими, а также, что повышение лекарственной устойчивости не связано с изменением транспорта низкомолекулярных веществ в центральную часть агрегата и экспрессией основных белков множественной лекарственной устойчивости, таких как Р-гликопротеид, MRP1 и BCRP. В свою очередь, в многоклеточных агрегатах клеток ОМЛ происходит повышение уровня фосфорилированного RelA (p65), основного маркера активации транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B, и повышение экспрессии антиапоптотических белков Mcl-1, Bcl-2 и XIAP.

Далее было показано, что применение низкомолекулярных ингибиторов активации транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B - QNZ и антиапоптотических белков семейства Bcl-2 – АВТ-737, в нетоксичных концентрациях, способствовало снижению устойчивости клеток ОМЛ в многоклеточных агрегатах к действию этопозиды и цитарабина, соответственно.

Таким образом, полученные данные указывают на то, что повышение устойчивости клеток ОМЛ в многоклеточных агрегатах происходит на фоне активации транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B, и увеличении экспрессии антиапоптотических белков Bcl-2, Mcl-1 и XIAP. Также в работе была показана принципиальная возможность подавления устойчивости клеток ОМЛ в многоклеточных агрегатах к индукции клеточной гибели с помощью низкомолекулярных ингибиторов транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B и антиапоптотических белков семейства Bcl-2.



## ВЛИЯНИЕ НАНОТОПОЛОГИИ НА МОРФОЛОГИЮ НЕЙРОНАЛЬНЫХ КЛЕТОК

**Антонова О.Ю.<sup>1</sup>, Кочеткова О.Ю.<sup>1</sup>, Евстратова Я.В.<sup>1</sup>, Михеев А.Ю.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия

[ol\\_antonova@mail.ru](mailto:ol_antonova@mail.ru)

При разработке интерфейсов нейрон-скаффолд все больше внимание исследователей привлекает физические аспекты поверхности, поскольку показано, топография поверхности влияет на жизнеспособность, рост и функциональную активность нейронов. Несмотря на большое число экспериментальных работ, направленных на получение и исследование влияния различных материалов и архитектуры поверхности на клеточные реакции, точные биологические механизмы механической стимуляции морфологических изменений нейронов не установлены. И модуляция топографией поверхности клеточной активности является непредсказуемой. Однако, без этих знаний невозможно проектирование нейроактивных поверхностей обеспечивающих эффективную клеточную адгезию, миграцию и дифференцировку необходимую для регенерации тканей.

Данный проект направлен на исследование влияния свойств материала и структурной организации подложки на микро- и наноуровне на функциональную активность клеток.

Поскольку практически не изучен рост клеток на топографических поверхностях с размером волокон менее 200 нм (так как такие поверхности сложно получать), основные исследования были сосредоточены в этом направлении. Методом электроспиннинга получены подложки на основе нейлона-4,6 с различными топологическими характеристиками. Были получены подложки со средним диаметром волокон 15-20 нм и 160 нм с случайно-структурированными и строго ориентированными волокнами.

Исследование жизнеспособности нервных клеток (нейробластомы человека IMR-32) на скаффолдах с различной структурой поверхности показало, что и ориентированные в одном направлении и случайно-ориентированные волокна не зависимо от их диаметра не подавляют жизнеспособность клеток.

Показано, что культивирование нейронов гиппокампа крыс на случайно-ориентированных нановолокнах приводит к тому, что нейриты клеток не имеют доминирующего направления. В то время как ориентированные волокна с диаметром 15-20 нм оказывают сильное влияние на морфологию нейронов. Наблюдается направленный рост нейритов параллельно волокнам. Морфометрический анализ позволил количественно определить ориентацию нейритов в наноструктурированных скаффолдах и подтвердить индуцированную топологией поверхности направленность растущих отростков. Показано, что взаимодействие нейронов с ориентированными нановолокнами с диаметром 15-20 нм приводит к значительной (в 3 раза) элонгации отростков клеток и поляризованности клеток. Таким образом, полученные скаффолды не только имеют сходную с внутриклеточным матриксом нанотопологию, но и обладают необходимыми адгезивными свойствами и биосовместимостью, что делает их привлекательными для дальнейшей разработки тканеинженерных конструкций.



## СЕКЦИЯ "БИОТЕХНОЛОГИЯ И ПРИБОРОСТРОЕНИЕ"

### ОЦЕНКА РЕГЕНЕРАЦИОННОЙ И ТРАНСФОРМАЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ КАРТОФЕЛЯ КАЗАХСТАНСКОЙ И ЗАРУБЕЖНОЙ СЕЛЕКЦИИ

**Александрова А.М.<sup>1</sup>, Карпова О.В.<sup>1</sup>, Ерискина Е.А.<sup>1</sup>, Жиенова И.Т.<sup>1</sup>, Крылдаков Р.В.<sup>1</sup>, Полимбетова Н.С.<sup>1</sup>, Исаков Б.К.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>РГП на ПХВ "Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина" КН  
МОН РК, г. Алматы, Казахстан

*alena\_pisarenko@inbox.ru*

Генетическая инженерия позволяет в кратчайшие сроки получить сорта, обладающие необходимыми признаками, а также сократить время выведения нового сорта. Эффективность трансформации картофеля напрямую зависит от генетических особенностей исходного сорта и должна учитываться при планировании экспериментов по получению трансгенных растений.

В ходе исследования оценивали способность к регенерации и эффективность трансформации 17 сортов картофеля казахстанской и зарубежной селекции. Трансформацию проводили методом кокультивации междоузлий и листовых дисков с агробактериями, несущими кодирующую последовательность белка 25K S вируса картофеля под контролем 35S промотора CaMV и терминатора нопалинсинтетазного гена в составе бинарного агробактериального вектора pCAMBIA2300. В эксперименте использовали 100-120 эксплантов каждого сорта. В ходе модификации метода после инокуляции агробактериями экспланты 2 недели культивировали на среде для каллусогенеза (MS, 1,6% глюкозы, 0,1 мг/л 6-БАП, 0,05 мг/л НУК, 500 мг/л цефотаксима, 50 мг/л канамицина), а затем – на среде для морфогенеза (MS, 1,6% глюкозы, 40 мг/л аденина, 5 мг/л кальция пантотената, 1 мг/л биотина, 0,1 мг/л 6-БАП, 2,5 мг/л зеатинрибозид, 0,2 мг/л гибберелловой кислоты, 10 мг/л нитрата серебра, 500 мг/л цефотаксима, 50 мг/л канамицина) до старта роста регенерантов, который наблюдали через 1 месяц после инокуляции. Отбор трансгенных растений проводили методом ПЦР-анализа и анализировали на присутствие РНК-транскриптов.

Наивысшую способность к регенерации проявили сорта «Милена» (78 растений-регенерантов, эффективность трансформации – 44,6%), «Тамаша» (68, 45%), «8491-4» (66, 31,8%) и «Сантэ» (35, 17,1%). Средней способностью к регенерации обладали: «Пикассо» (26, 29,6%), «Дуняша» (22, 50%), «Зерен» (21, 28,6%), «Триумф» (21, 28,6%) и «Альбинка» (18, 44,4%). Наименьшее количество регенерантов наблюдалось у сортов «Илона» (12, 33,3%), «Фортуна» (10, 30%), «Кормилица» (6, 16,7%) и «Императрица» (6, 16,6%). Сорт «Ушконыр» не проявил регенерационной активности. У сортов «Тохтар» (64, 12,5%) «Латона» (23, 13%) и «Тянь-Шаньский» (23, 0%) отмечена удачная регенерация, но низкая эффективность трансформации.

Таким образом, на эффективность трансформации картофеля существенное влияние оказывает способность к регенерации. Из изученных сортов наибольшей эффективностью трансформации обладали «Дуняша», «Тамаша», «Альбинка» казахстанской селекции и «Милена» российской селекции. Однако, высокие показатели регенерационной активности не являются гарантией успешной трансформации.





## ВЛИЯНИЕ МХА SPHAGNUM L. НА РИЗОГЕНЕЗ EX VITRO РАСТЕНИЙ-РЕГЕНЕРАНТОВ VACCINIUM SPP.

**Божидай Т.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>РУП «Институт плодоводства», аг. Самохваловичи, Республика Беларусь

*tanya\_bozhidaj@mail.ru*

Одним из этапов микроразмножения растений является этап ризогенеза. Укоренение растений-регенерантов *Vaccinium* spp. может проходить как *in vitro*, так и *ex vitro*. Второй вариант позволяет упростить процесс микроразмножения и одновременно получать растения, укорененные и адаптированные к естественным условиям. Для эффективного укоренения в условиях *ex vitro* большое значение имеет правильный выбор субстрата.

Цель исследований – изучить влияние мха *Sphagnum* L. на ризогенез растений-регенерантов *Vaccinium* spp.

Материалом для исследования служили растения-регенеранты сортов голубики высокорослой (*Vaccinium corymbosum* L.) Duke, Patriot; голубики узколистной *V. angustifolium* Ait. – Мотего, Половчанка, Янка; клюквы крупноплодной (*V. macrocarpon* Ait.) – Stevens, McFarlin, Ben Lear; брусники обыкновенной (*V. vitis-idaea* L.) – Erntesege, Koralle, Runo Bielawskie; черники обыкновенной (*V. myrtillus* L.) и черники кавказской (*V. arctostaphylos* L.).

Для укоренения микропобегов в условиях *ex vitro* использовали мох *Sphagnum* L. со слоем верхового торфа (0,5 см) и верховой торф (контроль). Микропобеги высаживали в мини-парники 450×200×70 мм (расстояние между рядами – 10–15 мм, в ряду – 7–10 мм). Условия укоренения: освещение 2,5–3 тыс. лк, температура +20...+22 °С, фотопериод 16/8 ч. Длительность культивирования – 4 недели.

Отмечено достоверное влияние типа субстрата и генотипов растений рода *Vaccinium* L. на количество укорененных растений и на их морфологическое развитие на этапе ризогенеза *ex vitro*.

Мох *Sphagnum* L. оказал положительное влияние на результативность укоренения растений-регенерантов *Vaccinium* spp., за исключением черники кавказской: доля укоренившихся растений-регенерантов сортов голубики высокорослой составила 95,8%, голубики узколистной – 94,7%, клюквы крупноплодной – 100%, брусники обыкновенной – 82,8%, черники обыкновенная – 69,8%, черники кавказской – 48,0%.

По приросту побегов и по длине корней растения-регенеранты на мхе превосходили контрольный вариант или достоверно не отличались друг от друга.

Таким образом, использование в качестве субстрата мох *Sphagnum* L. со слоем верхового торфа позволяет получить до 100% укорененных и адаптированных растений рода *Vaccinium* L.



## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЦЕЛЛЮЛОЗОЛИТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА МИКРОМИЦЕТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ АГРОЦЕНОЗОВ КАЗАХСТАНА

**Бражникова Е.В.<sup>1</sup>, Мукашева Т.Д.<sup>1</sup>, Игнатова Л.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Казахский национальный университет им. аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан

*polb\_4@mail.ru*

Микромицеты способны вызывать деструкцию разнообразных органических веществ, в том числе лигнина, целлюлозы, синтетических полимерных материалов и др. Целлюлоза является наиболее распространенным углеродным соединением, составляющим от 15% до 60% сухой массы органического вещества. От процессов разложения органического вещества, в том числе от скорости деструкции целлюлозосодержащих субстратов, в значительной степени зависит почвенное плодородие, непосредственно влияющее на рост и развитие растений. В основе биологической деградации целлюлозы лежит действие микроорганизмов, проявляющих целлюлозолитическую активность.

Целью настоящего исследования являлось определение целлюлозолитического потенциала микромицетов и первичный отбор наиболее активных штаммов для их дальнейшего использования в составе биопрепарата для стимуляции роста сельскохозяйственных культур.

Объектом исследования служили 848 штаммов микромицетов (653 изолята мицелиальных грибов и 195 дрожжей), выделенных из агроценозов кормовых и зерновых культур Казахстана.

Для определения целлюлозолитического потенциала микромицетов использовали экспресс-метод, основанный на формировании комплексов полисахарида с хромогенным красителем. Производили посев культур на поверхность агаризованной среды с добавлением натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы (Na-КМЦ) в качестве единственного источника углерода. Способность штаммов к гидролизу целлюлозы оценивали по наличию и величине зоны просветления вокруг колоний после прокрашивания чашек 0,1% красителем Конго красным с последующим вычислением соотношения диаметра зон просветления к диаметру колоний.

Скрининг микромицетов показал, что 16,4% из всех изученных штаммов обладают целлюлозолитической активностью. Зона просветления вокруг колоний варьировала в диапазоне от 5,7 до 23,3 мм у мицелиальных грибов и от 2,3 до 7,3 мм у дрожжевых культур. Отношения диаметров зон просветления и диаметров колоний составили от 1,02 до 1,28.

Наибольшее количество активных штаммов выявлено среди мицелиальных грибов. По целлюлозолитическому потенциалу представители различных родов формировали ряд: *Fusarium sp.* < *Trichoderma sp.* < *Aspergillus sp.* < *Penicillium sp.* Дрожжи в значительно меньшей степени проявили способность к гидролизу целлюлозы, данная активность была характерна для представителей родов *Candida* и *Saccharomyces*.

В результате проведенных экспериментов для дальнейших исследований было отобрано 7 штаммов микромицетов с наиболее выраженным целлюлозолитическим потенциалом.



## ИЗУЧЕНИЕ ПАТОГЕННОСТИ МУТАЦИЙ ГЕНА CFTR НА МОДЕЛИ КИШЕЧНЫХ ОРГАНОИДОВ

**Булатенко Н.В.<sup>1,2</sup>, Ефремова А.С.<sup>1</sup>, Бухарова Т.Б.<sup>1</sup>, Петрова Н.В.<sup>1</sup>, Каширская Н.Ю.<sup>1</sup>,  
Кондратьева Е.И.<sup>1</sup>, Девришев Д.А.<sup>2</sup>, Гольдштейн Д.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ «Медико-генетический научный центр» РАМН, г. Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО "Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени им. К.И. Скрябина", г. Москва, Россия

*bny695@gmail.com*

Муковисцидоз – частое аутосомно-рецессивное заболевание, обусловленное мутациями в гене *CFTR*. Известно более 2000 генетических вариантов *CFTR*, большинство из которых редкие, уникальные, с неизвестным патогенетическим значением. Мутации I-III классов приводят к полной утрате функционального белка CFTR, при мутациях IV-VI классов остаточная проводимость CFTR сохраняется. Тяжесть заболевания определяется сочетанием мутаций в генотипе – наличие хотя бы одной мутации IV-VI характеризуется более мягкой клинической картиной. Метод кишечных органоидов (КО) и форсколиновый тест позволяют персонализировано оценить функцию канала CFTR у больных муковисцидозом при любых мутациях гена и оценить их патогенность. Морфологические признаки КО и набухание при стимуляции форсколином зависят от функции канала CFTR.

По стандартным протоколам были получены стабильные культуры КО от пациентов с генотипами F508del/V1421E, F508del/1083G>A и с.3274T>C/с.3274T>C. Мутации V1421E, 1083G>A являются новыми, в базах CFTR2 и CFTR1 не значатся. Мутация с.3274T>C – редкая, с неизвестным клиническим значением. Мутация F508del – частая «тяжелая» мутации II класса, поэтому остаточная функция белка CFTR, определяемая по ответу на форсколин и морфологическим признакам КО с генотипами F508del/V1421E и F508del/1083G>A будет определяться только патогенностью изучаемых новых мутаций. Обе полученные культуры КО характеризуются редуцированным люменом, что доказывает нарушение активности CFTR. При воздействии форсколина происходит набухание только F508del/V1421E культуры КО, что свидетельствует о наличии остаточной функции белка CFTR. Таким образом, в ходе проведенных исследований было показано что новые мутации 1083G>A и V1421E гена *CFTR* – патогенные; 1083G>A относятся к I-III классам, а V1421E к IV-VI классам. Генетический вариант с.3274T>C не является клинически значимым, поскольку морфологически с.3274T>C/с.3274T>C органоиды не отличаются от КО с нативным каналом CFTR и отвечают набуханием при стимуляции форсколином.

Таким образом, метод КО и форсколиновый тест позволяют оценить патогенность любых мутаций гена CFTR, их клиническую значимость и даже прогнозировать тяжесть течения заболевания у пациентов с муковисцидозом.

*Работа выполнена в рамках Госзадания для ФГБНУ "МГНЦ".*



## СОЗДАНИЕ БЕЛКОВЫХ ПОКРЫТИЙ ИЗ СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА НА ПОВЕРХНОСТИ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ И РАЗРАБОТКА ПОДХОДОВ К ИССЛЕДОВАНИЮ ИХ УСТОЙЧИВОСТИ

**Бычкова А.В.<sup>1</sup>, Лопухова М.В.<sup>1</sup>, Садыкова Э.З.<sup>1</sup>, Костанова Е.А.<sup>1</sup>, Шалупов А.И.<sup>1</sup>,  
Вассерман Л.А.<sup>1</sup>, Абдуллина М.И.<sup>1</sup>, Колотаев А.В.<sup>2</sup>, Хачатрян Д.С.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН "Институт биохимической физики имени Н. М. Эмануэля РАН", г. Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГУП "Институт химических реактивов и особо чистых химических веществ Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»", г. Москва, Россия

*anna.v.bychkova@gmail.com*

В настоящее время магнитные наночастицы (МНЧ) считаются перспективными компонентами систем для адресной доставки лекарственных препаратов, для магнитно-резонансных исследований, для гипертермии, для разделения биологических жидкостей, в том числе, при диагностике различных патологий *in vitro*, и др.

Целями настоящей работы является закрепление на поверхности МНЧ макромолекул белков и адаптация современных приборных физико-химических методов анализа к системам с неоднородной структурой, содержащим частицы различных размеров и состава, вовлекающимся во взаимодействия с биологическими молекулами или другими частицами в различных средах. Исследование этих взаимодействий важно при создании искусственных функциональных систем и при прогнозировании их поведения в биологических жидкостях.

В работе синтезированы частицы с размерами от десятков до сотен нанометров методом соосаждения солей железа (II) и (III) в щелочной среде или частичного восстановления железа (III) до (II) при повышенной температуре в среде этиленгликоля [1]; проведена модификация их сывороточным альбумином с использованием разработанного ранее свободнорадикального подхода [2]; изучено влияние рН и состава буфера на адсорбцию на поверхности частиц белков индивидуально и в составе композиций; проведено термодинамическое описание взаимодействия белков с поверхностью МНЧ в жидких дисперсионных средах; разрабатываются подходы к оценке устойчивости белковых покрытий на основе конкурентных адсорбционных процессов. Исследования выполняются биохимическими и физико-химическими методами, в том числе, методами дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК), динамического светорассеяния, спектрофотометрии УФ/видимой области. Результаты по вытеснению другими белками крови (фибриногеном и иммуноглобулином G) сывороточного альбумина с поверхности наночастиц получены с применением перечисленных методов впервые.

Исследование выполняется при финансовой поддержке РФФ, проект № 18-73-00350. Отдельные работы, связанные с исследованиями конкурентных адсорбционных процессов перечисленными методами, выполняются в рамках государственного задания (тема 0084-2014-0001, № гос. рег. 01201253311, и тема 0084-2014-0005, № гос. рег. 01201253307).

Список литературы:

1. Досовицкий А.Е., Гришечкина Е.В. и др. // Изв. Акад. наук. Сер. Хим., 2016, 3, 704–713.
2. Розенфельд М.А., Бычкова А.В. и др. «Способ получения белковых покрытий на поверхности твердых тел, содержащих ионы металлов переменной валентности», патент РФ на изобретение № 2484178 от 10.06.2013.



## ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ШУНГИТА ДЛЯ ИММОБИЛИЗАЦИИ КЛЕТОК *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS*

**Васильева А.В.<sup>1</sup>, Сидорова Н.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО "Петрозаводский государственный университет", г. Петрозаводск, Россия

*kennard@inbox.ru*

Одним из критериев функциональной активности пробиотических культур в составе пищевых добавок микробного происхождения считается количество жизнеспособных клеток на единицу массы препарата. Для обеспечения пробиотического эффекта ежедневный терапевтический минимум должен составлять не менее  $10^8$  КОЕ на 1 грамм сухого вещества. Для оптимизации жизнедеятельности и биосинтеза вторичных метаболитов лактобактериями используются различные носители. Имобилизованные живые бактерии, образующие биопленку, представляют собой пробиотики 4 поколения. В фармацевтических препаратах наиболее популярные носители – активированный уголь и цеолит.

К основным функциям носителя относят: возможность стимуляции клеток с образованием биопленок как наиболее стабильной формы существования микробного сообщества, обеспечение жизнеспособности бактерий, биосовместимость с тканями макроорганизма. Кроме того, носитель может обеспечивать не только жизнеспособность клеток, но и направлять метаболизм в сторону преимущественного накопления тех или иных продуктов обмена.

В качестве альтернативного способа иммобилизации клеток *Lactobacillus acidophilus* предлагается использовать модифицированные формы шунгитовых пород Онежского месторождения. Твёрдое шунгитовое вещество представляет собой смесь разнообразных углеродных аллотропов, чьи кристаллические решётки соединены аморфным углеродом. Шунгит обладает сорбционными и каталитическими свойствами.

В рамках исследования возможности иммобилизации проведены следующие исследования:

1. Культивирование *Lactobacillus acidophilus* на среде Блаурока в присутствии модифицированного шунгита.
2. Элементный состав клеточного и внеклеточного матрикса лактобацилл в динамике.
3. Изучен аминокислотный спектр иммобилизованных модифицированным шунгитом *Lactobacillus acidophilus*.

Обнаружено, что иммобилизованные на шунгите клетки способны к увеличению скорости роста, метаболической активности и жизнеспособности по сравнению с нативными аналогами.

На основании результатов электронно-микроскопического исследования установлено, что в присутствии модифицированного шунгита морфологические свойства *L. acidophilus* остаются стабильными, но при этом, в условиях субстратного голодания и накопления токсичных продуктов метаболизма меняется направление метаболических реакций. Полученные первичные экспериментальные данные по иммобилизации пробиотических культур рода *Lactobacillus* модифицированным шунгитом позволяют рассматривать его, как перспективный носитель для иммобилизации микробных клеток.



## РАЗРАБОТКА ПРОГРАММЫ ОЦЕНКИ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ПАРАМЕТРОВ РАСТЕНИЙ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИХ АКТИВНОСТЬ ФОТОСИСТЕМЫ

2

**Васильева А.Г.<sup>1,2</sup>, Сивашева Т.Н.<sup>1,2</sup>, Креславский В.Д.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО "Пушкинский государственный естественно-научный институт", г. Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ФИЦ ПНЦБИ Институт биологического приборостроения с опытным производством РАН, г. Пушкино, Россия; <sup>3</sup>ФИЦ ПНЦБИ Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пушкино, Россия

*arkaim1996@yandex.ru*

Известно, что JIP-тест позволяет быстро оценивать влияние различных факторов стресса на фотосинтез растений. Параметры теста являются количественными характеристиками активности фотохимических реакций в электрон-транспортной фотосинтетической цепи, а также характеризуют активность фотосистемы 2 (ФС2). Их значения определяются на основе анализа сигнала флуоресценции хлорофилла *a* исследуемого растения.

В данной работе целью исследований является нахождение связи между изменениями флуоресцентных параметров и степенью развития различных типов стресса на уровне фотосинтетического аппарата исследуемого объекта.

Степень влияния стрессовых воздействий определяется по отклонениям JIP-параметров исследуемого объекта (пшеница, возраст – 8 дней), который находится в состоянии теплового стресса (40-44°C), от контрольных величин до стресса.

Для этого с помощью уникального флуориметра, оснащенного зеленым светодиодом (5 Вт) и фотодиодным датчиком измерялся сигнал быстрой индукции флуоресценции хлорофилла *a* в течение времени от 0 до 1 мс с частотой 10 кГц и далее до 1 с с частотой 1 кГц и передавался в компьютер для последующей обработки. Для адаптированного к темноте (15-20 мин) состояния объекта производилось определение уровней постоянной  $F_0$  и максимальной  $F_m$  флуоресценции в режимах соответственно слабого измерительного света и насыщающего импульса зеленого света (3000 мкмоль квантов  $m^{-2} \cdot c^{-1}$ ).

С целью обеспечения исследователей эффективным инструментом сравнительного анализа большого числа параметров флуоресценции в среде LabVIEW была разработана программа, выполняющая на основе обработки индукционных кривых быстрой флуоресценции расчет JIP-параметров флуоресценции и их графическое представление в виде «паутиной» диаграммы, которая позволяет одновременно визуализировать и оценивать целую группу параметров.

На основе полученных данных были рассчитаны параметры, которые относят к специфическим или феноменологическим, и построена паутиная диаграмма. Анализ диаграммы наглядно показывает, что наиболее сильно при воздействии указанной температуры изменяются параметры  $M_0$ ,  $V_j$  и ABS/RC, что свидетельствует о быстром росте количества закрытых реакционных центров RC, растет скорость их закрытия, при этом уменьшается количество активных RC.



## ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА Cpf1, ВХОДЯЩЕГО В СИСТЕМУ CRISPR/CAS, ИЗ БАКТЕРИИ MORAXELLA BOVIS

**Васиховская В.А.<sup>1</sup>, Романенко М.В.<sup>1</sup>, Нетёсов С.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО "Новосибирский государственный университет", г. Новосибирск, Россия

*vasikhovskaya\_v@mail.ru*

Белок Cpf1 представляет собой адресуемую эндонуклеазу, используемую прокариотами в качестве агента для расщепления инвазивной ДНК, и относится к 5 типу эффекторных белков системы CRISPR/Cas. Получение фермента Cpf1 представляет собой перспективную биотехнологическую задачу, поскольку белки системы CRISPR/Cas используются для таких генно-инженерных манипуляций как редактирование генома по пути гомологичной рекомбинации, нокаут и экспрессия генов, и получение новых белков позволит расширить инструментарий для этих видов работ.

Целью данной работы являлось обнаружение гена, кодирующего фермент Cpf1, в геноме бактерии рода *Moraxella bovis*, с последующим клонированием и экспрессией гена, выделением очищенного препарата белка и тестированием его активности.

В ходе работы был произведен теоретический поиск и выравнивание последовательностей генов *cpf1* в базе данных GenBank среди доступных последовательностей геномов для различных штаммов бактерий рода *Moraxella*, и на основании полученных данных подобраны праймеры для амплификации целевого гена. Методом прогулки по хромосоме, основанном на эффекте супрессии ПЦР, была установлена последовательность начала и конца гена из штамма *Moraxella bovis*, и далее установлена полная нуклеотидная последовательность этого гена. Целевой ген был клонирован по методу гомологичной рекомбинации при помощи системы In-Fusion в составе экспрессирующего вектора pET15b в виде конструкции, содержащей гистидиновый олигопептид на N-конце. При поддержке компании «СибЭнзайм» была осуществлена экспрессия гена *cpf1* и выделение целевого белка.

В ходе тестирования активности полученного очищенного препарата было обнаружено, что гистидиновый вариант фермента Cpf1 проявляет *in vitro* экзонуклеазную активность, причем наибольшая степень конверсии достигается в буферном растворе, содержащем 100 мМ NaCl, а значение pH в диапазоне 7,0–8,5 не оказывает существенного влияния на полноту протекания гидролиза. Также было показано, что наличие в модельной ДНК TTTN в качестве PAM-сайта достаточно для эффективного протекания гидролиза.

Таким образом, был выделен препарат белка Cpf1, обладающий доказанной эндонуклеазной активностью *in vitro*. Узнавание ферментом T-богатого PAM-сайта позволит расширить набор мишеней для геномного редактирования. Дальнейшее изучение свойств препарата и сравнение их с коммерчески доступными препаратами Cpf1 из бактерий *Acidaminococcus* и *Lachnospiraceae* позволит усовершенствовать инструментарий для генно-инженерных манипуляций.



## ПРИМЕНЕНИЕ СИСТЕМЫ ИЗ ЧЕТЫРЁХ ЦИФРОВЫХ МИКРОМАНИПУЛЯТОРОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ ОДИНОЧНЫХ КАРДИОМИОЦИТОВ

**Волжанинов Д.А.<sup>1,2</sup>, Мячина Т.А.<sup>1,2</sup>, Бутова К.А.<sup>1,2</sup>, Хохлова А.Д.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия

*volzhaninovdenis@yandex.ru*

Аналоговые одноосные пьезодвигатели с нанометровой точностью перемещения часто используются для исследований на одиночных клетках сердца (Iribe et al., 2007). Однако их применение требует наличия вспомогательных механизмов (подвижные держатели, малопрецизионные трехосные манипуляторы). Цифровые трехосные микроманипуляторы (ММ) на основе линейных пьезодвигателей, напротив, не требуют вспомогательных механизмов и могут быть легко монтированы на базе действующей экспериментальной установки. Взамен простоты конфигурации установки цифровые трехосные ММ предъявляют высокие требования к синхронности и быстродействию управляющей программы.

Целью данной работы являлось использование системы из четырех цифровых трехосных ММ для прецизионного управления преднагрузкой (растяжением) одиночного кардиомиоцита.

Кардиомиоциты были получены с использованием стандартной методики ретроградной (по Лангендорфу) перфузии изолированного сердца крысы раствором с добавлением коллагенолитического фермента, расщепляющего внеклеточный каркас.

Клетка с левого и правого краев зажималась по типу пинцета двумя парами тонких (10-12 мкм) карбоновых волокон для надежной фиксации (Iribe et al., 2014). В свою очередь, каждое карбоновое волокно в специальном стеклянном держателе крепилось к ММ. В работе использовались цифровые трехосные ММ фирмы «Sensapex» (Финляндия, uMr micromanipulation system), имеющие широкий диапазон позиционирования (20 мм) и нанометровую точность перемещения (5 нм). При помощи оригинального ПО, разработанного в среде LabVIEW, задавалось движение ММ с шагом 5 мкм, что приводило к движению карбоновых волокон и постепенному растяжению клетки (увеличению преднагрузки). Расстояние между карбоновыми волокнами оптически регистрировалось для определения длины кардиомиоцита и расчета силы сокращений клетки.

Разработанный программный комплекс для параллельного управления четырьмя ММ позволил прикладывать широкий диапазон преднагрузок (>5 растяжений) к одиночным кардиомиоцитам. Анализ тестовой программы показал, что задержка во времени старта перемещения каждого ММ составляла единицы микросекунд, что нивелирует возможность неравномерного растяжения кардиомиоцита, приводящего к соскальзыванию карбоновых волокон и повреждению клеточной мембраны.

Система из четырех цифровых трехосных ММ при помощи разработанного ПО может быть использована для исследования сократительной функции кардиомиоцитов при различных значениях преднагрузки.

*Работа поддержана РФФ #18-74-10059.*





## ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТОВ РАСТЕНИЙ *SALVIA TESQUICOLA* KLOK. ET POBED И *S. PRATENSIS* L. (LAMIACEAE)

**Глодик Т.В.<sup>1</sup>, Семькина В.В.<sup>1</sup>, Маслова Е.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО "Белгородский государственный национальный исследовательский университет", г. Белгород, Россия

*gtania98@mail.ru*

В настоящее время поиск новых противомикробных источников растительного происхождения является актуальной проблемой. Представители рода *Salvia* обладают антибактериальными свойствами и произрастают на территории Белгородской области. Противомикробные свойства *Salvia officinalis*, *S. stepposa* хорошо изучены (Галеева и др., 2015; Юткина и др., 2013).

Перед нами стояла задача выявить антимикробную активность экстрактов представителей рода *Salvia*, видов *S. tesquicola* Klok. et Pobed и *S. pratensis* L., а также определить части растений (цветы, листья) обладающие наибольшей антимикробной активностью по отношению к *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*.

Объекты исследования - интактные растения шалфея сухостепного (*Salvia tesquicola* Klok. et Pobed.) и шалфея лугового (*Salvia pratensis* L.).

Антимикробную активность определяли методом диффузии в агар с использованием фильтровальных дисков и прорезанием отверстий в среде, получали суточную культуру *Escherichia coli* (штамм VKPM-M17) и *Staphylococcus aureus* (штамм MDC 5233) на скошенном агаре с использованием среды ГРМ, суспензии микроорганизмов готовили по стандартным методикам (Ginovyuan, 2017). Экстракты получали, используя метод приготовления спиртовых экстрактов и метод его серийных разбавлений (Саакян, 2008).

В результате нами установлено, что оба вида обладают антимикробной активностью, однако она не очень высока согласно общепринятым показателям (Ginovyuan, 2017). По зонам подавления выявлено, что наибольшей антимикробной активностью обладает *S. pratensis* по сравнению с *S. tesquicola*. Обнаружено, что экстракт из цветов *S. pratensis* обладает наибольшей антимикробной активностью к *Staphylococcus aureus* по сравнению с экстрактом из листьев *S. pratensis* и экстрактами из листьев и цветов *S. tesquicola*.

## ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ СВЕТОДИОДНОГО ОСВЕЩЕНИЯ НА ДИНАМИКУ РОСТА И РАЗВИТИЯ *SOLANUM TUBEROSUM* L. В КУЛЬТУРЕ IN VITRO

**Дяченко Я.В.<sup>1</sup>, Маслова Е.В.<sup>1</sup>, Яценко В.М.<sup>1</sup>, Ромаданова Н.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО "Белгородский государственный национальный исследовательский университет", г. Белгород, Россия; <sup>2</sup>РГП "Институт биологии и биотехнологии растений" КН МОН РК, г. Алматы, Казахстан

*yanadyachenko97@mail.ru*

Одной из важнейших сельскохозяйственных культур на территории РФ является картофель. В настоящее время отработаны технологии по получению меристемного безвирусного оздоровленного посадочного материала картофеля в условиях *in vitro* (Токбергенова, 2010; Кушнаренко и др., 2013; Ходаева и др., 2016). Также проведены



исследования по влиянию спектрального состава света монохромных ламп на рост и развитие микрорастений картофеля в условиях *in vitro* (Kimet. al., 2004; Мартиросян и др., 2016; Каримов, 2017). Однако использование современных оптических систем и специального светодиодного освещения с различным по составу спектром позволяет определить наиболее оптимальные параметры, позволяющие достичь эффективного роста и повысить скорость развития растений и продуктивность биомассы в культуре *in vitro*.

Цель исследования - определение эффективного по спектральному составу режима культивирования микрорастений картофеля в условиях *in vitro* по показателям их роста и их развития. Объектом исследования был сорт картофеля Удача.

Культивирование растений проводили на модифицированной питательной среде MS (Murashige, Skoog, 1962) в плоскодонных пробирках в течение 30 дней. Контролем служили люминесцентные лампы. В эксперименте было испытано несколько режимов спектрального состава светодиодного излучения, установленных для каждой полки в отдельности на фитостеллаже X-bright Fito Led (ООО ЭЛСИС БелГУ) с помощью программируемого контроллера: 1 вариант (соотношение в спектре красного, белого и синего) – 57%, 14%, 29%; 2 вариант – 80 %, 0%, 20%; 3 вариант – 70%, 0%, 30%; 4 вариант – 50%, 18%, 32%. Проанализировано более 1000 растений *in vitro*. Анализировали морфометрические и физиологические признаки растений, такие как число образовавшихся корней и их длину, длину и толщину побегов, количество листьев, их ширину и длину, проводили спектрометрические измерения концентрации пигмента хлорофилла по оптической плотности экстракта культивируемых растений *in vitro*.

В результате установлено существенное преимущество выращивания растений на фитостеллажах по сравнению с люминесцентным освещением и подобран наиболее эффективный режим культивирования микрорастений картофеля сорта Удача по спектральному составу (50%, 18%, 32%) светодиодного излучения.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТЕЙ И ПЕРСПЕКТИВ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ: БИОФАБРИКАЦИЯ ПОЛЫХ ОРГАНОВ

**Евстратова Е.С.<sup>1</sup>, Елисеева Ю.И.<sup>1</sup>, Филимонова А.Н.<sup>1</sup>, Шегай П.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр радиологии"

Министерства здравоохранения РФ, г. Обнинск, Россия

*ekevs7240@mail.ru*

Недавние достижения в области регенеративной медицины свидетельствуют о том, что существует возможность реальных альтернатив трансплантации донорских органов. Тканевая инженерия может обеспечить замену всего органа или восстановление функции в определенной области. Используемые биоматериалы создают трехмерное пространство, в котором клетки могут прикрепляться, расти и формировать новые ткани с соответствующей структурой и функцией. Современными учеными уделяется особое внимание выбору материала и методик для обеспечения механических и физиологических свойств заново созданной ткани. Мы рассмотрели результаты современных исследований в области регенеративной медицины по созданию полых органов, которые смогут стать заменой донорским органам.

Изучение взаимодействий между клетками в организме привели к пониманию процессов роста и дифференцировки тканей. Исследователи комбинируют искусственно полученные материалы с концепциями клеточной биологии, создавая новое поле



исследований. Различные дисциплины и направления исследований в области тканевой инженерии объединяет единая концепция – регенерация живых тканей и органов.

В настоящее время исследования в области регенеративной медицины проводятся практически для каждого типа ткани и органа в организме человека. Основные направления регенеративной медицины включают в себя тканевую инженерию, клеточную биологию и материаловедение. Необходим очень разноплановый персонал, освоивший методы забора клеток у пациента, культивирования, трансплантации, а также дизайн полимера, для успешного применения этих технологий и использования их в улучшении человеческой жизни. Недавний прогресс свидетельствует о том, что искусственные ткани могут иметь расширенную клиническую применимость в будущем и могут представлять собой жизнеспособный терапевтический вариант для тех, кто нуждается в замене тканей и органов.

Из-за некоторых ограничений, таких как неоднозначное решение этических проблем, биоинженерные органы до сих пор не готовы к активному внедрению в клиническую практику. Тем не менее, уже существует множество возможностей применения нынешнего поколения биоинженерных органов: изучение физиологии органов и тканей, матричная биология, биология развития и исследования дифференцировки стволовых клеток. Это, безусловно, усилит исследовательский потенциал современных ученых и позволит ответить на сложные вопросы по новым направлениям.

## ОРГАНЫ-НА-ЧИПЕ КАК АЛЬТЕРНАТИВА ТРАДИЦИОННЫМ МОДЕЛЯМ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР И ЖИВОТНЫХ

**Елисеева Ю.И.<sup>1</sup>, Шегай П.В.<sup>1</sup>, Евстратова Е.С.<sup>1</sup>, Филимонова А.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр радиологии"  
Министерства здравоохранения РФ, г. Обнинск, Россия

*julia.eliseeva@mail.ru*

Для изучения механизмов возникновения различных заболеваний, для разработки и тестирования лекарственных препаратов необходима удобная и современная модельная система. Существующие стандартные модели клеточных культур слишком примитивны и не позволяют рассмотреть все особенности человеческого организма и появление возможных побочных реакций, а модели животных не являются достаточно достоверными при экстраполяции полученных результатов на человека. Потенциально такой платформой для экспериментов могут стать органы-на-чипе, представляющие собой микрофлюидные устройства, способные физиологически релевантно имитировать различные органы и ткани человека.

С помощью органов-на-чипах могут быть сделаны точные предсказания эффективных и токсических концентраций лекарств. Кроме того, они позволяют проводить тестирование комбинаций соединений в различных концентрациях, благодаря их параллельной работе.

Несмотря на все преимущества моделей органов-на-чипе они еще имеют ряд недостатков, которые необходимо преодолеть перед их широкомасштабным применением и заменой стандартных методов исследований. Но после дальнейшей оптимизации и стандартизации, они смогут быть включены в процесс разработки лекарств.

Модели органов-на-чипе, сопряженные с биопринтерами, расширяют область применения данных систем и могут стать ключевым шагом к созданию автоматизированных систем для высокопроизводительного скрининга лекарств.



В будущем технологии органов-на-чипе могут использоваться для улучшения промышленного развития и персонализированной медицины, а также найти свое применение в биотехнологических, фармацевтических, косметических и химических компаниях.

В данной работе рассмотрены некоторые уже созданные органы-на-чипе – почки, сердца, кожи, мозга, легких, печени, кишечника, глаза, плаценты и костного мозга. А также – микрофлюидные устройства опухолей-на-чипе, позволяющие лучше изучить механизмы возникновения онкологических заболеваний, а также применить персонализированное лечение пациентов, используя их собственные клетки и ткани в болезнях.

Кроме того, уделено внимание разработке организма-на-чипе, позволяющего проводить более точные исследования нормального и патологического состояния органов, взаимодействий между ними, и предсказывать возможные побочные эффекты от терапии на соседние органы и ткани. Данная система имеет высокий потенциал, чтобы заменить традиционные модели клеточных культур и животных и стать удобной альтернативой для использования учеными повсеместно.

Более того, проанализирована ситуация с разработкой и применением устройств органов-на-чипе в мире и в России.

## ИЗУЧЕНИЕ МОРФОГЕННО-РЕГЕНЕРАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА ПРОСА ПРУТЬЕВИДНОГО В КУЛЬТУРЕ IN VITRO

**Жумабек А.Т.<sup>1</sup>, Рахимжанова А.О.<sup>1</sup>, Беккужина С.С.<sup>1</sup>, Манабаева Ш.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>РГП на ПХВ "Национальный центр биотехнологии" КН МОН РК, г. Астана, Казахстан

*manabayeva@biocenter.kz*

В последние десятилетия в мире наблюдается рост цен на ископаемое (невозобновляемое) топливо, что связано с уменьшением его запасов, увеличением затрат на добычу и ростом потребления энергии. Вырабатывая топливо из фитомассы многолетних культур, можно уменьшить негативное влияние энергетической отрасли на окружающую среду. Для решения этой проблемы практический интерес представляет просо прутьевидное (*Panicum virgatum* L.), которое имеет низкую себестоимость и высокую производительность фитомассы при многолетнем цикле использования.

В данной работе планируется получение растений проса с низким содержанием лигнина. Для модификации генома растений проса, во-первых, был изучен морфогенно-регенерационный потенциал в культуре *in vitro*; во-вторых, создан экспрессионный вектор, с целевым геном, кодирующий транскрипционный фактор MYB4 для изменения количественного содержания лигнина в растениях проса. Семена сортов проса Pathfinder, Forestburg, Trailblazer и Shawnee были введены в культуру. Был отработан протокол стерилизации, который обеспечил 100% выход стерильных жизнеспособных эксплантов. Для изучения каллусогенеза в культуре *in vitro*, стерильные экспланты проса культивировались на модифицированной питательной среде Мурасиге и Скуга (МС) (рН=5,8), содержащей регуляторы роста 2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту (2,4-Д) и 6-бензиламинопуридин (БАП) в различных концентрациях. В качестве дополнительного источника азота в состав среды добавили аминокислоты L-пролин (500 мг/л) и гидролизат казеина (300 мг/л). В результате эксперимента выявлено, что 2,4-Д и БАП, в концентрации 3,0 мг/л и 0,2 мг/л соответственно, положительно влияет на каллусогенез семян



изучаемых сортов, который составил 54% - Pathfinder, 70% - Shawnee, 69% - Trailblazer и 94% - Forestburg. Дальнейший пассаж каллусов на питательную среду МС (рН=5,8), содержащей 2 г/л L-пролина, 30 г/л мальтозы, 3 мг/л 2,4-Д и 1 мг/л БАП привело к 100% индукции эмбриоидогенного каллуса для всех сортов *P. virgatum*. Морфогенные, компактные каллусы типа II с хлорофилл-содержащими зонами были пересажены на питательную среду МС (рН=5,8) содержащей 2 мг/л БАП, 1 мг/л 3-индолилуксусной кислоты, 1 мг/л кинетина, 1 мг/л 1-нафталинуксусной кислоты и 500 мг/л L-пролина для регенерации. Наиболее высокий выход регенерантов был достигнут у сорта Shawnee на питательной среде без ауксинов, содержащей 2 мг/л БАП и 1 мг/л кинетина с добавлением в среду 1 мг/л гиббереллиновой кислоты.

## РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ МИКРОКЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ И ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ КОК-САГЫЗА (*TARAXACUM KOK-SAGHYZ RODIN*)

**Иванова А.С.<sup>1</sup>, Вербицкая А.А.<sup>2</sup>, Гапоненко А.К.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО "Российский университет Дружбы Народов", г. Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, г. Москва, Россия

*anna.ivanova1995@gmail.com*

В связи с необходимостью импортозамещения натурального каучука (НК) из гевей бразильской (*H. brasiliensis*) необходим поиск и организация производства НК из растительных каучуконосов, выращенных в климатических условиях средней полосы Российской Федерации. Перспективным для возделывания в средней полосе РФ оказался Кок-сагыз (*T. kok-saghyz* Rodin). Содержание каучука в кок-сагызе составляет 7-21% на сухой вес, и выход НК составлял 100-500 кг/га по сравнению с гевеей 500–1500 кг/га. Соответственно, большое значение имеет разработка протоколов генетической трансформации для метаболическо-инженерного увеличения НК в кок-сагызе.

Для 6 популяций кок-сагыза была разработана эффективная система регенерации растений *in vitro* из различных эксплантов, для генетической трансформации. В настоящем исследовании мы показали, что сегменты корней и листьев могут регенерировать в фертильные растения на среде Мурасиге и Скуга с добавлением регуляторов роста.

Из корневых эксплантов на среде МС, с 6-БАП (1 мг/л) и ИУК (0,2 мг/л) формировались эмбриониды и побеги с частотой 69% и 128,2% соответственно. На среде MS, 6-БАП 1мг/л наблюдалась регенерация и образование морфогенного каллуса с частотой 80% и 166,5%. Из листовых пластин, помещенных на средуМС, 6-БАП 1мг/л, ИУК 0,2мг/л, образовывался каллус. После того как сегменты корня инокулировали линией AGL1 *A. tumefaciens*, содержащей селективный ген *hph*, устойчивости к гигромицину В и маркерный ген *uidA*, кодирующий β-глюкуронидазу. Предполагаемые трансгенные проростки полученные в течение 3-7 недель, были устойчивы к гигромицину и экспрессировали маркерный ген *uidA*. Для регенерации и трансформации использовали сегменты корней порядка 1 мм.

Разработаны методы регенерации, и трансформации кок-сагыза являются простой системой для получения жизнеспособных трансгенных растений за срок 10-15 недель. Протокол, разработанный нами, позволяет улучшать продуктивность НК кок-сагыза, методами генной инженерии.



## ОПТИМИЗАЦИЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОПЕСТИЦИДОВ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИЙ РОДА BACILLUS

**Козицын А.Е.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский институт биологической защиты растений", г. Краснодар, Россия

*KozicinAlexander@gmail.com*

Средства защиты растений (СЗР) на основе биоагентов имеют ряд преимуществ по отношению к химическим средствам. Биологические СЗР не приводят к ухудшению экологической обстановки и снижению плодородия почвы, существенно снижают срок ожидания. В настоящее время увеличивается актуальность выращивания сельскохозяйственной продукции под маркой «органик», где применяются исключительно биологические СЗР и органические удобрения. Для улучшения качества биопестицидов и повышения конкурентных преимуществ требуется оптимизация технологий их получения, направленная на повышение эффективности применения биопрепаратов и улучшение экономических характеристик. О необходимости оптимизации условий получения биопестицидов говорит большое количество коммерческих препаратов, не отвечающих международным требованиям для микробиологических биопрепаратов, применяемых в сельском хозяйстве.

В данной работе ставилась цель – оптимизировать режимы аэрации и поддержания температуры в процессе культивирования, а так же определить оптимальное средство пеногашения, совместимое с исследуемыми штаммами.

Неконтролируемое выделение пены ведёт к нарушению регламента производства и стерильности биотехнологических процессов, загрязнению окружающей среды. Сравнивались наиболее часто используемые средства пеногашения, отвечающие технологическим требованиям и международным разрешающим документам («Стандарты FDA и ISO). Параметр аэрации измерялся в м<sup>3</sup>/ч атмосферного воздуха, проходящего через емкость биореактора. Степень пропускания воздуха через питательную среду поддерживалась на установленном уровне, в пределах от 0,2-0,8 м<sup>3</sup>/ч.

Для оценки качества препарата использовали стандартные методы оценки численности жизнеспособных клеток. Антибиотическую активность исследуемых штаммов оценивали методом биоавтограмм с авторскими дополнениями.

Определен общий для штаммов-продуцентов BZR 336g и BZR 517 химический пеногаситель на основе полидиметилсилоксана и блоксополимера на основе этиленоксида и пропиленоксида. Данный пеногаситель, проявил высокую активность пеногашения в условиях биореакторов BTC EDF-100.1 и BTC VRE 150.1. Определена оптимальная интенсивность аэрации атмосферным воздухом бактериальной культуры в процессе культивирования. Для культуры штамма *B. subtilis* BZR 336g и BZR 517 наиболее оптимальный расход проходящего через биореактор воздуха составил 0,6 м/ч, при этом расходе было зафиксировано как наибольшее количество жизнеспособных клеток, так и наибольшая антифунгальная активность.



АГРОБАКТЕРИАЛЬНАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ РЯСКИ МАЛОЙ (LEMNA MINOR)  
ГЕНОМ ГИРУДИНА ВАР. 1

**Козлов О.Н.<sup>1</sup>, Митюшкина Т.Ю.<sup>1</sup>, Тарасенко И.В.<sup>1</sup>, Шалойко Л.А.<sup>1</sup>, Фирсов А.П.<sup>1</sup>,  
Долгов С.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Филиал ФГБУН Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и  
Ю.А. Овчинникова РАН, г. Пущино, Россия

*oleg632@yandex.ru*

Гирудин - антикоагулянт прямого быстрого действия, выделенный из слюнных желез пиявок. Гирудин ингибирует тромбин, тем самым предотвращает свертывание крови. В связи с этим препараты гирудина используются в медицине в качестве противотромботического средства. Рекомбинантный гирудин в настоящее время производится с использованием экспрессионных систем на основе клеток дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Определенные усилия были предприняты для разработки экспрессионных систем на основе других продуцентов - бактерий, метилотрофных дрожжей, нитчатых грибов, трансгенных мышей. Однако, эти исследования пока не получили дальнейшего развития, главным образом из-за низкого выхода рекомбинантного гирудина или его невысокой активности. Более перспективным представляется получение рекомбинантного гирудина с использованием растительных экспрессионных платформ.

Целью данного исследования являлась экспрессия рекомбинантного гирудина в растениях ряски малой (*Lemna minor*) и анализ его накопления в трансгенных растениях. Ряска малая представляет собой маленькое водное растение, характеризующееся высокой скоростью роста и высоким содержанием белка. Рясковые могут выращиваться в полностью изолированных условиях (в культиваторах), что исключает попадание рекомбинантной ДНК в окружающую среду. Уникальной особенностью рясковых является их способность к секреции рекомбинантных протеинов в среду культивирования, что позволяет упростить методику последующей очистки целевых белков. Эти особенности делают ряску перспективным объектом для биофарминга.

Нами проведена агробактериальная трансформация растений ряски малой нуклеотидной последовательностью гена гирудина-1, оптимизированной для экспрессии в рясковых. Интеграция целевого гена в геном растений подтверждена методом ПЦР. В результате трансформации получено 9 трансгенных линий ряски, трансформированных целевым геном, Транскрипция гена гирудина-1 подтверждена с использованием ОТ-ПЦР. Методом ИФА показано, что накопление рекомбинантного гирудина в трансгенных линиях варьировало от 0,01 до 0,02% от общего объема белка. Полученные результаты будут использованы в дальнейших исследованиях по разработке экспрессионной системы на основе растений ряски для получения гирудина и других рекомбинантных белков фармацевтического назначения.



## СОЗДАНИЕ УНИВЕРСАЛЬНОЙ РЕЦИПИЕНТНОЙ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ САЙТ-СПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕКОМБИНАЦИИ

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

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО "Пушкинский государственный естественно-научный институт", г. Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ЗАО ВЮСАД, пос. Любучаны, Россия

*kozlovaes@biocad.ru*

Методы клеточной инженерии нашли свое применение в различных областях в качестве моделей при испытании новых фармакологических препаратов. Часто в таких экспериментах используют стабильные генетически модифицированные клеточные линии. Создание таких линий обычно основывается на случайной интеграции гена интереса в клеточный геном. Клетки, полученные таким образом, между собой имеют высокую гетерогенность по уровню экспрессии целевого гена.

Для того, чтобы избежать случайного внедрения генетических конструкций в геном клеточных линий, применяются различные подходы для сайт-направленной интеграции. В настоящее время широко применяются системы, основанные на сайт-специфической рекомбинации, что позволяет внедрять целевую конструкцию в строго определенное место в геноме, таким образом все клетки в получаемом пуле имеют одинаковый генотип и, как следствие, схожий уровень экспрессии целевых генов.

Целью данной работы является создание универсальной реципиентной клеточной линии для таргетного внедрения генетических конструкций с использованием Flp/FRT системы сайт-специфической рекомбинации. Для нашего исследования были выбраны клетки НЕК293, которые являются распространенной клеточной моделью для функциональных исследований фармакологических препаратов.

Для достижения цели мы создали модельную генетическую конструкцию, содержащую между двумя сонаправленными FRT сайтами гены, кодирующие рецепторный белок 4-1BB, зеленый флуоресцентный белок GFP под NF-κB-зависимым промотором и селективный ген антибиотикорезистентности с промотором, находящимся вне кассеты, фланкированной FRT сайтами. Клеточная линия НЕК293 была трансфицирована созданной генетической конструкцией, селектирована на антибиотике, полученный пул клеток клонирован. С помощью проточной цитофлюориметрии клоны были охарактеризованы по представленности рецептора на поверхности клеток, и подтверждена корректная работа репортерной части генетической конструкции. Наличие целевой конструкции в геноме выбранных клонов подтверждали методом ПЦР, копияемость вставки определяли методом ПЦР в реальном времени.

Следующим этапом являлась рекомбинация двух FRT сайтов с помощью транзientной экспрессии Flp рекомбиназы, что приводит к вырезанию из клеточного генома кассеты между FRT сайтами и сохранению в геноме одного FRT сайта ("посадочная площадка", landing pad) для будущих интеграций. Удаление целевой конструкции подтверждали методом ПЦР.

На заключительном этапе эксперимента нам предстоит провести апробацию методики ускоренного получения новой репортерной клеточной линии с использованием "посадочной площадки" в геноме.





## ГЕН MEDICAGO TRUNCATULA MTWOX9-1 В СОМАТИЧЕСКОМ ЭМБРИОГЕНЕЗЕ

**Красноперова Е.Ю.<sup>1</sup>, Творогова В.Е.<sup>1</sup>, Лутова Л.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург, Россия

*liza\_krasnoperova99@mail.ru*

Соматический эмбриогенез - способ регенерации растений, при котором зародыш развивается из вегетативных тканей растения. Соматический эмбриогенез широко используется в биотехнологии для трансформации растений.

В ходе этого процесса задействуются те же гены, что и при развитии растения из зародыша, полученного генеративным путём. Одним из таких генов является *MtWOX9-1* *Medicago truncatula*, кодирующий транскрипционный фактор с гомеодоменом. Цель исследования - изучение взаимодействия продуктов этого гена с другими генами, участвующими в соматическом эмбриогенезе.

Зная, что экспрессию генов семейства *WOX* могут регулировать пептидные гормоны из семейства *CLE* и эта регуляция часто является взаимной, мы предположили, что гены *CLE*, в частности *MtCLE16* и *MtCLE18*, могут также являться мишенями транскрипционного фактора *MtWOX9-1*. Для проверки этой гипотезы мы используем метод EMSA.

Для уточнения полученных данных мы будем использовать метод ChIP, позволяющий напрямую выявить в геномной ДНК места связывания *MtWOX9-1*.

## ОЦЕНКА МИКРОБНОГО СОСТАВА КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ С ПОМОЩЬЮ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

**Курина И.О.<sup>1</sup>, Тяхт А.В.<sup>1</sup>, Клименко Н.С.<sup>1</sup>, Демиденко А.В.<sup>1</sup>, Гачковская А.М.<sup>1</sup>, Бережная Ю.А.<sup>2</sup>, Алексеев Д.Г.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ООО "Кномикс", г. Москва, Россия; <sup>2</sup>PepsiCo R&D, г. Москва, Россия

*kurina@atlas.ru*

Микробные сообщества ферментированных продуктов играют важную роль в консервации и формировании органолептических свойств. Важным направлением разработки функционального питания является обогащение продуктов пробиотическими бактериями. Поддержание концентрации и жизнеспособности пробиотиков в продуктах при производстве и в течение срока годности имеет первостепенное значение. Разработка новых подходов к подсчету микробов в продуктах и их внедрение в производство представляет интерес для пищевой промышленности. Стабильность пробиотиков имеет важное значение для корректной оценки пользы приема продукта для здоровья человека, в частности, для баланса кишечной микробиоты. Сравнение методов для квантификации микробных видов в продуктах питания - актуальная задача.

Мы оптимизировали экспериментальные протоколы для профилирования микробиоты продуктов и использовали их для анализа уровня пробиотиков *Lactobacillus casei* и *Lactobacillus rhamnosus* в кисломолочных продуктах. Культивирование проводилось на средах MRS-агар, Rogosa и M-RTL. Были протестированы различные методы выделения ДНК - как коммерческие наборы, так и



собственные протоколы. Была разработана и оптимизирована ПЦР-панель в режиме реального времени для детекции обеих целевых лактобактерий. Подсчет жизнеспособных клеток проводили с использованием модифицированной qPCR с применением пропидия моноазида.

Параллельное культивирование на средах MRS-агар и Rogosa позволило выявить разницу в селективности этих сред: Rogosa более селективна по отношению к пробиотическим лактобактериям, в том числе к *L. casei*, *L. rhamnosus* и *L. acidophilus*. Предпочтительным методом выделения ДНК был метод с использованием SDS и СТАВ, так как эти реагенты позволяют избавиться от полисахаридов, содержащихся в молочных продуктах. Уровни представленности пробиотиков, полученные по qPCR с SYBR Green, сильно коррелируют с количеством КОЕ, однако метод qPCR более быстрый и позволяет различать виды пробиотиков. Значения КОЕ в течение срока годности соответствовало значениям, заявленным производителем. Согласно результатам qPCR, количество каждого из целевых видов также оставалось на высоком уровне в течение срока годности. Результаты РМА-qPCR показали, что большинство микроорганизмов жизнеспособны.

Результаты показывают, что таксоноспецифичные ПЦР-тесты полезны для промышленного применения на стадии контроля качества и оптимизации рецептур в пищевой промышленности.

#### ПРИМЕНЕНИЕ АППАРАТНО-ПРОГРАММНЫХ СРЕДСТВ ARDUINO ДЛЯ ПОСТРОЕНИЯ ПРОСТЫХ ИЗМЕРИТЕЛЬНЫХ ПРИБОРОВ В ЭКСПЕРИМЕНТАХ С МИКРОБНЫМИ ТОПЛИВНЫМИ ЭЛЕМЕНТАМИ (МТЭ)

**Лазукин А.А.<sup>1</sup>, Волченко Н.Н.<sup>1</sup>, Самков А.А.<sup>1</sup>, Архипова А.С.<sup>2</sup>, Худокормов А.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет», г. Краснодар, Россия;

<sup>2</sup>Образовательный центр «Сириус» (Образовательный Фонд «Талант и Успех»), г. Сочи, Россия

*lazukin1996@mail.ru*

В настоящее время в биологических, химических, физических исследованиях все большее применение находит измерительная аппаратура, позволяющая выводить данные опытов на компьютер в реальном времени. Как правило, такое оборудование является достаточно дорогим, что ограничивает его широкое использование, например для студенческих исследовательских работ. Выходом можно считать использование простых схем-конструкторов на базе микроконтроллеров, а также различных периферийных устройств и датчиков. Это позволяет создавать измерительную аппаратуру с большим спектром применения, включающим измерения напряжения, температуры, рН, концентрации CO<sub>2</sub> и т.д. Одним из актуальных объектов исследования являются биоэлектрохимические системы (БЭС), в том числе микробные топливные элементы (МТЭ). Для оценки эффективности данных биотехнологических устройств важна возможность непрерывного мониторинга электрогенеза, что затруднено в случае ручных измерений обычными вольтметрами, амперметрами. В рамках данной работы апробировано использование новых измерительных методик в реальном времени, связанных с изучением электрогенной активности микробных топливных элементов авторской разработки, созданных и исследованных в Кубанском государственном университете.



В качестве измерительных устройств применялись сборки на основе Arduino Nano v. 3.0. Устройства включали сам микроконтроллер, модуль для карты памяти SD и программные средства. Для визуализации данных, получаемых посредством микроконтроллера, использовался макрос для Excel «PLX-SAQ». Данные об измерении направлялись в реальном времени и дублировались на SD карту.

В проведенных экспериментах были осуществлены замеры электрогенеза МТЭ как в режиме быстрого отклика (десятки минут), так и долговременных экспериментов (десятки суток). Помимо лабораторных систем, были собраны автономные устройства с питанием от аккумуляторных батарей и конструктивным оформлением в гермоконтейнеры для сбора данных в полевых условиях. Данные устройства апробированы при измерениях в пресноводных озёрах г. Краснодара и Сочи, а также в Нижнеимеретинской бухте прибрежной зоны Черного моря.

Таким образом, применение Arduino существенно упрощает процесс длительного автоматизированного получения данных от БЭС в лабораторных и полевых экспериментах, что дает возможность проводить измерения с новыми количественными характеристиками в части объема и дискретности данных, которые невозможно получить традиционными методами.

## РАЗРАБОТКА ТКАНЕИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ НА ОСНОВЕ АМНИОТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ЭПИТЕЛИЯ РОГОВИЦЫ

**Машель Т.В.<sup>1</sup>, Александрова О.И.<sup>2</sup>, Гаврилюк И.О.<sup>3</sup>, Блинова М.И.<sup>2</sup>**

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

<sup>3</sup>ФГБВОУ ВО "Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова" МО РФ, г. Санкт-Петербург, Россия

*t.mashel@ya.ru*

Одним из неразрешённых вопросов в современной офтальмологии остаётся поиск оптимальных методов лечения заболеваний, сопровождающихся синдромом лимбальной недостаточности (СЛН), который возникает при прекращении образования эпителиальных клеток роговицы, приводя к хроническим воспалениям роговицы, рецидивирующим эрозиям с нарастанием на нее конъюнктивального эпителия, помутнению и васкуляризации роговичной стромы и формированию на роговице фиброваскулярного паннуса с прогрессирующим понижением остроты зрения.

В настоящий момент наиболее используемым методом терапии СЛН является ауто- и аллолимбальная трансплантация, имеющая ряд недостатков из-за сложности получения или возможности отторжения донорского материала. В связи с этим в современной литературе в качестве наиболее оптимального метода рассматривается трансплантация тканеинженерных конструкций (ТИК), представляющих собой культивируемые на различных носителях стволовые клетки (СК).

В качестве подобной матрицы для культивирования клеток может быть использована амниотическая мембрана (АМ). Она применялась в ряде исследований для культивирования эпителиальных СК, выступая в качестве базальной мембраны и способствуя прикреплению и миграции клеток, с последующим применением данной ТИК в лечении тяжелой патологии поверхности глаза, протекающей с СЛН. Однако исследования показывают, что использование необработанной нативной АМ для этих



целей не приводит к образованию на ней плотного клеточного монослоя, желательного при данном методе терапии.

Целью настоящего исследования являлась разработка методики хранения и предподготовки АМ, позволяющей создать подходящие условия для успешного культивирования на ней клеток. Использовались такие варианты хранения как гипотермическое в растворах антибиотиков при +4°C (нативная) и замораживание в криосреде при -80°C. Так же был рассмотрен способ децеллюризации ферментативным способом. В качестве клеточного компонента ТИК были использованы фибробласты (ФБ) дермы человека, СК лимба и полости рта кролика и человека.

По итогам проделанной работы в качестве оптимальной методики предподготовки АМ для использования ее в ТИК была определена криоконсервация при -80°C и ферментативная децеллюризация, что способствует успешному длительному культивированию клеток с последующим формированием на ней плотного монослоя.

## ВЫДЕЛЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНЫХ ПРОДУЦЕНТОВ БИОЦЕЛЛЮЛОЗЫ

**Нагметова Г.Ж.<sup>1,2</sup>, Курманбаев А.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>РГП на ПХВ "Национальный центр биотехнологии" КН МОН РК, г. Астана, Казахстан;

<sup>2</sup>РГП на ПХВ "Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева" МОН РК, г. Астана, Казахстан

*gulden30-04@mail.ru*

Бактериальная целлюлоза представляет собой нерастворимый в воде внеклеточный полисахарид с простой структурой, продуцируемый уксуснокислыми бактериями. Биоцеллюлоза обладает многими превосходными физико-химическими свойствами по сравнению с растительной целлюлозой, такими как высокая чистота, ультратонкая сетчатая структура, высокая кристалличность, высокая механическая прочность, высокая влагопоглощающая и влагоудерживающая способность и хорошая биосовместимость и биоразлагаемость. Благодаря этим свойствам биоцеллюлоза широко используется в бумажной и пищевой промышленности, медицине, экологии, косметологии, биомедицинской инженерии и получении новых нанокompозитов.

Целью нашей работы было выделение и изучение продуцентов биоцеллюлозы. Нами было выделено 3 штамма бактерий из чайного гриба и гниющих ягод винограда, способных продуцировать биоцеллюлозу на простых питательных средах с углеводами.

Идентификация бактерий методом определения прямой нуклеотидной последовательности фрагмента 16S rRNA показало их принадлежность к роду *Komagataeibacter* sp.

Определено, что исследуемые культуры представлены грамтрицательными палочками. Колонии округлой формы, сухие по консистенции, бежевого и белого цвета. Размеры колоний у культур GH1 и GH2 - 0,5-2 мм, у GV1 – 2-5 мм. Культуры обладают схожими биохимическими свойствами: каталазоположительные, уреазо- и оксидазоотрицательные, обладают свойством кислотообразования, индол и сероводород не образуют, не разжижают желатин и не обладают свойством газообразования.

Оценка влияния pH на продукцию биоцеллюлозы показала, что культуры образуют пленку в диапазоне pH от 4.0 до 6.0. Сухая масса биоцеллюлозы у отобранных культур при культивировании на среде HS (Хэстрин-Шрамма) составила: GH1 - 5,05 г/л; GH2 - 5,86 г/л и GV1 - 1,16 г/л.



Биоцеллюлоза, продуцируемая исследуемыми штаммами микроорганизмов, может быть рекомендована для разработки новых биотехнологических препаратов для медицины, косметики, пищевой промышленности и др.

*Данная работа ведется в рамках грантового проекта № AP05132472 Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан.*

## РАЗРАБОТКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО БИОРЕАКТОРА ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ ПРОЦЕССОВ БИОТРАНСФОРМАЦИИ ВОДОРОДА В МЕТАН ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ТРЁХ РАЗЛИЧНЫХ КОНСТРУКЦИЙ БИОРЕАКТОРОВ

**Нечаева А.И.<sup>1</sup>, Бояршин К.С.<sup>1,2</sup>, Сенченков В.Ю.<sup>1</sup>, Мердинг М.<sup>2</sup>, Ламмерс Г.<sup>2</sup>, Батлуцкая И.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород, Россия; <sup>2</sup>Университет прикладных наук Ханзе (Hanze University of Applied Sciences), г. Гронинген, Нидерланды

*nechayeva@list.ru*

Производство биогаза имеет значение не только для переработки органических отходов, но и для запасания энергии, генерируемой нестабильными источниками, применяемыми в альтернативной энергетике, такими как ветрогенераторы и солнечные батареи.

Количество электроэнергии, получаемой из нерегулярных источников, варьирует в зависимости от погодных условий. При максимальной выработке энергии имеет смысл запастись её для использования в другое время. Одним из способов запасания электрической энергии является электролиз воды с получением водорода. При этом хранение водорода сопряжено с большим количеством проблем, включая высокую способность водорода к диффузии, его химическую активность и взрывоопасность. По этой причине поставлен вопрос об использовании водорода для биосинтеза метана, как более удобного для хранения горючего газа.

Для производства биометана используются микроорганизмы царства археи двух различных групп – ацетокластики разлагают уксусную кислоту до метана и углекислого газа, а гидрогенотрофы синтезируют метан из углекислоты и молекулярного водорода. Для промышленного применения гидрогенотрофной микрофлоры предлагается использование биореакторов по меньшей мере трёх различных конструкций – с пузырьковой колонной, с неподвижным слоем и со струйным течением. Нашей задачей была разработка концептуального эскиза экспериментального биореактора, способного функционировать в трёх различных режимах, позволяя моделировать процессы, протекающие при использовании этих трёх типов конструкции.

Разрабатываемый реактор представляет собой цилиндрическую ёмкость с жидкостной рубашкой для поддержания температуры, с врезанными патрубками для подвода растворов и газов и их последующего отведения. В полости реактора располагаются форсунка для распыления жидкостей, барботёр для подачи газов, а также сетчатый рассекатель для более равномерного распределения пузырьков газа по её объёму. Смена режимов обеспечивается внесением гранул для сорбции микроорганизмов, изменением скорости поступления углекислого газа, подключением либо отключением гидрогенизатора. Разработанная система вентиляей позволяет проводить переключение между режимами без изменения общей архитектуры системы.



## РЕГУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА ПОЛИАМИНОВ В ШТАММАХ *ACREMONIUM CHRYSOGENUM* РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

**Нурева Г.К.<sup>1</sup>, Хомутов М.А.<sup>2</sup>, Жгун А.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФИЦ Биотехнологии РАН, г. Москва, Россия.; <sup>2</sup>ФГБУН Институт молекулярной биологии имени В. А. Энгельгардта РАН, г. Москва, Россия

*nuraevagulgina@mail.ru*

Отдельные виды мицелиальных грибов в ответ на различные внешние воздействия способны продуцировать более сотни вторичных метаболитов (ВМ), некоторые из которых имеют фармакологическое значение, например, антибиотики, статины, иммунодепрессанты. На протяжении последних 70-ти лет методами случайного мутагенеза создали целый ряд грибных промышленных продуцентов, у которых выход целевых ВМ увеличен в сотни и более раз. При этом для многих продуцентов достигнут некий технологический предел улучшения; дальнейшие манипуляции со случайным мутагенезом не приводят к дальнейшему увеличению продукции ценного вещества. Известно, что метаболизм полиаминов может быть взаимосвязан с биосинтезом вторичных метаболитов у мицелиальных грибов. Также ранее показано, что добавление 5 мМ спермидина может повышать продукцию цефалоспорина С у высокоактивного штамма *Acremonium chrysogenum* на 10-15% (Жгун А.А. и др., Изв. вузов. Прикл. химия и биотех., 2015).

Объектами нашего исследования явились штаммы *A. chrysogenum* дикого типа (АТСС 11550) и полученный на его основе в результате многораундового случайного мутагенеза и селекции высокоактивный продуцент цефС (ВКМ F4081D). Методом разведения капель в агаре продемонстрировали, что ингибитор первого этапа биосинтеза полиаминов,  $\alpha$ -дифторметилорнитин (DFMO), в диапазоне концентраций 1–5 мМ оказывает значительно более выраженное токсическое воздействие на штамм дикого типа, чем на высокоактивный штамм. Токсический эффект снимается добавлением 5 мМ спермидина, но не 1,3-диаминопропана. Такой же разностный эффект был продемонстрирован при воздействии 2,5 мМ 1-аминокси-3-аминопропаном (АРА). DFMO и АРА являются ингибиторами орнитиндекарбоксилазы (ODC), фермента основного пути для биосинтеза путресцина из L-орнитина. Значительно меньшее воздействие ингибиторов ODC на штамм ВКМ F4081D может свидетельствовать о меньшей активности этого фермента, чем в штамме дикого типа. В грибах существует также альтернативный путь биосинтеза путресцина, через агматин. Для выявления вклада этого пути в биосинтез полиаминов у исходного и высокоактивного штаммов проводятся исследования со специфическими ингибиторами ключевого фермента этого пути, аргинин-декарбоксилазы.

Работа может позволить понять молекулярные основы увеличения суперпродукции цефС при экзогенном введении полиаминов, с дальнейшей целью направленного генно-инженерного воздействия для повышения продукции у высокоактивных грибных продуцентов.

*Работа поддержана грантом РФФИ 19-04-01173.*



## ЭЛЕКТРОСПИННИНГ СМЕСЕЙ ИЗ ПОЛИЛАКТИДА И ГЛОБУЛЯРНЫХ БЕЛКОВ

**Павлова Е.Р.<sup>1</sup>, Графская Е.Н.<sup>1</sup>, Багров Д.В.<sup>1</sup>, Клинов Д.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины ФМБА, г. Москва, Россия

*lizapavlova6@gmail.com*

Электроспиннинг - это универсальная технология получения полимерных волокон с диаметром от нескольких нанометров до микрон и волокнистых матриксов из растворов и расплавов с использованием сильного электростатического поля. Матриксы, полученные электроспиннингом, могут применяться в качестве фильтров, сорбентов, матриксов для культивирования клеток, раневых покрытий, материалов для изготовления защитной одежды.

Электроспиннинг глобулярных, водорастворимых белков недостаточно изучен, поскольку их растворы обладают сравнительно низкой вязкостью и плохо подвергаются электроспиннингу без добавления дополнительных компонент. Тем не менее, белки могут значительно улучшить свойства матриксов, полученных электроспиннингом, такие как биосовместимость, гидрофильность, а также служить в качестве функциональных или лекарственных агентов. Основным вопросом при электроспиннге белков является вопрос о сохранении пространственной структуры белка и его функциональной активности, поскольку в процессе электроспиннинга белок подвергается влиянию агрессивного растворителя и ориентирующему действию электрического поля.

В данной работе мы стараемся ответить на поставленный вопрос на примере двух систем: полилактид-БСА и полилактид-лизоцим. Для данных систем мы изучили морфологию полученных матриксов с помощью сканирующей электронной микроскопии, определили кинетику выхода белков из матриксов в водной раствор спектрофотометрическими методами, и исследовали вышедший из матрикса белок методами электрофореза и спектроскопии кругового дихроизма. Для лизоцима мы провели антибактериальные тесты на клеточных стенках *Micrococcus lysodeikticus* и диком штамме бактерий *Bacillus subtilis*, в качестве контроля использовали лизоцим, растворенный в PBS. Согласно проведенным экспериментам, белки (БСА и лизоцим), вышедшие из матрикса, не были фрагментированы и имели вторичную структуру, совпадающую со структурой исходного белка. Антибактериальная активность лизоцима не изменилась после электроспиннинга. Таким образом, композитные матриксы на основе полилактида и глобулярных водорастворимых белков можно как материалы биомедицинского назначения.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 17-75-30064).*



## РАЗРАБОТКА АДРЕСНОЙ СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

**Пельтек А.А.<sup>1</sup>, Муслимов А.Р.<sup>2,3</sup>, Зюзин А.Р.<sup>4</sup>, Тимин А.С.<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», г. Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН ВОН «Санкт-Петербургский национальный исследовательский Академический университет РАН», г. Санкт-Петербург, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО ПСПГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия; <sup>4</sup>ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет ИТМО», г. Санкт-Петербург, Россия; <sup>5</sup>ФГАОУ ВО НИ ТПУ (Центр RASA), г. Томск, Россия

*felixkurzman@gmail.com*

Лимитирующим фактором, определяющим эффективность ряда схем химиотерапии, является неоптимальная фармакокинетика противоопухолевых препаратов, а также их выраженная токсичность в отношении здоровых тканей. Оптимизация фармакокинетики может быть достигнута путем достижения локально высоких концентраций действующего вещества в опухолевых узлах при минимальном системном воздействии, в том числе при использовании активных механизмов накопления, например, путем эксплуатации присущей многим типам живых клеток способности к активной миграции.

Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки костного мозга человека (ММСК) являются клеточной популяцией, которая за счет приписываемого ей феномена патотропизма может решить проблему таргетной доставки препарата, выступая в качестве носителя биологически активного вещества. В свою очередь использование высокой загружающей способности полимерных капсул, обеспечит возможность адресной доставки вещества без внешнего и внутреннего воздействия для клеток-носителей.

Для получения полиэлектролитных носителей был произведен синтез гибридных микрокапсул при помощи технологии Layer-by-Layer (Polyarginine/Dextran sulfate) и золь-гель синтеза. В качестве модельного противоопухолевого препаратов с дозозависимым эффектом использовался винкристин. Была произведена оценки ассоциации клеток с капсулами при помощи проточной цитофлуориметрии и лазерной сканирующей конфокальной микроскопии. Отдельным этапом было исследование потенциала исследуемых модифицированных клеток к спонтанной и направленной миграции, а также влияние на него ассоциированных с клетками капсул. На заключительном этапе была исследована способность ММСК, модифицированных капсулами, мигрировать по градиенту опухоль-ассоциированных хемокинов в 3D культуре (модель тумороида в коллагеновом геле с использованием первичных опухолевых клеток).

В ходе исследований было продемонстрировано, что инкапсулированный винкристин не оказывает существенного влияния на жизнеспособность клеток-носителей.

Эксперименты продемонстрировали лишь незначительное ухудшение способности ММСК к спонтанной и направленной миграции с увеличением количества капсул или же их размера. Также на модели 3D культуры была доказана способность ММСК направленно мигрировать и проникать в опухолевый сфероид.

Таким образом, данная работа демонстрирует высокую эффективность применения ММСК в качестве клеточной платформы для доставки противоопухолевых препаратов, инкапсулированных при помощи полиэлектролитных микрокапсул.





ВЛИЯНИЕ СООТНОШЕНИЯ C:N В СРЕДЕ НА СИНТЕЗ  
ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТОВ В КУЛЬТУРЕ БАКТЕРИЙ *CUPRIAVIDUS*  
*EUTROPHUS* B-10646

**Петровская О.Д.<sup>1</sup>, Петровская О.Д.<sup>1</sup>, Барановский С.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО "Сибирский федеральный университет", г. Красноярск, Россия

*olga.petrovskaya.96@mail.ru*

Мировые тенденции снижения и даже исключения синтетических пластиков из повседневного использования требуют активного развития в России отрасли производства биоразлагаемых полимеров, синтезируемые микроорганизмами. Соотношение углерода и азота в питании микроорганизмов оказывает существенное влияние на биологические процессы, происходящие в клетке. Подбор соотношения C:N в культуральной среде для каждого биологического объекта позволяет получить максимальные ростовые и продукционные характеристики производственного штамма.

Целью работы являлось исследование влияние C:N в среде на процесс культивирования, одного из наиболее перспективных для производства биоразрушаемых пластиков, штамма бактерий *Cupriavidus eutrophus* B10646.

Исследования проводились на базе опытно-промышленного производства полигидроксиалканоев (ПГА) с использованием 30 литрового ферментера «Bioengineering NLF 22» в Сибирском федеральном университете, совместно с сотрудниками Института биофизики СО РАН.

Исследовали влияние соотношения C:N в среде на удельную скорость роста ( $\mu$ , ч<sup>-1</sup>) бактерий, концентрацию биомассы (г/л), скорость синтеза ПГА ( $\mu_{\text{пга}}$ , ч<sup>-1</sup>) и его накопление в клетках (%).

Результаты исследований показали, что соотношение C:N в среде оказывает первостепенное влияние на ростовые характеристики культуры бактерий. Установлено, что поддержание оптимального соотношения между углеродом и азотом в среде обеспечивает максимальное накопление биомассы до 70 г/л на первом этапе процесса и до 96 г/л по окончании процесса биосинтез. Колебания данного показателя в диапазоне от 4 до 8 не оказывают влияние на накопление биомассы, а удельная скорость роста достигает максимального значения  $\mu = 0,20 \pm 0,01$  ч<sup>-1</sup>. Смещение данного соотношения в большую сторону способствует интенсивному накоплению ПГА в клетках, и приводит к снижению удельной скорости роста, что отрицательно сказывается на количестве биомассы, тем самым негативно влияет на продуктивность процесса.

Установлено, что влияние концентрации ПГА в клетках на удельную скорость роста описывается моделью Моно-Иерусалимского. Высокая концентрация ПГА в инокуляте и на начальном этапе (0 – 24 ч) ферментации приводит к снижению ростовых характеристик и как следствие низкой продуктивности процесса. Контроль соотношения C:N позволяет управлять синтезом ПГА. Снижение C:N  $\leq 4$  обеспечивает снижение ПГА в клетках (ПГА менее 25 %), C:N от 4 до 8 обеспечивает максимальную удельную скорость роста (содержание ПГА 25-30 %), C:N  $\geq 8$  обеспечивает интенсивное накопление ПГА (до 85 %).



## НИЗКОТЕМПЕРАТУРНАЯ КОНСЕРВАЦИЯ ЦИАНОБАКТЕРИЙ (SPIRULINA, ARTHROSPIRA)

**Петрухина Д.И.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО "Калужский государственный университет им. К.Э. Циолковского", г. Калуга, Россия

*daria.petrukhina@outlook.com*

Цианобактерии родов *Spirulina* и *Arthrospira* — наиболее востребованные в биотехнологии фототрофные микроорганизмы. Однако вопрос долговременной криоконсервации *Arthrospira* sp. требует дальнейшего изучения, тогда как для *Spirulina* sp. нет сообщений об успешной длительной криоконсервации.

В работе была адаптирована методика низкотемпературного консервирования *A. maxima* (штаммы SAG 84.79, SAG 49.88), *A. platensis* (штаммы SAG 21.99, SAG 257.80, PCC 9108, PCC 7345, PCC 9223), а также *S. laxissima* штамм SAG 256.80 и *S. subsalsa* штамм PCC 9445, позволяющая сохранять клетки минимум 1 год. Наиболее эффективными из тестируемых криопротекторов оказались гуммиарабик, ДМСО и глюкоза в концентрациях 5, 10 и 15%. Применение смеси 10% ДМСО и 10% глюкозы позволило избежать развития контаминирования у неаксенных штаммов. Предложенная методика — скорость охлаждения 1°C в минуту до -80°C и хранение при этой температуре — ранее не применялась к цианобактериям рода *Spirulina* и позволила впервые сохранить жизнеспособными два вида: *S. subsalsa* и *S. laxissima* в течение длительного времени (1 год). Хранение при -80°C не оказывало заметного влияния на синтез полисахаридов у *S. subsalsa* PCC 9445 и *A. platensis* PCC 9223 по сравнению с их содержанием в исходных культурах. Исследовали состав питательных сред для ре-культивирования культур после их длительной криоконсервации. После оттаивания выращивали в разбавленной питательной среде Заррука с добавлением ретентата (модифицированного и оригинального) молочной сыворотки. «Отработанную» среду Заррука получали после культивирования на ней цианобактерий, биомасса которых была криоконсервирована, тогда как отделенная от нее «отработанная» среда Заррука была смешана (1:1) с новой (свежей) средой Заррука для повторного использования после криоконсервации. Такая разбавленная питательная среда, обогащенная ретентантом молочной сыворотки, позволила обеспечить увеличение прироста биомассы *S. subsalsa* PCC 9445 и *A. platensis* PCC 9223 и продуктов их синтеза (белков, сахаров, липидов и фенольных соединений).

Можно сделать вывод о возможности применения вида *S. subsalsa* в биотехнологическом производстве наряду с более распространенным и хорошо изученным видом *A. platensis*, поскольку в нашем исследовании для штамма PCC 9223 *A. platensis* и штамма PCC 9445 *S. subsalsa* были получены сопоставимые экспериментальные данные, что может найти практическое применение при необходимости обойти патентные запреты используя иной вид цианобактерии, чем в патенте.



## ПОЛУЧЕНИЕ И АНАЛИЗ ТРАНСГЕННОГО КАРТОФЕЛЯ С БЕЛКОВЫМ pH-СЕНСОРОМ Pt-GFP

**Печёрина А.А.<sup>1</sup>, Агеева М.Н.<sup>1</sup>, Гринберг М.А.<sup>1</sup>, Здобнова Т.А.<sup>1</sup>, Брилкина А.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО "Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского", г. Нижний Новгород, Россия

*ihmmtatb@yandex.ru*

Анализ и наблюдение за уровнем pH в растительной клетке при воздействии стимулов различной природы может проводиться с помощью генетически кодируемого флуоресцентного ратиометрического сенсора Pt-GFP. Использование таких трансгенных растений позволяет картировать pH как в отдельных клетках и тканях при использовании высокоразрешающей LSM-микроскопии, так и на уровне целого организма с помощью установок флуоресцентного «whole-body» имиджинга. Цель данной работы состоит в создании модельных растений картофеля, экспрессирующих pH-чувствительный сенсор Pt-GFP.

Генетическую трансформацию картофеля сортов Ирбитский и Невский проводили с помощью агробактерий штамма AGL0, несущих плазмиду pART27 с геном Pt-GFP (NanoLight® Technologies, США) под контролем промотора CaMV 35S.

Стеблевые экспланты культивировали с агробактериями в темноте два дня на питательной среде Мурасиге и Скуга (МС), содержащей 6-БАП (3 мг/л) и ИУК (0,5 мг/л). Далее для первичного отбора регенерантов использовали селективную питательную среду МС с добавлением антибиотиков канамицина (Km) и цефотаксима (Cf), на которой экспланты культивировали две генерации по четыре недели. Наличие вставки гена было подтверждено с помощью ПЦР.

Спектральные и флуоресцентные изображения клеток листьев, стебля, корней и пазушных почек регенерантов картофеля, экспрессирующих Pt-GFP, получали с помощью лазерной сканирующей системы LSM710 (Carl Zeiss). Возбуждение сенсора в растении осуществляли при 405 и 488 нм, флуоресценцию Pt-GFP принимали в диапазоне 505-525 нм. В полученных трансгенных растениях картофеля флуоресцентный сигнал сенсора Pt-GFP выявлен в цитоплазме и ядрах клеток всех исследованных органов.

Для регистрации изменения pH на уровне целого растения была использована установка оптического имиджинга DVS-03 (ИФТ РАН, Россия), оснащенная синим светодиодом для возбуждения Pt-GFP. При нагреве средней части стебля нагревательным элементом наблюдали временное снижение pH на участке стебля, близком к зоне воздействия, и в ближайшем от этой зоны листе. Снижение pH продолжается некоторое время после нагрева, а затем pH плавно возвращается либо к исходному значению, либо становится выше. Таким образом, в модельных растениях картофеля можно в реальном времени проводить исследование изменения pH, произошедшее в результате различных внешних воздействий.



## ИССЛЕДОВАНИЕ ПАРАМЕТРОВ КУЛЬТИВАЦИИ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ CHO C-P1.3-FSH-G4 - ПРОДУЦЕНТА РЕКОМБИНАНТНОГО ФОЛЛИКУЛОСТИМУЛИРУЮЩЕГО ГОРМОНА ЧЕЛОВЕКА

**Синегубова М.В.<sup>1</sup>, Ковнир С.В.<sup>1,2</sup>, Орлова Н.А.<sup>1</sup>, Ползиков М.А.<sup>2</sup>, Воробьев И.И.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГУ «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН», г. Москва, Россия; <sup>2</sup>ООО «АйВиФарма», г. Москва, Россия

*mvsineg@gmail.com*

Фолликулостимулирующий гормон человека (ФСГ) отвечает за функционирование половых желез и в качестве лекарственного средства используется для стимуляции овуляции при проведении процедуры экстракорпорального оплодотворения. ФСГ представляет собой гетеродимерный гликопротеин, состоящий из пары нековалентно связанных между собой  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепей. Ранее нами была создана клональная линия клеток–продуцентов для получения рекомбинантного ФСГ с высокой удельной продуктивностью, однако при их продолжительном культивировании было обнаружено, что удельная продуктивность клеток снижается на порядок после 4-х дней культивирования. В ходе выполнения настоящей работы мы определяли параметры культивации клеточной линии CHO C-P1.3-FSH-G4, секретирующей ФСГ, приводящие к максимизации титра продукта. Для этого мы исследовали динамику накопления целевого белка в псевдоперфузионном процессе культивирования, а также определяли влияние питательных ростовых добавок на примере серии *Beckton Dickinson Resurge™ CD*, некоторых моносахаридов, ионов марганца и понижения температуры культивации на кривую накопления ФСГ при культивировании в режиме *batch* (простого периодического культивирования).

По результатам выполнения работы было установлено, что при простом периодическом культивировании линии CHO C-P1.3-FSH-G4 в культуральной среде *Lonza Pro CHO5* в перемешиваемых колбах накопление ФСГ продолжается 8 дней, максимальный титр составляет 35 мг/л. Было показано, что титр ФСГ может быть увеличен при переходе к псевдоперфузионному режиму культивирования с сохранением 10% кондиционированной среды (при 8-дневном цикле культивации - с 35 мг/л до 90 мг/л), при этом клеточная плотность возрастает до 20-30 млн клеток/мл и может поддерживаться на этом уровне в течение 5-6 дней. Видимая удельная продуктивность клеток при их переходе в высокую плотность падает, что указывает на наличие дефицитных компонентов ростовой среды, необходимых для эффективной секреции целевого белка. Такие дефицитные компоненты не были обнаружены в составе ростовых добавок *CD1 – CD5*, и ими не являются моносахариды лактоза, галактоза, манноза, *N*-ацетилнейраминная кислота и ионы марганца. Удельная продуктивность исследуемой линии клеток не возрастает при понижении температуры, а их скорость деления и результирующий титр ФСГ падают. Таким образом, было установлено, что единственным экономически обоснованным способом повышения титра целевого белка из рассмотренных нами является перевод культуры в перфузионный режим.



## ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНЫХ И ПРОТИВОМИКРОБНЫХ СВОЙСТВ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ КОМПОНЕНТОВ SOLANUM NIGRUM L.

**Стеценко Д.С.<sup>1</sup>, Клепикова А.В.<sup>1</sup>, Астафьева О.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет», г. Астрахань, Россия

*dashka\_mouse@mail.ru*

Источником веществ, обладающих противомикробной и антиоксидантной активностью могут быть растения. Одно из таких растений – паслен черный (*Solanum nigrum* L.). Целью данной работы было исследование антиоксидантных и противомикробных свойств выделенных биологически активных компонентов *S. nigrum* L.

Для исследования антимикробной активности были приготовлены следующие экстракты: водные экстракты корня, сухих листьев, стебля и спиртовые (70%) экстракты корня, стебля, свежих листьев. Изучение влияния экстрактов на микроорганизмы проводили методом диффузии препарата в питательную среду с использованием лунок [2].

Для исследования антиоксидантной активности приготовили экстракты листьев *S. nigrum*, которые были получены согласно методике [1]. В качестве экстрагентов были выбраны ацетон, этанол, диэтилкарбонат и этилацетат. Для определения антиоксидантной активности полученных экстрактов применяли DPPH–тест фотометрическим методом [3] с 0,5 мМ спиртовым раствором DPPH (Sigma-Aldrich) при длине волны 517 нм на спектрофотометре. Для приготовления рабочих растворов применяли 96% этиловый спирт. В результате статистических испытаний измерения были проведены через 60 минут.

Противомикробной активностью обладали все экстракты. Наибольшая ингибирующая активность обнаружена у водных экстрактов стеблей паслена. Спиртовой экстракт корней показал самые низкие результаты. Результаты антиоксидантной активности показали что, все экстракты активны в разной степени. Наиболее высокую антиоксидантную активность показали ацетоновые и этанольные экстракты листьев *S. nigrum*. Полученные результаты говорят о необходимости дальнейших исследований как свойств, так и химического состава полученных экстрактов и о возможности разработки на их основе натурального пищевого консерванта.

Список литературы:

3. Aboul-Enein, A.M. Potent anticancer and antioxidant activities of active ingredients separated from *Solanum nigrum* and *Cassia italica* extracts / A.M.Aboul-Enein, F.A. El-Ela, H. El-Shemy // Journal of Arid Land Studies. – 2014. – 24 – V.1.– P.145-152.
4. Сухенко, Л.Т. Лабораторно-практические занятия по микробиологии с основами вирусологии / Л.Т. Сухенко // Астрахань: Изд-во АГПУ, 1 – 2 часть, 1999. – 16 с.
5. Хасанов, В.В. Методы исследования антиоксидантов / В.В. Хасанов, Г.Л. Рыжова, Е.В. Мальцева // Химия растительного сырья. – 2004. – №3. – С. 63-75.



## ЛИМИТАЦИЯ ЭЛЕКТРОГЕНЕЗА МИКРОБНОГО ТОПЛИВНОГО ЭЛЕМЕНТА МАССОПЕРЕНОСОМ В АНОДНОЙ КАМЕРЕ

**Филиппова К.А.<sup>1</sup>, Самков А.А.<sup>1</sup>, Волченко Н.Н.<sup>1</sup>, Лазукин А.А.<sup>1</sup>, Худокормов А.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет», г. Краснодар, Россия

*f\_ksenia@mail.ru*

Известно, что формирующиеся в анодной камере мембранного микробного топливного элемента (МТЭ) микроградиенты протонов, а также иные, служат причиной диффузных ограничений, лимитирующих ток. Ключевая для величины тока роль протонов связана с необходимостью их диффузии к протонселективной мембране. Кроме того, в результате поляризации, на поверхности анода создаются условия, препятствующие переходу электронов на токособирающую поверхность. Необходимо отметить, что катодная полуреакция лимитировала электрогенез в незначительной степени.

Предположено, что при интенсивном избирательном перемешивании анодной камеры обеспечивается интенсификация массопереноса и, как следствие, электрогенез. Были изготовлены воздушнокатодные ячейки, в которых анодная камера являлась единственной емкостью с достаточным для перемешивания объемом жидкости (65 мл), поскольку катодная камера была редуцирована до пленки капиллярной влаги на поверхности углеродного войлока. В качестве катионселективной мембраны использовали МФ-4СК, в качестве электродного материала – углеродный войлок НТМ-200М. В качестве электрогенной микрофлоры анодной камеры использовали микробиом анаэробных донных отложений пресного водоема. Экспериментальные ячейки были установлены на орбитальный шейкер, где инкубировались при комнатной температуре на 60 RPM с амплитудой около 3 см. Контрольные ячейки инкубировали в статических условиях.

Было обнаружено, что ячейки, в анодных камерах которых осуществлялось перемешивание, выдают больший ток, нежели МТЭ, находящиеся в статических условиях. Так, уже на первый день опыта ток ячеек, помещенных на качалку составлял около 125 мкА, против 105 мкА у контрольных ячеек. В дальнейшем разница возрастала, достигнув пика в 455 мкА у МТЭ, инкубируемых на качалке, против 120 мкА у МТЭ в статических условиях.

Таким образом, экспериментально доказана значительная лимитация тока во внешней цепи мембранного МТЭ диффузными ограничениями, существующими в анодной камере при анаэробном разложении сложного питательного субстрата сообществом донных отложений пресного водоема. Отдельно необходимо отметить ранее экспериментально доказанную, при помощи специально сконструированного МТЭ со стерильным токособирающим анодом, отделенным от микробиома трековой мембраной, главенствующую роль прямого переноса электронов на анод, что делает акцент именно на ограничении диффузии протонов к катионселективной мембране и зоне катодной полуреакции.



## КО-ЭКСПРЕССИЯ ШАПЕРОНОВ КАК СТРАТЕГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ РАСТВОРИМЫХ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ В КЛЕТКАХ *E. COLI*

**Хасанов И.В.<sup>1</sup>, Потапович М.И.<sup>1</sup>, Прокулевич В.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Белорусский Государственный Университет, г. Минск, Республика Беларусь

*kh-igor@hotmail.com*

Биотехнологическое получение рекомбинантных белков с помощью различных штаммов *E. coli* на сегодняшний день по-прежнему сталкивается с рядом проблем, связанных с накоплением в бактериях агрегирующих, нерастворимых телец включения (ТВ). Наиболее распространённым способом выделения ТВ является их солюбилизация и последующий рефолдинг с очисткой от примесей. Данный метод имеет ряд недостатков – высокие объёмы буферов для разведения и рефолдинга, длительные процедуры солюбилизации и очистки белков. Одним из способов преодоления проблемы образования ТВ является использование молекулярных шаперонов, участвующих в фолдинге клеточных белков.

Целью данной работы являлся анализ экспрессии белка бычьего альфа-интерферона (CowIFN $\alpha$ ) в клетках *E. coli* в присутствии молекулярных шаперонов GrpE, ClpB, GroELS и DnaKJ и без них.

В ходе работы оценивали влияние ко-экспрессии шаперонов на выход растворимой/нерастворимой фракции белка. Для этого культуры штаммов *E. coli* индуцировали 0,5 ммоль/л ИПТГ в течение 3 часов при +37°C, а также в течение 20 часов при +20°C. Полученную после культивирования биомассу ресуспендировали в буфере, разрушали, используя гомогенизатор высокого давления, и центрифугировали. Фракции супернатанта и осадка разделяли для расчета концентраций белка и последующего белкового электрофореза с количественным анализом результатов.

Показано, что ко-экспрессия шаперонов в клетках *E. coli* при +37°C привела к увеличению отношения концентрации общего клеточного белка в растворимой фракции к нерастворимой фракции в 3,2 раза, а CowIFN $\alpha$  в 3,6 раза. При культивировании при +20°C отношение концентраций растворимого общего клеточного белка к нерастворимому в отсутствие ко-экспрессии шаперонов увеличилось в 2 раза, а CowIFN $\alpha$  в 4,23 раза. Ко-экспрессия шаперонов при +20°C привела к увеличению отношения концентрации общего клеточного белка в растворимой фракции к нерастворимой фракции в 4,67 раза по сравнению со штаммом без шаперонных плазмид, выращенным при +37°C, а CowIFN $\alpha$  в 12,5 раза.

Полученные данные показывают, что ко-экспрессия шаперонов, а также культивирование при пониженной температуре, позволяют существенно увеличить выход растворимого рекомбинантного белка.



## ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ БЕНТОСНЫХ МИКРОБНЫХ ТОПЛИВНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ПРОТОЧНОГО ТИПА В УСЛОВИЯХ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ТОКСИЧНЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ

**Хижняк Е.И.<sup>1</sup>, Волченко Н.Н.<sup>1</sup>, Самков А.А.<sup>1</sup>, Лазукин А.А.<sup>1</sup>, Худокормов А.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО "Кубанский государственный университет", г. Краснодар, Россия

*katya.hizhnyak1995@mail.ru*

На протяжении многих лет нарастающие проблемы загрязнения окружающей среды и истощения полезных ископаемых привели к созданию и развитию новых технологий получения альтернативных источников энергии. Одним из перспективных направлений в биоэнергетики являются микробные топливные элементы (МТЭ), которые способны не только к выработке маломощной энергии, но и активизации процессов метаболизации загрязняющих веществ. Известно много различных типов МТЭ, однако большей возможностью масштабирования и практического использования в условиях окружающей среды обладают бентосные МТЭ (БМТЭ), представляющие собой систему электродов, помещённых в донные отложения или заболоченные почвы. Изучение устойчивости таких систем является актуальным как с научной, так и практической точек зрения.

Целью данной работы является изучение эффективности БМТЭ в условиях загрязнения токсичными веществами. Для достижения поставленной цели, в лабораторных условиях были изготовлены БМТЭ с подповерхностным потоком воды, представляющие собой три последовательно соединённых ячейки МТЭ, наполненных переувлажнённым торфогрунтом. При этом анод расположен в микроаэрофильные условия, а катод – на поверхности торфогрунта (аэробные условия). Электроды были соединены посредством резистора. Воду пропускали от начальной ячейки через всю систему. Отмечено, что на протяжении опыта уровень электрогенеза находился в пределах 52–301 мВ. На 14 и 17 сутки работы МТЭ через систему были пропущены растворы нитрата и смеси поллютантов (дизельное топливо, Тритон Х-100 и ацетат свинца), которые привели к падению электрогенеза до 45% с последующим восстановлением и ростом. Характерно линейное распределение нитратных соединений, а также снижение их содержания в течении времени. Также было зафиксировано снижение содержания углеводов. Тем самым показана возможность применения БМТЭ с целью очистки сточных вод от загрязняющих соединений.

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





## ПРИМЕНЕНИЕ ГИДРОГРАНУЛ В КАЧЕСТВЕ НАПОЛНИТЕЛЯ ДЛЯ ИММОБИЛИЗАЦИИ МЕТАНОГЕННОЙ МИКРОФЛОРЫ В БИОРЕАКТОРЕ СО СТРУЙНЫМ ТЕЧЕНИЕМ

**Ходжаев Ю.Р.У.<sup>1</sup>, Бояршин К.С.<sup>1</sup>, Hofstede G.<sup>2</sup>, Lammers G.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО "Белгородский государственный национальный исследовательский университет", г. Белгород, Россия; <sup>2</sup>Университет прикладных наук Ханзе (Hanze University of Applied Sciences), г. Гронинген, Нидерланды

*yusufali950823@gmail.com*

Вследствие дороговизны электроэнергии в Западной Европе получили широкое распространение такие нерегулярные источники энергии, как солнечные батареи и ветрогенераторы. Во время пиков выработки избыточная электроэнергия зачастую используется для электролиза воды и таким образом запасается в виде водорода. При этом хранение водорода связано с рядом проблем, в том числе с высокой скоростью его диффузии, химической активностью и взрывоопасностью. По этой причине стала актуальной идея использования полученного водорода для синтеза метана с применением специальной архейной микрофлоры.

Метаногенные археи делятся на две основные группы – ацетокластические, вырабатывающие метан путём расщепления уксусной кислоты, и гидрогенотрофные, синтезирующие его из водорода и углекислоты. Эта гидрогенотрофная микрофлора и может быть использована для трансформации одного энергоносителя в другой.

Для отработки метода биосинтеза метана на основе водорода и углекислого газа мы использовали экспериментальный биореактор со струйным течением общим объёмом 560 мл, с рабочей полостью, заполненной гранулами различного типа. Для растворения водорода и углекислого газа реактор был снабжён барботёром. Питательная среда непрерывно перекачивалась через систему трубок из нижней части реактора в верхнюю (450 мл/мин), где разбрызгивалась при помощи форсунки в газовой фазе и стекала вниз по поверхности гранул. Рабочая температура была выбрана на верхней границе мезофильных условий, +45°C.

Важным этапом в разработке реактора стал выбор пористых гранул, содержащих в порах иммобилизованные клетки гидрогенотрофных архей. Вначале применяли специальный наполнитель Niflow rings, плотностью 77 кг/м<sup>3</sup>, с поверхностью 313 м<sup>2</sup>/м<sup>3</sup> и долей свободного пространства 91%. Результатом проведённых экспериментов стал выбор в качестве наполнителя гидрогранул – легкого пористого строительного материала, получаемого путем обжига глины или сланца. Данный материал также имеет большую поверхность за счёт насыщенности порами и обеспечивает повышение эффективности процесса.



## ДОПЛЕРОМЕТРИЯ ДИАСТОЛИЧЕСКОГО ОТНОШЕНИЯ ЛЕВОГО ИЛИ ПРАВОГО ЖЕЛУДОЧКА СЕРДЦА ПЛОДА ЧЕЛОВЕКА ПРИ ДОМАШНЕМ МОНИТОРИРОВАНИИ

**Черкашина Л.А.<sup>1,2</sup>, Минаев Н.С.<sup>2</sup>, Минаев И.С.<sup>2</sup>, Казанцев А.П.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биологического приборостроения с опытным производством РАН, г. Пущино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО "Пущинский государственный естественно-научный институт", г. Пущино, Россия

*anarore-kriptih@yandex.ru*

Зондирование ультразвуком сердца плода человека позволяет с помощью эффекта Доплера измерять скорости кровотоков внутри сердца и в прилегающих магистральных сосудах.

Для мониторинга состояния здоровья плода наблюдаются соотношения давления крови в предсердиях и в желудочках его сердца. Согласно уравнению Бернулли, разность давления между камерами сердца определяется отношением скоростей чресклапанных потоков. Скорости кровотоков измеряются с помощью ультразвукового монитора, работающего на эффекте Доплера. С выхода монитора считывается сонографический сигнал. Скорости кровотоков получают после преобразования сигнала в ряд элементарных колебательных функций-чирплетов, которые превращаются в элементарные профили кровотока. Профиль является адекватной математической моделью мониторируемого процесса и характеризуется рядом свойств, зависящих от ракурса зондирования.

Профиль представляет графически последовательность сердечных циклов, каждый из которых состоит из определённых фаз. Для вычисления диастолического отношения нужно выделить фазы ранней и поздней диастолы. Каждая фаза представляет собой смесь нескольких реальных импульсных кровотоков, моделируемых элементарными составляющими процедурой оптимальной аппроксимации профиля. Нами показано, что удобной формой элементарных составляющих являются ассиметричные функции Гаусса.

Оптимизация аппроксимации выполняется методом Гаусса-Зейделя (покоординатного спуска). Оптимизация может повторяться несколько раз. Независимыми координатами являются все параметры всех компонент, составляющих профиль, а также два угла ракурса зондирования и углы пространственной ориентации потоков. Перед каждым проходом задаются очерёдность покоординатного спуска и границы для каждой независимой переменной. Целевой функцией оптимизации служит невязка между реальными данными и модельным профилем в виде дисперсии погрешности.

### Результаты

1. Показано, что адекватной формой элементарных составляющих модели кровотока являются ассиметричные функции Гаусса.
2. Разработано программное обеспечение для аппроксимации отрезков профиля кровотока методом Гаусса-Зейделя. Оптимизация может повторяться несколько раз с изменением последовательности координат и пределов их вариации.

Предложенный подход, основанный на доплерометрии, позволяет выполнять мониторинг дистанционно в домашних условиях на ранних сроках, что имеет большое значение для предупреждения заболеваний плода и осложнений беременности в соответствии с парадигмой превентивной медицины.



## ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КОМАГАТОЕИБАКТЕР RHAETICUS ВКПМ В-13015 НА СИНТЕЗ НАНОЦЕЛЛЮЛОЗЫ

**Шкоденко Л.А.<sup>1</sup>, Мигунова А.В.<sup>1</sup>, Ткаченко А.А.<sup>1</sup>**

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

*Albinatkachenko@mail.ru*

Уксуснокислые бактерии *Komagatoeibacter rhaeticus* синтезируют целлюлозу (бактериальную целлюлозу – БЦ, перспективный материал для использования в медицинской и пищевой промышленности) в виде гель-пленки, развивающейся на поверхности сахаросодержащих питательных сред. Изолированный нами из «чайного кваса» штамм *Komagatoeibacter rhaeticus* депонирован в ВКПМ под регистрационным номером ВКПМ В - 13015. В рабочем состоянии штамм сохраняется в музейной коллекции кафедры микробиологии СПбГУ путем регулярных периодических пересевов. При многолетнем хранении к настоящему времени изолированный штамм сохраняет высокую целлюлозосинтезирующую активность и не обнаруживает выраженную способность к диссоциации, продуцирует целлюлозу на дешевых сахаросодержащих отходах пищевых производств.

Установлены параметры культивирования штамма *Komagatoeibacter rhaeticus* ВКПМ В-13015 с целью достижения максимального выхода БЦ. Оптимальная концентрация в питательной среде глюкозы – 2%, сахарозы – 10%, глицерина - 2%. Культивирование продуцента на смеси двух субстратов: глюкоза, либо глицерин, либо сахара+этанол позволяет интенсифицировать процесс биосинтеза БЦ.

Этанол как единственный источник углерода не обеспечивает рост изучаемого штамма, при этом образуется тонкая, рыхлая пленка. Штамм устойчив к 10%-ной концентрации этанола в среде с глюкозой и 15%-ной в среде с сахарозой. Увеличение концентрации дрожжевого экстракта (ДЭ) как источника азота и фактора роста повышает продукцию БЦ в средах с глюкозой, но не с сахарозой. При выращивании бактерий на смешанном субстрате с глюкозой и этанолом оптимальными являются более низкие концентрации ДЭ (0,1-0,2%). На средах содержащих сахарозу максимальный выход БЦ достигается при лимитации по азоту, при концентрации ДЭ 0,1% .

Показано, что при совместном использовании глюкозы и этанола в питательной среде в начальный период роста потребление глюкозы подавляется и возобновляется после полного окисления этанола, имеет место усиление кислотообразования и отмечается увеличение числа бактерий (КОЕ) по сравнению с вариантом опытов без добавления этанола 25 млн/мл и 0,2 млн/мл соответственно. Для ускорения синтеза БЦ и повышения ее выхода целесообразно использовать инокулят, выращиваемый в условиях поверхностного культивирования не более семи суток.

Штамм *Komagatoeibacter rhaeticus* ВКПМ В-13015 наряду с целлюлозосинтезирующей активностью проявляет левансахаразную активность. Левансахараза *Komagatoeibacter rhaeticus* ВКПМ В-13015 – это экзофермент, имеющий индуцибельный характер.



## ДИНАМИКА РОСТА PHYLLOBACTERIUM IFRIQIYENSE 6 В УСЛОВИЯХ ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

**Якубовская А.И.<sup>1</sup>, Каменева И.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН "Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма", г. Симферополь, Россия

*yakubovskaya\_alla@mail.ru*

Из микробного сообщества апикальной части корней риса, нами выделен активный штамм бактерий *Phyllobacterium ifriqiyense* 6 с полезными для растений свойствами перспективный для разработки препарата на его основе. В основе технологии микробных препаратов лежит подбор сред с использованием экономичных субстратов и управление ростом культуры.

Цель работы – изучить технологические свойства и динамику роста *P. ifriqiyense* 6 в условиях периодического глубинного культивирования.

Бактерии выращивали в жидких питательных средах разного компонентного состава на лабораторной термостатируемой качалке типа УВМТ-12-250, при скорости вращения 220 об./мин и 27°C. Оценку параметров роста *P. ifriqiyense* 6 проводили по количеству колониобразующих единиц (КОЕ) и динамической вязкости культуры.

Результаты исследований показали, что штамм *P. ifriqiyense* 6 высокотехнологичен. Динамика роста бактерий зависела от состава сред (в основном источника энергии). В полусинтетической среде с маннитом и дрожжевым автолизатом титр бактерий в течение 5 часов увеличивался с 1,8 до 29,3 млрд. в 1 мл, затем резко снижался и оставался на уровне 2 млрд. до конца культивирования. В многокомпонентной питательной среде на основе бобового отвара со смесью углеводов (сахарозы и глюкозы) экспоненциальный рост *P. ifriqiyense* 6 продолжался 30 часов, титр повышался с 3 млрд. до 58,8 млрд. клеток в 1 мл и через 65 часов культивирования составлял 67,2 млрд. в 1 мл. В средах с экономичными субстратами (свекловичной мелассой и кукурузным экстрактом), интенсивный рост *P. ifriqiyense* 6 отмечен через шесть часов культивирования, затем было замедление роста и снова нарастание титра с 2,2 до 7,9 млрд. КОЕ в 1 мл. В минимальной по составу среде за период 24-48 часов культивирования титр культур увеличивался с 2,4 до 9,2 млрд. в 1 мл среды.

При культивировании *P. ifriqiyense* 6 в средах маннитно-дрожжевой и кукурузно-меллассной отмечена высокая динамическая вязкость культуры: 26,1 и 25,3 мПа за 1 секунду, соответственно.

*P. ifriqiyense* 6 сохранял способность продуцировать фитогормоны, что было установлено в фитотестах на бобовых культурах.

Таким образом, установлено, что исследуемый штамм *P. ifriqiyense* 6 высокотехнологичный. В условиях периодического глубинного культивирования в зависимости от состава питательной среды *P. ifriqiyense* 6 набирает титр от 9,2 до 67,2 млрд. клеток в 1 мл, сохраняя способность продуцировать вещества полисахаридной природы и фитогормоны.



## СЕКЦИЯ "БИОХИМИЯ"

### МОДИФИКАЦИИ МОЛЕКУЛЫ ФИБРИНОГЕНА, ВЫЗВАННЫЕ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫМ ОКИСЛЕНИЕМ

**Азарова Д.Ю.<sup>1</sup>, Зарудная Е.Н.<sup>1</sup>, Юрина Л.В.<sup>2</sup>, Васильева А.Д.<sup>2</sup>, Розенфельд М.А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия

*azarovadana@mail.ru*

В организме существует баланс между свертыванием крови, превращением фибриногена (ФГ) в фибрин и фибринолизом, протеолитическим растворением сгустка. Дисбаланс в одном направлении (преобладание фибринолиза) может привести к кровотечению, противоположный дисбаланс (усиленный процесс тромбообразования) может вызвать тромбоз или образование сгустка, который блокирует поток крови через сосуд. Посттрансляционные окислительные модификации ФГ вызывают нарушения функциональных свойств белка и, как следствие, сборку фибрина, характеризующегося аномальной архитектурой, пониженной прочностью и эластичностью.

Для исследования использовали фибриноген, выделенный из цитратной крови человека. Свободнорадикальное окисление индуцировали озоном, количество окислителя составляло 50 и 100 мкМ на 1 мкМ фибриногена для образцов 1 и 2.

Молекулярную структуру молекул изучали хромато-масс-спектрометрическим анализом. При подготовке проб образцы обрабатывались дитиотреитолом (DTT) для восстановления дисульфидных связей с последующим алкилированием йодоацетоамидом и гидролизом трипсином (Promega, USA). Триптические пептиды были идентифицированы с помощью программного обеспечения PEAKS Studio (V. 8.5, Bioinformatics Solutions Inc., Waterloo, On, Canada).

Методом масс-спектрометрии было показано, что окислению подвержены все три полипептидные цепи фибриногена, детектированные окислительные модификации и их локализация в структурных элементах белка. В большинстве случаев, у всех окисленных остатков возрастает степень окисления пропорционально количеству добавленного озона. Общая степень окисления, а также количество аминокислотных остатков, участвующих в окислительной модификации боковых цепей аминокислот, уменьшаются в ряду: Met> His> Trp> Tyr> Pro> Lys. Цепь A $\alpha$ , в особенности  $\alpha$ C-коннектор, наиболее уязвимы к окислению по сравнению с другими цепями и структурными элементами, для которого количество аминокислотных остатков, участвующих в окислении, и значение глубины окисления равны 4,5% и 0,2% в контроле, 5,6% и 2,0 % для образца 1, 5,8% и 2,8% для образца 2, соответственно. Ни один из идентифицированных остатков, которые считаются решающими для связывания как hole «a», так и hole «b» с knob «A» и knob «B» соответственно, а также для связывания тромбина с фибриногеном не подвергается химическому изменению при окислении.

Исследование выполнено в рамках бюджетного финансирования по Государственному заданию (тема 0084-2014-0001) и при финансовой поддержке гранта РФФИ 18-04-01313. Масс-спектрометрические данные получены при поддержке гранта Российского научного фонда 16-14-00181.



## ОСОБЕННОСТИ ПРОТЕОМНОГО СОСТАВА МИКРОВЕЗИКУЛ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ НК-92

**Александрова Е.П.<sup>1</sup>, Балабас О.А.<sup>2</sup>, Лобов А.А.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ НИИ АГиР им. Д.О.Отта, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>Научный парк ФГБОУ ВО Санкт-Петербургского Государственного Университета, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург, Россия

*alyx-katich@mail.ru*

Микровезикулы (МВ) – экстраклеточные мембранные везикулы, отпочковывающиеся от плазматической мембраны клетки и несущие в себе различные компоненты ее состава. В протеомный состав МВ входят белки, участвующие в их образовании, поддержании структуры и взаимодействии с другими клетками. МВ иммунных клеток играют роль в межклеточной коммуникации и формировании иммунного ответа.

Мы исследовали протеомный состав клеток натуральных киллеров линии НК-92 и продуцируемых ими МВ с помощью двух масс-спектрометрических методов с целью подтвердить или опровергнуть предположение о том, что протеомный профиль МВ отличается от такового клеток и содержит белки, отвечающие за межклеточную коммуникацию.

Спонтанно культивируемые клетки линии НК-92 и продуцируемые ими МВ путем последовательного центрифугирования (200g, 9900g, 19800g) отделяли друг от друга, после чего гомогенизировали в буфере ReadyPrep 2-D Rehydration/Sample Buffer (Bio-Rad Laboratories). Полученные лизаты центрифугировали (16000g), супернатант обессоливали при помощи Vivaspin 500 (Sartorius Stedim Biotech GmbH). Суспензии белков подвергали двумерному электрофорезу в камерах Protean i12 IEF Cell и Mini-Protean TGX™ Stain-Free PrecastGel (Bio-Rad Laboratories), после чего полученные гели окрашивали Кумасси G250 (Bio-Rad Laboratories). Белковые пятна подвергали трипсинолизу, триптические пептиды экстрагировали и анализировали на хромато-масс-спектрометре Agilent 1260/Agilent 6538 UHD (Agilent Technologies) или на MALDI-масс-спектрометре Axima Resonance (Shimadzu/Kratos Analytical Ltd.). Полученные спектры обрабатывали в базе данных SwissProt.

Суммарно было определено 79 белков, из них и в клетках, и в МВ были обнаружены гистоны, регуляторы транскрипции, белки цитоскелета, ферменты, белки межклеточных контактов и белки компартментов. Из белков компартментов в МВ присутствуют только транспортные комплексы и белки опущения. В отличие от клеток, в МВ не было обнаружено РНК-полимераз, ферментов митохондрий, белков центриолей и мембранных каналов. В МВ было определено больше по сравнению с клетками сигнальных и регуляторных белков. Только в МВ обнаружены белки теплового шока и ферменты убиквитинирования. И в МВ, и в клетках определены белки, отвечающие за развитие иммунного ответа.

В целом протеомный состав МВ отличается от состава исходных клеток линии НК-92: МВ несут в себе структурные белки, белки, участвующие в их образовании, а также регуляторные и сигнальные белки, в частности регулирующие иммунный ответ.

Поддержано грантами РФФИ (проекты [17-04-00679](#) и [19-015-00218](#)).



РОЛЬ СТАТУСА МЕТИЛИРОВАНИЯ CpG-ОСТРОВКОВ ПРОМОТОРОВ ГЕНОВ  
OGDH-1, OGDH-2, OGDH-3 В РЕГУЛЯЦИИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ 2-  
ОКСОГЛУТАРАТДЕГИДРОГЕНАЗНОГО КОМПЛЕКСА В ЩИТКАХ КУКУРУЗЫ *ZEА*  
*MAYS L.* ПРИ ЕЕ ПРОРАСТАНИИ

**Анохина Г.Б.<sup>1</sup>, Дедов Я.И.<sup>1</sup>, Оя П.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

*dowi2009@mail.ru*

Процесс роста и развития растения сопровождается рядом физиологических и биохимических изменений, которые регулируются посредством различных механизмов. 2-оксоглутаратдегидрогеназный комплекс (2ОГДК, КФ 1.2.4.2) – сложный мультиферментный комплекс, который является важным участником как углеводного, так и азотного обмена. Целью работы являлось изучение роли степени метилирования CpG-островков промоторов генов *ogdh-1*, *ogdh-2*, *ogdh-3* в регуляции функционирования 2-оксоглутаратдегидрогеназного комплекса в щитках кукурузы *Zea mays L.* при ее прорастании. Ферментативная активность 2ОГДК имеет достаточно высокие значения уже с момента набухания семени, и в следующие два дня снижается, однако, начиная с третьего дня, наблюдается рост общей ферментативной активности 2ОГДК. Максимум значений отмечается на 7 день прорастания семян, что, вероятно, связано с переходом растительного организма к автотрофному типу питания. Первый компонент 2ОГДК, катализирующий лимитирующую стадию процесса образования сукцинил-СоА – 2-оксоглутаратдегидрогеназы (ОГДГ, К.Ф. 1.2.4.2), в геноме кукурузы кодируется 3 генами, два из которых (*ogdh-2* и *ogdh-3*) имеют в составе промоторов CpG-островки (3 и 2, соответственно). Следует отметить, что анализ относительного уровня транскриптов генов *ogdh-1*, *ogdh-2*, *ogdh-3* показал, что транскрипционная активность всех трёх генов в первые дни прорастания находится на достаточно низком уровне, постепенно увеличиваясь в процессе прорастания семян. Максимум транскрипционной активности исследуемых генов отмечается на 6, 7 и 5 день прорастания, соответственно. Несоответствие высоких значений общей ферментативной активности 2ОГДК со значениями относительного уровня транскриптов генов *ogdh-1*, *ogdh-2*, *ogdh-3* может говорить о том, что семя содержит запас неактивных форм 2ОГДК, которые активируются в результате набухания семени. Установлено, что изменения транскрипционной активности генов *ogdh-1*, *ogdh-2* и *ogdh-3* согласуются с изменениями метильного статуса CpG-динуклеотидов их промоторов – увеличение относительного уровня транскриптов сопровождается снижением количества метилированных цитозинов, в то время как падение транскрипционной активности связано с ростом степени метилирования. Таким образом, полученные данные указывают на эпигенетический механизм регуляции функционирования 2ОГДК в процессе прорастания семян кукурузы.



## ИЗМЕНЕНИЕ СОСТАВА ФОСФОЛИПИДОВ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ КРЫС ПРИ УМЕРЕННОЙ ГИПОТЕРМИИ

**Бейбалаева А.К.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Дагестанский Государственный Университет, Махачкала, Россия

*aina.beibalaeva@mail.ru*

Гипотермия, возникающая у гомойотермов под влиянием различных факторов среды оказывает существенное влияние на физиологические и биохимические процессы в организме. При снижении температуры тела происходит нарушение микроциркуляции, обусловленное вазоспазмом и централизацией кровотока, повышением вязкости крови, уровней фибриногена и гематокрита. Эритроцит в данном случае находится в условиях гипоксии, ацидоза, гипоосмолярности, что приводит к развитию окислительного стресса. В условиях окислительного стресса под влиянием активных форм кислорода может измениться состав липидов мембран эритроцитов. В связи с этим целью данной работы явилось исследование влияния кратковременной умеренной гипотермии на состав фосфолипидов мембран эритроцитов крыс.

В работе были использованы половозрелые крысы Вистар. Температуру тела крыс снижали до 30°C наружным охлаждением в течение 30 мин. Липиды из теней эритроцитов экстрагировали по методу Фолча смесью хлороформ:метанол (2:1 по объему). Количество индивидуальных фосфолипидов определяли с помощью двумерной тонкослойной хроматографии.

Исследование фосфолипидного состава мембран эритроцитов показало, что кратковременная умеренная гипотермия не изменяет содержание фосфатидилхолина, сфингомиелина и фосфатилэтаноламина. Содержание фосфатидилинозитола в мембранных липидах снижается на 15,3%, что возможно связано с его участием в сигнальных процессах. Инозитолфосфат, являясь вторичным мессенджером, способствует увеличению количества  $Ca^{2+}$  в цитозоле путем активации кальциевых ионных каналов плазматической мембраны. Сразу после снижения температуры тела содержание лизофосфолипидов (ЛФЛ) в липидах мембран эритроцитов возрастает на 29,1% по отношению к контролю. Повышение уровня ЛФЛ в липидах мембран свидетельствует об активации фосфолипазы А<sub>2</sub>. ЛФЛ могут изменять структуру и свойства мембраны и, накапливаясь в значительных количествах, приводить к лизису эритроцитов. При гипотермии в липидах мембран эритроцитов достоверно возрастает на 9,9% содержание фосфатидилсерина (ФС). Повышение уровня ионов кальция в эритроцитах может способствовать экстернализации ФС, что является сигналом для последующего удаления таких клеток фагоцитами.

Таким образом, изменение состава и соотношения ФЛ может быть причиной нарушения структурно-динамических характеристик мембран эритроцитов при умеренной гипотермии.





## ПЕПТИДЫ И МАЛЫЕ БЕЛКИ ЭКЗОСОМ ПЛАЦЕНТЫ ЧЕЛОВЕКА

**Бехтерева А.К.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

*bekhtereva.nastasya@gmail.com*

Экзосомы – везикулы размером 40–100 нм, участвующие в межклеточном сообщении. Значимость экзосомного транспорта показана как для нормального функционирования организма, так и для развития патологий. Функции экзосом различных типов определяются их составом. Так, для понимания роли плацентарных экзосом в физиологических процессах, связанных с беременностью, необходимо знать их белковый и липидный составы, а также входящие в состав частиц нуклеиновые кислоты. В последние годы активно исследуют белки (>10 кДа) и микроРНК экзосом плаценты, однако, опубликованные данные о малых белках и пептидах отсутствуют.

В настоящей работе показано, что экзосомы плаценты здоровых женщин содержат малые белки и пептиды с молекулярными массами от 2 до 9 кДа. При масс-спектрометрическом анализе компонентов (<10 кДа) экзосом плаценты наблюдались: мажорный пик, соответствующий пептиду с молекулярной массой 6952 кДа, пики в зоне 7–8,6 кДа, а также группы пиков, разница молекулярных масс между которыми соответствует отличию этих пептидов на одну аминокислоту или ион калия. Впервые показано, что некоторые малые белки и пептиды плацентарных экзосом образуют достаточно прочные комплексы.

Беременность – состояние, сопровождающееся рисками для матери и ребёнка, поэтому исследователи активно ищут пути контроля над происходящими в этот период процессами. Изучение малых белков и пептидов экзосом плаценты в норме и при патологии позволит использовать эти нановезикулы в медицинской практике для диагностических и терапевтических целей.

Работа поддержана Базовым проектом ПФНИ ГАН VI.62.1.5, 0309-2019-0003 (2017–2020 гг.).

## МЕХАНИЗМ ОГРАНИЧЕНИЯ ПОЛИМЕРИЗАЦИИ МОНОМЕРНОГО ФИБРИНА НОВЫМ ПРИРОДНЫМ ПЕПТИДОМ

**Бояринцев Д.И.<sup>1</sup>, Калинин Е.П.<sup>1</sup>, Буслаева Н.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава России, Тюмень, Россия

*bdy0710@yandex.ru*

Средства, обладающие антикоагулянтной активностью, достаточно широко используются в клинической практике. Существует большой перечень препаратов антикоагулянтов ограничивающих процесс плазмокоагуляции. При этом коагуляционные превращения фибриногена, практически не рассматриваются в качестве фармакологической мишени. В работах, выполненных на кафедрах Тюменского ГМУ, были охарактеризованы растительные пептиды, потенциально пригодные для фармакологического использования. Подобный пептид был выделен из природного источника-сапропеля. Однако механизм ингибирования процесса образования фибрина, на тот момент, не был раскрыт.



**Цель** - получить пептид из сапропеля и оценить его влияние на процесс полимеризации фибрин-мономеров на разных этапах самосборки и определить характер этого взаимодействия.

**Материалы и методы:** Пептид из сапропеля получали по разработанной нами методике. Для получения фибрин-мономера (ФМ), мы использовали фибриноген, растворённый в 0,075 М боратном буферном растворе. К 100 мл раствора фибриногена (6 г/л) добавляли 10 мл раствора тромбина (из расчёта 10 мг/1мл 0,9% раствора NaCl), инкубировали смесь белков 30 мин при температуре 37°C. После этого фибриновый сгусток собрали, высушили, поместили его в 70 мл 4 М раствора мочевины в ацетатном буферном растворе (рН=5,2) и перемешивали смесь до полного растворения сгустка. Процесс самосборки ФМ запускали снижая ионную силу в полученном растворе, добавляя к нему боратный буферный раствор. После разбавления (запуска полимеризации), фиксировали время образования фибрин-полимера на гемокоагулометре. При этом раствор пептида (2 мг/мл) добавляли в систему непосредственно при разбавлении ФМ (вместе с буфером), через 2,5 с.; 5с.; 7,5 с.; и 10 с. после разбавления ФМ буферным раствором (запуска самосборки). После добавления ингибитора фиксировали время образования сгустка и определяли эффективность торможения полимеризации.

**Результаты:** При добавлении пептида непосредственно с буферным раствором, наблюдается удлинение времени самосборки на 67%, в сравнении с контролем. При добавлении ингибитора через 2,5 секунды после снижения ионной силы, самосборка удлиняется на 20%. При добавлении ингибитора через 5; 7,5 и 10 секунд после инициации самосборки, не наблюдается существенных изменений времени самосборки ФМ, в сравнении с контролем.

**Заключение:** Механизм антикоагулянтного действия пептида из сапропеля обусловлен его специфическим взаимодействием ФМ в момент их образования и блокадой их аутополимеризации, поскольку при запуске самосборки ФМ, ингибитор не влияет на заключительные стадии самосборки.

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АКТИВНЫХ КОМПОНЕНТОВ ЭКСТРАКТОВ ПЛОДОВ ARONIA MELANOCARPA И SORBUS AUCUPARIA

**Бушмелева К.Н.<sup>1</sup>, Вышкательюк А.Б.<sup>2</sup>, Теренжев Д.А.<sup>1</sup>, Казимова К.Ш.<sup>3</sup>, Растегаев Е.К.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН ФИЦ «Казанский научный центр РАН», Казань, Россия; <sup>2</sup>ИОФХ им. А.Е. Арбузова - обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия;  
<sup>3</sup>ФГБОУ ВО Казанский национальный исследовательский технологический университет, Казань, Россия

*ks.bushmelewa09@yandex.ru*

Свободные радикалы являются важным звеном многих физиологических реакций в живых организмах, а также различных патологических процессов. Знание активности антиоксидантов и их источников может помочь в профилактике и терапии многих заболеваний, основанных на повреждающем действии свободных радикалов.

В этой работе изучена антиоксидантная активность водных и спиртовых экстрактов плодов биологической зрелости аронии черноплодной (*Aronia melanocarpa*) и рябины красной, или обыкновенной (*Sorbus aucuparia*) методом активированной



хемиллюминесценции (ХЛ) и адаптированном для прибора хемиллюминометр «Lum-100». В качестве веществ сравнения выступили соединения группы флавоноидов, такие как кверцетин и таксифолин, а также аскорбиновая кислота и тролокс – водорастворимый синтетический аналог витамина Е.

При добавлении антиоксиданта к аналитической системе АБАП/люминол, развитию ХЛ предшествует участок, в течение которого все радикалы расходуется на реакцию с антиоксидантом – латентный период. Для разных экстрактов были получены линейные градуировочные зависимости латентного периода от концентрации.

Добавление тролокса в систему приводит к полному подавлению ХЛ. Латентный период заканчивается быстрым ростом интенсивности свечения до уровня, соответствующего отсутствию антиоксиданта. Добавление кверцетина в систему в концентрациях, больших, чем  $10^{-4}$  г/мл, выявляет устойчивое подавление ХЛ, в меньших – обнаруживает дозозависимый участок латентного периода с дальнейшим прооксидантным эффектом. Такой характер влияния антиоксиданта на кинетику ХЛ наблюдался также для таксифолина и аскорбиновой кислоты.

Изучив действие различных концентраций рябины и аронии на кинетику ХЛ, можно обнаружить изменение скорости развития ХЛ, что свойственно кверцетину, но с незначительным снижением интенсивности ХЛ в конце. Оба исследуемых экстракта не проявили прооксидантных свойств. После исчерпания антиоксидантов уровень интенсивности свечения экстракта рябины красной выходил на плато, до уровня, соответствующего отсутствию антиоксиданта.

Экстракт аронии черноплодной, кроме того, что наблюдал латентный период, также проявлял уменьшение максимальной интенсивности свечения, аналогично действию тролокса. Экстракт плодов рябины не оказывал влияния на этот параметр.

Анализ кинетики ХЛ показал антиоксидантную активность растительных экстрактов, сравнимую с известными антиоксидантами полифенольной природы. Плоды исследованных видов растений могут стать перспективными источниками биологически активных соединений, чем используемые в настоящее время.

## АНАЛИЗ ПОЛНОЦЕННОСТИ КОРМЛЕНИЯ ЛОШАДЕЙ ПО БИОХИМИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ КРОВИ

**Быстрыкова М.С.<sup>1</sup>, Зарудная Е.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина

*bystryakova.m@gmail.com*

Полноценное кормление является одним из главных факторов, обеспечивающих продуктивность, работоспособность и здоровье организма. Одной из фундаментальных проблем коневодства является обеспеченность рационов спортивных лошадей питательными и биологически-активными веществами в соответствии с их потребностями.

Целью нашего исследования было оценить влияние состава рациона кормления лошадей на уровень биохимических показателей их крови. Объектом исследования служили 8 клинически здоровых лошадей 5-7-летнего возраста живой массой 400-450 кг, несущих ежедневную нагрузку в составе конного полка полиции. Кровь для исследований отбиралась через 20 дней эксперимента из яремной вены после 12 часов голодания. Измерения биохимических показателей сыворотки крови проводились на автоматическом



анализаторе URIT-8030 по стандартным методикам с использованием реагентов фирмы DiaSys (Германия). В период эксперимента все лошади содержались в одинаковых условиях и получали следующий суточный рацион: сено злаковое разнотравное (10 кг), морковь (1 кг), отруби пшеничные (1 кг), овес плющенный (6 кг).

Расчеты обеспеченности рациона питательными и биологически активными веществами (БАВ) в соответствии с нормами кормления показали, что он дефицитен по фосфору, микроэлементам (меди, цинку, кобальту, марганцу и йоду), жирорастворимым витаминам (дефицит вит. D более 80%, А - отсутствует) и витамину В12 (отсутствует); при избыточности рациона по энергии и клетчатке (более 40%). Биохимический анализ крови показал, что организм животных компенсаторно поддерживает уровень метаболически значимых веществ в пределах референтных значений. Обнаружена повышенная активность ЛДГ (405 U/L) и АсАТ (295 U/L), что при избыточности содержания протеина в рационе может свидетельствовать об активации белкового обмена и высокой нагрузке на печень.

Проведенный корреляционный анализ между содержанием питательных веществ и БАВ в рационе и биохимическими показателями крови выявил отрицательную корреляционную связь между концентрацией общего белка и глюкозы в крови и содержанием клетчатки в рационе. Интересно отметить, что содержание кальция в рационе не находит достоверного влияния на его концентрацию в крови, что может быть обусловлено несоблюдением пропорций содержания Са и Р в рационе и высокой активностью щелочной фосфатазы в крови.

## ГИПОХЛОРИТ-ИНДУЦИРОВАННАЯ ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ ПЛАЗМИНОГЕНА

**Васильева А.Д.<sup>1</sup>, Юрина Л.В.<sup>1</sup>, Щеголихин А.Н.<sup>1</sup>, Индейкина М.И.<sup>1,2</sup>, Леонова В.Б.<sup>1</sup>,  
Бирюкова М.И.<sup>1</sup>, Константинова Т.С.<sup>1</sup>, Бугрова А.Е.<sup>1</sup>, Кононихин А.С.<sup>1,3,2</sup>, Николаев  
Е.Н.<sup>1,3,4</sup>, Розенфельд М.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГАОУ ВО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Московская область, Россия; <sup>3</sup>ФГБУН Институт энергетических проблем химической физики имени В.Л. Тальрозе РАН, Москва; <sup>4</sup>Автономная некоммерческая образовательная организация высшего профессионального образования “Сколковский институт науки и технологий”, Сколково, Россия

*alexandra.d.vasilyeva@gmail.com*

Белки представляют собой высокочувствительные мишени для активных форм кислорода (АФК). Окислительные модификации могут вызывать нарушение структуры и механизма функционирования белковых молекул. Плазминоген, будучи предшественником плазмينا, основная функция которого заключается в осуществлении внутрисосудистого тромболиза, является полностью неизученным белком плазмы крови в отношении его посттрансляционных окислительных модификаций и, как следствие, структурных нарушений.

В данной работе было исследовано влияние гипохлорит-индуцированного окисления на плазминоген и плазмин - как на модификацию отдельных сайтов в первичной структуре белков, так и на перестройку вторичной структуры окисленного плазминогена,



а также на ферментативную активность плазмина, образованного из окисленного плазминогена.

В контрольном образце за счет автоокисления в процессе препаративного выделения плазминогена оказались умеренно окисленными четыре метиониновых остатка: Met182 в домене KR-2, Met404 в домене KR-4, Met585 и Met788 в SP домене. При слабом окислении плазминогена гипохлоритом (50 мкМ/л), был обнаружен дополнительно только один модифицированный остаток Met57, локализованный в N-концевом Par-домене, который в контрольном образце оставался немодифицированным. Полученные масс-спектрометрические данные свидетельствовали о том, что обработка плазминогена 150 мкМ/л HOCl, вовлекала в окисление значительное количество аминокислотных остатков. Кроме упомянутого ранее Met57 в Par-домене, были идентифицированы остатки Trp80 в домене KR-1, Met182 и Trp235 в домене KR-2, Trp325 в домене KR-3, Met385, Trp397, Met404 в домене KR-4, Trp523 в домене KR-5, Met585, Trp685, Trp761, Met788 в каталитическом домене.

Окисление плазмина сопровождалось образованием дополнительных сайтов окисления в белке, отсутствующих в окисленном плазминогене.

Данные ИК-спектроскопии показывают, что под действием окислителя на плазминоген его вторичная структура подверглась перестройкам, отражающимся в снижении содержания  $\alpha$ -спиралей,  $3^{10}$ -спиралей,  $\beta$ -поворотов и неструктурированных областей на фоне существенного увеличения  $\beta$ -складчатых листов.

Окислительные повреждения первичной и вторичной структуры плазминогена проявляются в снижении функциональной активности плазмина, полученного из окисленного плазминогена, что подтверждается результатами электрофореза.

Сделан вывод, что менее свернутая структура плазмина по сравнению с компактной структурой плазминогена становится более уязвимой для действия АФК.

## ВЗАИМОСВЯЗЬ ПЛОТНОСТИ МОЧИ ЖИВОТНЫХ С ОБРАЗОВАНИЕМ НЕРАСТВОРИМЫХ ОСАДКОВ

**Воронина О.А.<sup>1</sup>, Царькова М.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия

*VoroninaOk-senia@inbox.ru*

Моча представляет собой концентрированный раствор электролитов и целого ряда продуктов метаболизма, в котором высоки риски кристаллообразования. Для предотвращения кристаллообразования в моче здоровых животных предусмотрено наличие ряда ингибиторов кристаллизации (гликозаминогликаны, уромукоиды и др). При нарушении обмена веществ, избытке в рационе белка, пуринов, кальция, фосфора, магния и дефиците углеводов и витаминов риски кристаллообразования повышаются, что приводит к развитию уролитиаза или мочекаменной болезни. Количество растворенных веществ в моче, их величина и вес непосредственно влияют на относительную плотность мочи или коэффициент рефракции раствора. Показатель отражает степень, с которой световые волны проникают в раствор и преломляются растворенными веществами. Чем выше концентрация растворенных веществ, тем выше относительная плотность мочи. Взвешенные частицы (цилиндры, кристаллы и клетки) не влияют напрямую на индекс рефракции и относительную плотность, однако именно такие частицы служат «отправными точками кристаллизации». Целью данной работы было определить связь



между плотностью мочи и степенью риска образования неорганических осадков в образцах мочи кошек и собак.

Были исследованы образцы мочи кошек и собак. Всего исследовано 114 образцов мочи кошек и 100 образцов мочи собак. Все образцы поступили в утренние часы, получены неинвазивным методом. Формирование в группы шло в зависимости от плотности образца, всего сформировано по 5 групп для собак и кошек.

При исследовании мочи кошек оказалось, что чем выше относительная плотность мочи, тем меньше процент образцов мочи без осадков ( $1,012 \pm 0,004$  – 55%;  $1,021 \pm 0,003$  – 50%;  $1,032 \pm 0,003$  – 50%;  $1,042 \pm 0,002$  – 37,4%,  $1,050 \pm 0,002$  – 20,1%). При этом учащаются случаи обнаружения в моче трипельфосфатов от 25% в образцах со средней плотностью  $1,012 \pm 0,004$  до 63,3% в образцах со средней плотностью  $1,050 \pm 0,002$ . Такой закономерности не обнаружено для оксалатов кальция, мочевой кислоты и образцов со смешанными осадками. Т.о, подтвердилось предположение о том, что чем выше плотность мочи, тем выше риски образования неорганических осадков для трипельфосфатов. Собаки, в сравнении с кошками, менее подвержены риску кристаллообразования. Среди исследованных образцов мочи с относительной плотностью от 1,000 до 1,035 процент образцов без осадков составил 50%. В образцах с относительной плотностью  $1,049 \pm 0,004$  – 45%, а в группе с относительной плотностью  $1,042 \pm 0,003$  – 25%. Т.о., риски кристаллообразования, связанные с повышением концентрации мочи, более выражены у кошек, чем у собак.

## N-АЦИЛДОФАМИНЫ: НОВОЕ ПОЛЕ ДЛЯ ПОИСКА АНТИНЕОПЛАСТИЧЕСКИХ АГЕНТОВ

**Гамисония А.М.<sup>1,2</sup>, Акимов М.Г.<sup>1,2</sup>, Бобров М.Ю.<sup>1,2</sup>, Грецкая Н.М.<sup>2</sup>, Безуглов В.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУ НЦАГиП им. В.И.Кулакова, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН ИБХ РАН, Москва, Россия

*alyafonya@mail.ru*

N-ацилдофамины представляют собой семейство эндогенных амидных производных жирных кислот, действующих на ключевые белки каннабиноидно-ванилоидной системы. Было установлено, что соединения этой группы являются важнейшими биорегуляторами, обладающими широчайшим спектром действия и участвующими во многих физиологических и биохимических процессах. Среди всего многообразия функций N-ацилдофаминов особое внимание вызывает их способность оказывать существенное влияние на жизнеспособность клеток, вызывая гибель опухолевых клеток. Выяснение особенностей цитотоксического действия природных N-ацилдофаминов является актуальной задачей для понимания их роли в регуляции процессов в клетках, а также для раскрытия терапевтического потенциала этих соединений и их аналогов. Цель данной работы – оценить особенности цитотоксического действия природных ацилдофаминов и их аналогов на клетки неоплазий млекопитающих: феохромоцитомы крысы, рака молочной железы, клеток эндометрия и очагов эндометриоза.

Для оценки гибели клеток использовали МТТ тест. Для идентификации рецептора использовали ингибиторный анализ, метод фармакологической блокады и нокдаун с помощью siRNA. Для выяснения типа клеточной гибели использовали ингибиторы аутофагии и ингибиторы каспаз, флуоресцентный краситель ApoTRACЕ, анализ фрагментации ДНК, измерение активности каспаз, окраска аннексином-пропидием.



Для клеток феохромоцитомы PC12 N-ацилдофамины становились токсичными с LD<sub>50</sub> в диапазоне от 2 до 4 мкМ. Мишенью N-ацилдофаминов при индукции апоптоза в клетках феохромоцитомы крысы является рецептор GPR55. В свою очередь, для клеток рака молочной железы MDA-MB-231 N-ацилдофамины становились токсичными с LD<sub>50</sub> в диапазоне от 70 до 82 мкМ, а мишенью при индукции апоптоза в клетках молочной железы человека является также рецептор GPR55. N-ацилдофамины в концентрациях от 2 до 4 мкМ индуцируют апоптоз по внутреннему пути активации в стромальных клетках эктопического эндометрия из очагов эндометриоза за счет активации рецептора CB1, и являются в семь раз менее токсичными агентами для клеток нормального эутопического эндометрия, также индуцируя апоптоз через CB1. Для клеток фибробластов человека BJ-5ta N-ацилдофамины токсичны с LD<sub>50</sub> в диапазоне от 47 до 76 мкМ. Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что N-ацилдофамины, обладающие специфическим цитотоксическим действием по отношению к патологически пролиферирующим клеткам различного гистологического происхождения, могут рассматриваться в качестве потенциальных антинеопластических агентов.

## РОЛЬ ИЗОФЕРМЕНТОВ ДЕКАРБОКСИЛИРУЮЩЕЙ МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В АДАПТИВНОЙ РЕАКЦИИ КЛЕТОЧНОГО МЕТАБОЛИЗМА ПРИ ГИПОКСИИ.

**Гатауллина М.О.<sup>1</sup>, Грибанова А.Е.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

*marina.gataullina@gmail.com*

Малик энзимы катализируют превращение малата в пируват, что приводит к выделению углекислого газа. НАДФ-малик энзим (МЭ, К.Ф.1.1.1.40), определяется преимущественным использованием НАДФН в качестве кофактора и способностью декарбоксиллировать оксалоацетат. НАД – малик энзим (МЭ, К.Ф.1.1.1.39) катализирует ту же реакцию, но кофактором является НАДН. Целью работы являлось изучение работы данных ферментов в условии гипоксии, а также молекулярные и эпигенетические аспекты ее регуляции.

В качестве объекта исследования использовались проростки кукурузы (*Zea mays L.*) с. Воронежская 76, выращенные гидропонным способом. Для моделирования условий гипоксии применялась инкубация растений с удаленной корневой системой в камере с азотом и углекислым газом в течение 24 часов. В качестве контроля использовались растения в камере с воздухом (21% кислорода).

В мезофилле листьев кукурузы функционирует только одна форма НАДФ-МЭ, и две изоформы НАД-МЭ. При этом активность НАДФ-МЭ, как и относительный уровень транскриптов его гена (Gene ID: 542233) при инкубации в азоте и углекислом газе имеют куполообразную форму с максимумом после 6 (для углекислого газа) и 12 (для азота) часов. Похожая картина наблюдается и для общей активности НАД-МЭ, где максимальная активность фермента проявляется после 6 часов инкубации углекислого газа или азота. При этом, анализ уровня обратных транскриптов показал, углекислый газ приводит к угнетению транскрипционной активности гена НАД-МЭ1 (Gene ID: 100501486), а азот – гена НАД-МЭ2 (Gene ID: 100191942). Изменение степени метилирования никак не влияет на работу генов как НАД, так и НАДФ-малик энзимов.

Таким образом, по-видимому адаптивные функции НАД-МЭ при воздействии углекислого газа берет на себя первая изоформа, а при воздействии азота – вторая.



Регуляция экспрессии всех трех генов не связана с эпигенетическими механизмами метилирования их промоторов.

## ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА С ЦЕРУЛОПЛАЗМИНОМ *IN VITRO*

**Грищук И.В.<sup>1</sup>, Ильичева Е.Ю.<sup>2,3</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург Россия; <sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики», Санкт-Петербург Россия;

<sup>3</sup>ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург Россия

*ivan.grishchuk@icloud.com*

В настоящее время наночастицы различных металлов широко используются в науке, технике и повседневной жизни. Одними из самых распространенных являются наночастицы серебра (AgNP). Благодаря своим антибактериальным свойствам, они применяются при производстве средств личной гигиены, перевязочных материалов, мазей и хирургических инструментов. При этом действие AgNP на организм млекопитающих практически не исследовано. В то же время известно, что серебро, связываясь с медь-транспортными белками, транспортируется по тем же путям, что и медь, к местам формирования купроэнзимов, в частности, в церулоплазмин (ЦП, мультимедную голубую (ферро)оксидазу, основной медьтранспортный белок сыворотки крови млекопитающих). Такое замещение может вызывать серьезные последствия для организма, так как медь является кофактором многих жизненно-важных ферментов. Целью данной работы было исследование возможности встраивания атомов серебра из сферических AgNP, приготовленных из нитрата серебра с использованием  $\beta$ -циклодекстрина, размерами 10, 20 и 70 нм в ЦП *in vitro*. Помимо ЦП в рассмотрение был взят альбумин, также способный связывать медь. Концентрация выбранных белков была подобрана для четкого спектрофотометрического определения полосы поглощения 610 нм, характерной для ЦП и составила 6 мг/мл. Инкубацию с AgNP (в концентрациях в районе 40 мкМ) проводили в течение 72 часов, периодически записывая спектры поглощения и отбирая образцы для биохимического анализа. Полученные результаты показали, что добавление AgNP приводит к появлению в спектрах ЦП и альбумина дополнительного пика с максимумом 410 нм, характерного для AgNP. В течение дальнейших 72 часов изменений в спектрах поглощения белков не происходит: сохраняются пики с максимумом 280 и 410 нм, а также пик с максимумом 610 нм, характерный для ЦП. Последующее центрифугирование образцов в течение трех часов при 30000g приводит к полному осаждению AgNP и восстановлению первоначальных спектров. Результаты биохимического анализа препаратов полностью подтвердили полученные ранее результаты. В ходе инкубации альбумина и ЦП с AgNP содержание белка по данным электрофоретического анализа, а также оксидазная активность ЦП, исследованная в ПААГ с использованием хромогенного субстрата, не изменяются. Таким образом, мы показали, что серебро из AgNP неспособно встраиваться в ЦП и альбумин *in vitro*. Ионы серебра замещают ионы меди в ЦП, только метаболически при созревании ЦП в аппарате Гольджи.





## ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ИНТАКТНЫХ МИТОХОНДРИЙ ЛЕТАТЕЛЬНЫХ МЫШЦ ПЧЁЛ (*APIS MELLIFERA L.*)

**Деревщикова М.И.<sup>1</sup>, Саблина И.И.<sup>1</sup>, Сыромятников М.Ю.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

*mihan.vrn@mail.ru*

Летательные мышцы насекомых являются уникальным объектом. Достоверно известно, что у насекомых в летательных мышцах во время полета самый высокий уровень метаболизма в соотношении с весом их тела из всех известных животных. До настоящего времени не проводились работы по исследованию функционирования изолированных митохондрий из летательных мышц медоносных пчёл (*Apis mellifera L.*), несмотря на то, что эти насекомые имеют высокую хозяйственную значимость. Целью работы было изучение биоэнергетических характеристик интактных митохондрий летательных мышц *Apis mellifera L.*

Был разработан метод изоляции митохондрий из летательных мышц пчёл. Показано, что для получения интактных митохондрий необходимо использовать гомогенизатор типа Dounce с величиной зазора пестик-стакан 0,1-0,17 мм. Было исследовано влияние различных органических субстратов на митохондриальное дыхание в присутствии или отсутствии АДФ. Было продемонстрировано, что пируват является оптимальным субстратом для сопряженного дыхания (дыхательный контроль - 12,71), а комбинация пирувата и глутамата характеризовалась максимальной скоростью дыхания (352,9 нмоль O<sub>2</sub>/мин/мг белка). Показано, что окисление сукцината не было связано с окислительным фосфорилированием и образованием мембранного потенциала, что, вероятно, обусловлено низкой скоростью работы переносчиков ди- и трикарбоксилатов во внутренней мембране митохондрий. Выявлены особенности продукции активных форм кислорода. Наибольшее образование H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (в процентах от скорости потребления кислорода) в отсутствие АДФ наблюдается во время дыхания на субстрате малат (2,6 %) или комбинацией малата с другим NAD-связанным субстратами. Было показано, что митохондрии летательных мышц пчёл не способны поглощать ионы кальция. Кроме того, было выявлено, что митохондрии *Apis mellifera* способны эффективно окислять субстраты дыхания при температуре 50°C по сравнению с митохондриями *Bombus terrestris*, которые были более приспособлены к низким температурам.

Работа поддержана грантом РФФИ (соглашение 18-76-00027).

## СВОЙСТВА И ФУНКЦИИ КЛЮЧЕВЫХ ФЕРМЕНТОВ СЕРИНОВОГО ЦИКЛА

**Егорова С.В.<sup>1</sup>, Бут С.Ю.<sup>1</sup>**

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

*bohemiahrhapsody12345@gmail.com*

Метанотрофы – физиологическая группа аэробных бактерий, использующих метан и метанол в качестве источников углерода и энергии. Метанотрофы получают энергию, окисляя C1-субстрат до CO<sub>2</sub> и ассимилируют углерод на уровне формальдегида, формата



и/или CO<sub>2</sub> посредством трех биохимических путей - серинового, рибулозомонофосфатного (РМФ) или рибулозобисфосфатного (РБФ). Несмотря на интенсивные исследования C1 метаболизма в бактериях, роль серинового цикла в метанотрофах изучена слабо. Анализ секвенированных геномов показывает присутствие генов, кодирующих ферменты серинового пути у большинства метанотрофов и не растущих на метане метиловых бактерий, включая штаммы, ассимилирующие углерод главным образом через РМФ путь и/или цикл Кальвина. При этом роль серинового цикла у метанотрофов I и X типов остается невыясненной.

Гены гидроксипироватредуктаз и серин-глиоксилат аминотрансфераз были обнаружены во всех доступных геномах метанотрофных бактерий, за исключением представителей филума *Verrucomicrobia*, реализующих РБФ-путь. Клонированием и гетерологичной экспрессией в *E. coli* нами были получены рекомбинантные препараты серин-глиоксилат аминотрансфераз и гидроксипироватредуктаз из *Methylomicrobium alcaliphilum* 20Z (метанотроф I типа), *Methylosinus trichosporium* OV3b (метанотроф II типа) и *Methylococcus capsulatus* Bath (метанотроф X типа) и изучены их биохимические свойства.

Sga изучаемых метанотрофов демонстрировала схожие свойства и имела самую высокую каталитическую эффективность в реакции между глиоксилатом и серином, что соответствует ее функции для обеспечения циркуляции пути ассимиляции серина. Поэтому можно предположить, что серин-глиоксилат аминотрансфераза не является точкой для регуляции серинового цикла в метанотрофах, относящихся к разным типам.

В тоже время, кинетические параметры Hrg штаммов 20Z и OV3b дают основания полагать, что регуляция серинового цикла происходит на уровне активности именно этого фермента.

Методом инсерционного мутагенеза был получен штамм *Mm. alcaliphilum* с инактивированным геном *mcl*. Полученный мутантный штамм не имел роста без добавления глицина в питательную среду. Следовательно, у *Mm. alcaliphilum* через сериновый цикл осуществляется регенерация глицина из глиоксилата.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №17-04-01113.

## ПОЛУЧЕНИЕ HSP90-СПЕЦИФИЧЕСКИХ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ И ОЦЕНКА ИХ ПОТЕНЦИАЛА ДЛЯ СОЗДАНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ИММУНОТОКСИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

**Жмурина М.А.<sup>1</sup>, Снигирева А.В.<sup>1</sup>, Петренко В.С.<sup>1</sup>, Жалимов В.К.<sup>1</sup>, Врублевская В.В.<sup>1</sup>,  
Скарга Ю.Ю.<sup>1</sup>, Моренков О.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН

*mariya100694@gmail.com*

Белок теплового шока Hsp90, кроме выполнения важных внутриклеточных функций, экспрессируется на поверхности клетки и активно секретруется, участвуя в процессах миграции, инвазии и метастазирования опухолевых клеток. Экспрессия Hsp90 на плазматической мембране существенно повышена у опухолевых клеток, что делает Hsp90 перспективной молекулярной мишенью для противоопухолевой иммунотерапии, основанной на Hsp90-специфических антителах. Целью данной работы было получение моноклональных антител к Hsp90 и оценка их потенциала для создания иммунотоксических противоопухолевых препаратов.



Получена и охарактеризована панель мышинных моноклональных антител, специфичных к альфа и бета изоформам Hsp90 человека. Эпитопы полученных антител картировались в N- и M-доменах Hsp90. С помощью проточной цитофлуориметрии и конфокальной микроскопии показано, что Hsp90-специфические антитела связывались с мембрана-ассоциированным Hsp90 клеток фибросаркомы HT1080 и глиобластомы A-172 человека и активно интернализировались клетками при 37°C. С использованием гетеробифункционального агента Sulfo-SMCC синтезированы конъюгаты Hsp90-специфических антител с широко известным токсическим соединением мертанзином (DM1), ингибирующим в клетках процесс сборки микротрубочек. Полученные конъюгаты антитело-DM1 сохраняли реактивность с Hsp90 в иммуноферментном анализе, что свидетельствовало о сохранении активности антител. Показана цитотоксичность конъюгатов антитело-DM1 в отношении клеток HT1080 и A-172, в то время как токсический эффект конъюгатов на неопухолевые клетки наблюдался при существенно более высоких концентрациях. Полученные результаты свидетельствуют о существенном потенциале Hsp90-специфических антител для создания противоопухолевых иммунотоксических препаратов.

#### ВЛИЯНИЕ СОВМЕСТНОГО ВВЕДЕНИЯ ВИТАМИНОВ С И Е НА СОДЕРЖАНИЕ ТИОЛОВЫХ ГРУПП В БЕЛКАХ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ КРЫС ПРИ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

**Исабекова П.Ш.<sup>1</sup>, Алиева Д.М.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

*patyla999@gmail.com*

На сегодняшний день сосудистые заболевания головного мозга являются, бесспорно, актуальной медико-социальной проблемой в обществе, так как остаются одной из ведущих причин потери трудоспособности, инвалидизации и летального исхода населения. В патогенезе церебральной ишемии большое внимание уделяется процессам свободно-радикального окисления. Уровень тиоловых групп является одним из маркеров окислительного стресса, при котором эти группы окисляются, в результате чего образуются дисульфиды.

Целью проведенной работы было изучение влияния совместного введения витаминов С и Е на содержание тиоловых групп в белке полосы 3 (БП3) мембран эритроцитов крыс при окклюзии сонных артерий. Эксперименты проведены на белых беспородных крысах, массой 200 – 250 г. Животные были разделены на 4 группы: 1) интактные крысы; 2) ложноперированные крысы; 3) крысы с ишемией головного мозга, 4) крысы с ишемией головного мозга, которым в течении 7 дней до операции вводили витамины С и Е.

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что при ишемии содержание SH-групп в БП3 снижается относительно контроля и ложной операции. Вероятно, при ишемии снижается содержание доступных сульфгидрильных групп, и образующиеся при этом дисульфиды способствуют агрегации белков эритроцитарных мембран, что приводит к потере функциональных свойств мембран. По нашим данным совместное введение витаминов С и Е приводит к увеличению содержания тиоловых групп в БП3, что свидетельствует о том, что эти витамины могут защищать мембраны эритроцитов от окислительного стресса. И действительно, ранее было показано, что сочетанное введение



этих антиоксидантных витаминов препятствует повышению степени окислительной модификации мембран эритроцитов.

## ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ГЛИКОЛАТОКСИДАЗЫ И ЛАКТАДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ХЛОРЕЛЛЕ ОБЫКНОВЕННОЙ (*CHLORELLA VULGARIS*), КУЛЬТИВИРУЕМОЙ В РАЗНЫХ УСЛОВИЯХ

**Комарова Н.Р.<sup>1</sup>, Ковалёва Е.В.<sup>1</sup>, Миткевич А.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

*nad1989@mail.ru*

Гликолатоксидаза (ГО, КФ 1.1.3.15) высших растений окисляет различные 2-гидроксикислоты, хотя более специфична к гликолату. В катализируемой реакции электронный перенос с гликолата связан с участием флавиномононуклеотида – акцептором, с которого электроны далее переходят на кислород с образованием пероксида водорода, который затем разлагается каталазой. Фермент ГО был выделен преимущественно из С<sub>3</sub>-растений и некоторых С<sub>4</sub>-растений. Лактатдегидрогеназа (ЛДГ, КФ 1.1.1.27) катализирует реакцию взаимопревращения лактата и пирувата, сопровождаемую изменением НАДН и НАД<sup>+</sup>. Также ЛДГ является маркерным ферментом гипоксии. Обнаружение генов гликолатоксидазы и лактатдегидрогеназы в *Chlorella variabilis*, позволило предположить присутствие генов данных ферментов и в *Chlorella vulgaris*. В связи с этим целью работы было выявление и изучение особенностей функционирования ГО и ЛДГ у низших растений на свету, в темноте и на свету при недостатке кислорода. В качестве объектов исследований были выбраны *Chlorella vulgaris*. Активность ферментов ГО и ЛДГ определялась спектрофотометрически. В качестве субстратов реакции ГО использовали гликолат и лактат. Активность фермента ЛДГ измеряли по скорости окисления НАДН. Растения, инкубированные на свету на протяжении всего эксперимента – использовали в качестве контроля. Первая часть опытных образцов выдерживалась на свету 7 дней, и далее была помещена в темноту до окончания опыта, вторая часть - была инкубированна в гипоксических условиях. Общая активность ГО в темноте была ниже в 1,3 раза, чем на свету. Интересно отметить, что активность фермента при использовании лактата в качестве субстрата была выше в 3-4 раза. Также общая активность ГО снижалась в 2-3 раза во время гипоксии, что, вероятно, связано с участием кислорода в окислении субстратов катализируемой реакции. Показатели общей активности ЛДГ на свету и в темноте существенно не отличались друг от друга на протяжении всего времени эксперимента. Величина общей активности ЛДГ значительно возрастала в гипоксических пробах на 5 и 6 сутки инкубирования. Таким образом, выявлены специфические особенности функционирования изучаемых ферментов при росте и развитии хлореллы в разных условиях культивирования.



## АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ПЕПТИДОВ КАЗЕИНОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ МОЛОКА ТРАНСГЕННЫХ КОЗ

**Костеневич А.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ГНУ Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск,  
Республика Беларусь

*a.kastsianevich@gmail.com*

В настоящее время получены протеолитическим расщеплением казеинов трипсином пептиды, влияющие на сердечно-сосудистую систему (антитромботические и антигипертензивные), нервную (антагонисты и агонисты опиодных рецепторов), пищеварительную (казофосфопептиды, гликомакропептиды) и иммунную.

Пептиды казеина проявляют антимикробную активность против многих грамположительных и грамотрицательных бактерий. Так, пептиды  $\alpha$ -казеина ингибировали рост патогенных *Bacillus cereus* и *Escherichia coli*, в то же время способствуя росту пробиотических *Lactobacillus acidophilus*.  $\alpha$ -S<sub>2</sub>-Казеин f(183–207) также проявляет активность против такого возбудителя заболеваний, как *Cronobacter sakazakii*.

Антимикробная активность отмечена для коммерческого препарата BioPURE-GMP, содержащего гликомакропептид из  $\kappa$ -казеина; для профилактики кариеса применяются содержащие фосфопептиды казеина Recaldent, GC tooth mousse, MI paste и Trident extra care.

В лаборатории белка с лабораторно-экспериментальным участком Института микробиологии НАН Беларуси осуществляется выделение рекомбинантного человеческого лактоферрина из молока трансгенных коз. Побочными продуктами данной технологии являются казеины, образующиеся после стадии микрофльтрации. Основываясь на принципах ресурсо- и энергосбережения, целесообразным является использование казеинов в качестве источника получения биологически активных пептидов.

В качестве модельных объектов для проверки антибактериальной активности пептидов использовали культуры грамположительных бактерий рода *Amycolatopsis*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Geobacillus*, *Micrococcus*, *Nocardia*, *Oerskovia*, *Sporosarcina*, *Streptomyces* и грамотрицательных бактерий *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Pseudomonas Serratia* из фонда Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов. Для ферментативного гидролиза готовили исходный раствор казеина в концентрации 10 мг/мл. Гидролиз проводили с использованием трипсина. Для определения антибактериальной активности использовали луночный диффузионный метод.

Установлено, что полученные с помощью трипсина пептиды казеинов обладали антибактериальной активностью в отношении 5 бактериальных штаммов: *Bacillus amyloliquefaciens* БИМ В-278, *B.sphaericus* БИМ В-395, *B.sphaericus* БИМ В-396, *E.coli* БИМ В-378 и *Micrococcus luteus* БИМ В-498; Зона задержки роста отмечена в диапазоне 1,0–1,9 см. Максимальная чувствительность к пептидам казеина отмечена у *B. amyloliquefaciens* БИМ В-278, где зона задержки роста составила 1,8–1,9 см. Дальнейшие исследования будут направлены на идентификацию полученных пептидов.



ХАРАКТЕРИСТИКА ФУМАРАЗЫ С ИЗ ОБЛИГАТНОГО МЕТАНОТРОФА  
*METHYLOMICROBIUM ALCALIPHILUM* 20Z

Розова О.Н.<sup>1</sup>, Мельников О.И.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ ПНЦ БИ ИБФМ РАН, Пущино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия

*oleg96mel@gmail.com*

Фумараза является ферментом цикла Кребса, катализируя гидратацию фумарата с образованием малата. Фумараза в живом мире представлена двумя биохимически различными классами *A* и *C*. Фумаразы класса *A* являются термолабильными, чувствительны к кислороду и имеют 4Fe-4S кластер в активном центре. Тогда как фумаразы класса *C* термостабильны, не чувствительны к кислороду и не имеют железосерного кластера. Целью данной работы являлось изучить свойства рекомбинантной фумаразы *C* из галоалкалофильного метанотрофа *Methylomicrobium alcaliphilum* 20Z. Методом клонирования и гетерологичной экспрессии в клетках *E. coli* BL21(DE3) гена *fumC* и последующей аффинной хроматографии на Ni-NTA агарозе был получен рекомбинантный фермент, несущий на C-конце навеску из 6 гистидинов.

Фумараза *C* из *M. alcaliphilum* обратимо катализовала превращение фумарата в малат с максимальной активностью 42 Е/мг белка в направлении образования малата и 29 Е/мг белка в обратной реакции (дегидратации малата до фумарата). Фумараза *C* работала в широком диапазоне рН (от 6 до 9) с оптимум рН 8,5 в реакции гидратации фумарата и 8,0 в обратном направлении. Температурный оптимум фермента составил 50°C. При оптимальном рН и 30°C (оптимум роста культуры) значение кажущейся  $K_m$  для фумарата составило  $(0,36 \pm 0,045)$  мМ. В направлении дегидратации малата фермент не подчинялся кинетике Михаэлиса-Ментен, коэффициент Хилла  $n$  составил  $1,96 \pm 0,55$ , а константа  $S_{0,5}$  для малата -  $(0,47 \pm 0,08)$  мМ. В присутствии одновалентных катионов  $K^+$ ,  $NH_4^+$  и  $Na^+$  активность фумаразы *C* увеличивалась почти в 2 раза. Ионы  $Cu^{2+}$  практически полностью ингибировали активность фермента, а  $Zn^{2+}$  и  $Cd^{2+}$  снижали его активность на 78 и 50%, соответственно. Ионы  $Mg^{2+}$  и  $Ca^{2+}$  не оказывали существенного влияния на гидратацию фумарата.

На активность фумаразы *C* существенно влияли различные интермедиаты метаболизма *M. alcaliphilum*. Сукцинат, изоцитрат, цитрат, ФЕП и серин ингибировали активность фермента. В присутствии фруктозо-1,6-бисфосфата,  $\alpha$ -кетоглутората, глицина, пиррофосфата, гидроксипирувата, лактата, оксалоацетата и пирувата активность фермента увеличивалась в 1,5 – 2 раза.

Помимо фумаразы *C* у *M. alcaliphilum* обладает также фумаразой *A*, имеющей всего 10% идентичности транслированных аминокислотных последовательностей с фумаразой *C*. Фумараза *A* из *M. alcaliphilum* имеет 70% идентичности с ферментом из *Burkholderia xenovorans*, проявляющим большую специфичность к мезаконату, чем к фумарату.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№ 18-04-00771).



## ВЛИЯНИЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ КАВЕОЛИНА-1 НА ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С БЕЛКАМИ СЕМЕЙСТВА НЕЙРОНАЛЬНЫХ КАЛЬЦИЕВЫХ СЕНСОРОВ В ФОТОРЕЦЕПТОРНОЙ КЛЕТКЕ

**Михайлова И.В.<sup>1,2</sup>, Владимир В.И.<sup>1</sup>, Зерний Е.Ю.<sup>3</sup>, Зинченко Д.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Филиал ФГБУН Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Пущино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия; <sup>3</sup>НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*rinarowing@mail.ru*

Ключевые аспекты функционирования нейронов регулируются за счет действия сигнальных механизмов, в основе которых лежат изменения концентрации внутриклеточного кальция. Различные по своей интенсивности и продолжительности, эти изменения активируют множество сигнальных путей, приводящих к конкретным физиологическим эффектам. Разнообразие событий, регулируемых ионами кальция в зрительной системе, обеспечивается за счет действия нейрональных кальциевых сенсоров (НКС) – семейства кальций-связывающих белков, способных в ответ на связывание катиона модулировать активность эффекторных белков, тем самым, преобразуя сигналы кальция в широкий спектр клеточных ответов. Как известно, фоторецепторные НКС взаимодействуют с кавеолином-1, представителем семейства трансмембранных белков, обладающих регуляторной активностью в отношении различных сигнальных партнёров. Кавеолин-1 может быть фосфорилирован по аминокислотному остатку тирозин-14, что, как известно, изменяет его функциональную активность. В этой работе мы исследовали, как имитация фосфорилирования кавеолина-1 (замена аминокислоты тирозина-14, на глутаминовую кислоту) влияет на взаимодействие с белками НКС - рековерин, димер рековерина, рековерин С39D (имитация полностью окисленного состояния), GCAP-1, и GCAP-2.

В ходе работы было установлено, что все исследуемые НКС лучше взаимодействуют с мимиком фосфорилированного кавеолина-1, чем с нативной формой белка, а также, что это взаимодействие более выражено в отсутствии ионов кальция. Рековерин С39D и димер рековерина демонстрируют более сильное связывание с обеими формами кавеолина-1, чем рековерин дикого типа. Как известно, окислительный стресс является триггером, активирующим фосфорилирование кавеолина-1 в различных системах организма, что приводит к различным физиологическим эффектам, вплоть до активации апоптотических сигнальных путей. В фоторецепторной клетке окислительный стресс приводит к димеризации рековерина, что играет важную роль в дегенерации сетчатки, но молекулярные механизмы, лежащие в основе этого процесса, ещё не до конца изучены. Полученные в данной работе результаты позволяют лучше понять функционирование белков семейства НКС в фоторецепторной клетке в норме, и при патологическом состоянии, вызванном окислительным стрессом.



## СТИМУЛЯЦИЯ ГЕМОПОЭЗА У ЭМБРИОНОВ КУР КАК СПОСОБ ОПТИМИЗАЦИИ МЕХАНИЗМОВ АДАПТАЦИИ

**Монстакова Т.В.<sup>1</sup>, Кочиш И.И.<sup>1</sup>, Азарнова Т.О.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия

*tommi@list.ru*

Процессы адаптации неразрывно связаны с резистентностью организма. В свою очередь, качество становления и их реализация обеспечивают поддержание гомеостаза.

Основопологающим аспектом, определяющим успех вышеуказанных процессов, является качество и интенсивность гемопоэза. Так, полноценность красных кровяных клеток определяет полноценность питания и дыхания внутренних органов, а вместе с тем успех их становления и реализации функциональности в дальнейшем.

По данным Луговской С.А. (2006) эритроциты особенно восприимчивы действию стрессоров, в этой связи необходимость профилактики негативных последствий их воздействий не вызывают сомнений.

С этой целью широко используют различные БАВ, обладающие антиоксидантными свойствами. Синтезированный нами препарат глицината кобальта отвечает данным требованиям. Известно, что компоненты указанного вещества также стимулируют процессы кроветворения, в том числе участвуя в процессах синтеза гемма.

Цель работы – изучить возможность стимуляции гемопоэза у эмбрионов кур, как способа оптимизации механизмов адаптации.

Эксперимент проводили в условиях ФГУП ППЗ «Птичное» на яйцах кур кросса «Шейвер-браун», подобранных по принципу аналогов. Опытную группу до инкубации обрабатывали ранее выявленным оптимальным раствором синтезированного нами препарата глицината кобальта. Все исследования проводили по общепринятым методикам.

Использование указанного БАВ повлияло на интенсивность свободно-радикальных, а вместе с тем липопероксидных процессов, что выразилось в снижении содержания токсичных продуктов ПОЛ, в частности - с изолированными двойными связями на 9,86% , диеновых конъюгатов в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ), триеновых и оксодиеновых конъюгатов на 2,24% и на 23,36% , и оснований Шиффа на 11%, соответственно, при достоверном повышении антиоксидантной активности в сыворотке крови на 28,26% ( $p < 0,01$ ).

Вышеуказанное определило сохранение целостности эритроцитов, что выразилось в увеличении их количества на 8,9% ( $p < 0,05$ ), содержания гемоглобина на 13,76% ( $p < 0,05$ ), индекса соотношения лейкоцитов и СОЭ на 1,71 (последнее указывает на оптимизацию процессов деформируемости эритроцитов), следовательно более высокую их функциональность.

Препарат оказал позитивное влияние не только на показатели красной крови. Так, индекс соотношения лимфоцитов и гетерофилов был на 0,11 больше, чем в контроле, что по данным Ж.Г.Мустафиной (1999) указывает на более высокую общую резистентность особей. Об этом же свидетельствует увеличение активности лизоцима на 12,75% ( $p < 0,01$ ) и бактерицидной активности сыворотки крови на 5,5%, соответственно.

Полученные данные определили получение более качественного и жизнеспособного молодняка суточного возраста (превосходство по шкале «Пасгар» и «Оптистарт» составило 0,8 ( $P < 0,05$ ) и 0,9 ( $P < 0,01$ ) балла, соответственно; вывод цыплят и выводимость яиц превосходили контроль на 5,60% ( $p < 0,05$ ) и 6,62 % ( $p < 0,05$ ), соответственно).





## НОВЫЙ ФЛУОРОГЕННЫЙ МЕТОД ИЗМЕРЕНИЯ АКТИВНОСТИ ХОЛИНЭСТЕРАЗ

**Мухаметгалиева А.Р.<sup>1</sup>, Агьямова А.Р.<sup>1</sup>, Фаттахова А.Н.<sup>1</sup>, Массон П.<sup>1</sup>**

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

*aliya\_rafikovna@mail.ru*

Известно, что ацетилхолинэстераза (АХЭ; ЕС. 3.1.1.7) и бутирилхолинэстераза (БХЭ; ЕС. 3.1.1.8) имеют физиологическое, токсикологическое и фармакологическое значение. Классическим методом определения кинетических констант является фотометрический метод Элмана, который основан на взаимодействии тиохолина и 5,5'-дитиобис-2-нитробензойной кислоты (ДТНБ) и образованием окрашенного соединения для выявления активности АХЭ. Этот метод был предложен еще в конце XX столетия, однако и сейчас его традиционно используют для измерения кинетики холинэстераз. Но существует потребность в разработке современных методов для измерений активности холинэстераз в биологических средах.

В качестве кофактора мы использовали флуорогенный тиоловый зонд «Calbiochem probe IV» вместо ДТНБ, который быстро реагирует с тиохолином с образованием флуоресцентного соединения (при  $\lambda_{ex} = 400$  нм и  $\lambda_{em} = 465$  нм). Модельным ферментом являлась БХЭ плазмы человека, субстратом – бутирилтиохолин (БТХ). Все измерения проводились на микропланшетном ридере Infinite F Plex (Tecan, Австрия), поэтому, по нашим данным новый флуорогенный метод чувствительнее метода Элмана в 10 раз. Метод позволяет проводить измерения активности фермента в средах с низкими концентрациями субстрата, по уравнению Михаэлиса-Ментен. Значения  $K_M$  для бутирилтиохолина составило  $0,03 \pm 0,003$  мМ. Полученные нами эмпирические величины  $K_M$  сопоставимы с данными, опубликованными в научной литературе. Таким образом, разработанный флуорогенный метод позволит рассчитать каталитические параметры для низких концентраций субстратов, сопоставимым с дозами эндогенного ацетилхолина.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №17-14-01097).

## С-КОНЦЕВОЙ ДОМЕН ГЕМОЛИЗИНА II В. CEREUS

**Нагель А.С.<sup>1</sup>, Ковалевская Ж.И.<sup>1</sup>, Сиунов А.В.<sup>1</sup>, Каратовская А.П.<sup>2</sup>, Замятина А.В.<sup>3</sup>,  
Руденко Н.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ ИБФМ РАН, Пущино, Россия; <sup>2</sup>Филиал ФГБУН ИБХ, Пущино, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия

*anagell@mail.ru*

Способность продуцировать порообразующие токсины - серьезное конкурентное преимущество микробов в ходе эволюционного развития. Спорообразующие бактерии *Bacillus cereus* характеризуются различной степенью патогенности и могут существовать в разных условиях окружающей среды от почвы до инфицирования высших организмов. Порообразующие цитолитические токсины - один из важнейших патогенных факторов этих бактерий. Эти токсины имеют белковую природу и секретируются в окружающую среду в виде мономеров и олигомеризуются с образованием трансмембранных нанопор, свободно пропускающих ионы и другие низкомолекулярные вещества, лизируя клетки.



Многие токсины содержат домены, которые помогают распознавать специфические молекулярные эпитопы на мембранах клеток-мишеней. В данном исследовании изучен С-концевой домен гемолизина II (HlyII) *Bacillus cereus*. Этот белковый домен, размером 94 аминокислотных остатка (10 кДа) присутствует в гемолизине II и при анализе базы данных к настоящему времени гомологичный или близкий по структуре белок не обнаружен. В растворе С-концевой домен (СТД) способен образовывать уникальные бочкообразные бета-складчатые олигомерные цис- и транс- изомерные формы. В ходе выполнения данной работы сконструирован делеционный вариант гемолизина II без СТД и исследованы его свойства. Получен штамм *E. coli* BL21 – продуцент СТД с 6 гистиридиновыми аминокислотными остатками на С-конце и разработана схема его очистки. Продемонстрирована способность СТД олигомеризоваться в отсутствие липидной мембраны и образовывать трехмерные структуры в 4М мочеvine. Показана его ключевая роль для гемолитической активности интактного токсина. Получены моноклональные антитела к С-концевому домену. Результаты данной работы могут быть полезны не только для разработки вакцин, но при создании биосенсоров, биореакторов и других нанотехнологических устройств.

Работа поддержана грантом РФФИ 19-04-00592.

#### ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ИЗОФОРМ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ В НЕОКОРТЕКСЕ И ГИПОКАМПЕ МОДЕЛЬНЫХ МЫШЕЙ СО СПОРАДИЧЕСКОЙ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИЕЙ АЛЬЦГЕЙМЕРОВСКОГО ТИПА

**Носова М.В.<sup>1</sup>, Аветисян А.В.<sup>2</sup>, Зарудная Е.Н.<sup>1</sup>, Симонян Р.А.<sup>2</sup>, Некрасов П.В.<sup>3</sup>, Короев Д.О.<sup>4</sup>, Зиновкин Р.А.<sup>2</sup>, Вольпина О.М.<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>1ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия; <sup>2</sup>НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия; <sup>3</sup>ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ ИБК РАН, Пущино, Россия; <sup>4</sup>ФГБУН ИБХ, Москва, Россия

*mary11n1@mail.ru*

Болезнь Альцгеймера (БА) является системным нейродегенеративным заболеванием, в основе которого лежит формирование агрегатов  $\beta$ -амилоида, а также образование гиперфосфорилированного тау-белка.

При действии  $\beta$ -амилоида происходит усиление генерации активных форм кислорода (АФК), превышающей защитную способность клеток и способствующей гибели нейронов. Митогенактивируемые протеинкиназы являются основными сигнальными звеньями в цепи амилоидного каскада между рецептором конечных продуктов гликирования белков (Receptor For Advanced Glycation End Products, RAGE) и внутриклеточным ответом. Конечным результатом активации протеинкиназ является сборка НАДФН-оксидазы и генерация АФК. В ответ на окислительный стресс вырабатываются ферменты антиоксидантной защиты, в частности, супероксиддисмутаза (СОД), катализирующая дисмутацию супероксидного анион-радикала.

Целью работы явилась оценка уровня окислительного стресса и антиоксидантной системы защиты по изменению активностей изоформ СОД в неокортексе и гиппокампе мышей при развитии нейродегенерации Альцгеймерского типа до и после лечения пептидами RAGE. Объектом исследования служили 4 группы мышей линии NMRI с



двусторонне-удаленными обонятельными луковицами – ольфакторной бульбэктомией (ОБЭ); ОБЭ после терапевтического воздействия RAGE (60-76); RAGE (60-62) и контрольные ложнооперированные (ЛО). Измерение активности изоформ СОД проводили

Активность изоформ СОД оценивали после операции ОБЭ в приготовленных гомогенатах из неокортекса и гиппокампа по степени подавления генерации супероксидного анион-радикала.

Полученные данные показывают, что активность митохондриальной СОД (MnSOD) не изменялась у всех групп мышей, в отличие от активности цитоплазматической СОД (Cu/ZnSOD), что свидетельствует об усилении окислительного стресса в цитоплазме нейронов и может быть связано с активацией RAGE амилоидами и генерацией супероксида NADPH-оксидазой.

Интраназальное введение пептидов (60-76), (60-62) оказывало терапевтический эффект только в гиппокампе ОБЭ мышей и проявлялось в снижении активности Cu/ZnSOD. Терапевтический эффект может быть обусловлен связыванием значительной части  $\beta$ -амилоида с V-доменом белка RAGE – предполагаемого сайта связывания  $\beta$ -амилоида, что препятствует активации каскада, запускаемого RAGE, и, как следствие, ведет к снижению генерации АФК и активности СОД.

В митохондриях, в отличие от цитоплазмы, предположительно, отсутствует усиление генерации супероксидного анион-радикала при развитии БА или окислительный стресс вызывается другими АФК. Дальнейшие исследования позволят ответить на этот вопрос.

## НЕПРОНИКАЮЩИЕ В КЛЕТКИ ФРАГМЕНТЫ СУРВИВИНА И HSP70/HSP90-ОРГАНИЗУЮЩЕГО БЕЛКА ТОРМОЗЯТ HSP90-ЗАВИСИМУЮ МИГРАЦИЮ И ИНВАЗИЮ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК *IN VITRO*

**Петренко В.С.<sup>1</sup>, Снигирева А.В.<sup>1</sup>, Жмурина М.А.<sup>1</sup>, Врублевская В.В.<sup>1</sup>, Скарга Ю.Ю.<sup>1</sup>, Моренков О.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ ИБК РАН, Пущино, Россия

79182797935@yandex.ru

Известно, что мембрана-ассоциированные и секретированные экстраклеточные белки теплового шока Hsp90 играют важную роль в клеточной подвижности, инвазии и метастазировании опухолевых клеток. Ингибирование экстраклеточного Hsp90 с помощью антител и низкомолекулярных непроникающих в клетки ингибиторов сопровождалось существенным снижением клеточной миграции и инвазии. Мы предположили, что пептиды, связывающиеся с экстраклеточным Hsp90, также могут ингибировать клеточную подвижность. Ранее были идентифицированы пептидные фрагменты сурвивина и Hsp70/Hsp90-организующего белка (Нор), которые взаимодействуют в клетках с Hsp90, блокируя его функционирование. Целью данной работы была оценка влияния непроникающих в клетки пептидных фрагментов сурвивина и Нор на процессы миграции и инвазии опухолевых клеток *in vitro*.

Синтезированы пептидные фрагменты сурвивина (Lys79-Leu87, KHSSGCAFL) и Нор (Lys301-Lys312, KAYARIGNSYFK). Пептиды соответствовали последовательностям сурвивина и Нор, участвующим в связывании этих белков с Hsp90 внутри клетки. Синтезированы варианты пептидов, не проникающих в клетки, и варианты пептидов, содержащих на N-терминальном конце CPP-пептид *Antennapedia* RQIKIWFQNRRMKWKK, что обеспечивает их проникновение внутрь клеток. Показана токсичность проникающих в клетки пептидов сурвивина и Нор для клеток фибросаркомы



HT1080 и глиобластомы A-172 человека *in vitro*; проникшие в клетки пептиды ингибировали функционирование внутриклеточного Hsp90, что приводило к деградации внутриклеточных «клиентных» белков Hsp90 (например, Akt) и последующей гибели клеток. Пептиды сурвивина и Нор, не содержащие CPP-пептид *Antennapedia*, не проникали в клетки и не обладали токсичностью. Непроницающие в клетки пептиды сурвивина и Нор, связываясь с мембрана-ассоциированным Hsp90 ингибировали базальную миграцию и инвазию клеток HT1080 и A-172. Кроме этого, такие пептиды ингибировали миграцию и инвазию клеток, стимулированную добавлением к среде нативного Hsp90 (50 мкг/мл). Полученные результаты свидетельствовали, что непроницающие в клетки пептидные фрагменты сурвивина и Нор, а также других «клиентных» белков и ко-шаперонов, участвующих во взаимодействии с внутриклеточным Hsp90, имеют значительный потенциал для разработки противоопухолевых препаратов антиметастатического действия.

#### АКТИВНОСТЬ NADH-ДЕГИДРОГЕНАЗЫ, ЦИТОХРОМОКСИДАЗЫ И КАТАЛАЗЫ В НЕОКОРТЕКСЕ И ГИППОКАМПЕ МОДЕЛЬНЫХ МЫШЕЙ ПРИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ АЛЬЦГЕЙМЕРСКОГО ТИПА

**Пронина А.А.<sup>1</sup>, Аветисян А.В.<sup>2</sup>, Зарудная Е.Н.<sup>1</sup>, Симонян Р.А.<sup>2</sup>, Некрасов П.В.<sup>3</sup>, Короев Д.О.<sup>4</sup>, Зиновкин .Р.А.<sup>2</sup>, Вольпина О.М.<sup>4</sup>, Бобкова Н.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия; <sup>2</sup>НИИ ФХБ им. А.Н.Белозерского МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия; <sup>3</sup>ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ ИБК РАН, Пущино, Россия; <sup>4</sup>ФГБУН ИБХ РАН, Москва, Россия

*prosha9722@mail.ru*

Нейродегенерация альцгеймеровского типа — наиболее распространённая форма деменции, ведущим патогенетическим фактором которой является накопление в тканях мозга неправильно свёрнутых белков -  $\beta$ -амилоида.  $\beta$ -амилоид является лигандом рецептора конечных продуктов неферментативного гликирования – RAGE, и с его помощью транспортируется с поверхности клеток внутрь нейронов. Образование комплекса  $\beta$ -амилоид—RAGE усиливает стресс нейронов и дальнейшее накопление  $\beta$ -амилоида.

Растворимая форма sRAGE, лишённая трансмембранного домена, способствует выносу  $\beta$ -амилоида в кровяное русло и очищению мозга. Было сделано предположение, что синтетические фрагменты неструктурированных участков внеклеточных доменов V и C1 RAGE рецептора – предполагаемые сайты связывания  $\beta$ -амилоида, могут оказаться перспективным терапевтическим средством болезни Альцгеймера (БА).

Целью работы было проследить за изменением активности ферментов антиоксидантной защиты и комплексов дыхательной цепи до и после интраназального введения синтетических фрагментов RAGE ольфакторно-бульбэктомированным мышам, которые являются экспериментальной моделью спорадической формы БА. В работе были использованы 4 группы мышей: контрольные ложноперирированные (ЛО), ольфакторно-бульбэктомированные с индуцированной спорадической формой БА (ОБЭ), ОБЭ после терапевтического воздействия, которое заключается в интраназальном введении двух синтетических фрагментов RAGE (60-76) и (60-62).



Активность комплекса I дыхательной цепи митохондрий из неокортекса и гиппокампа достоверно низкая у ОБЭ животных по сравнению с ЛО. Интраназальное введение синтетических пептидов после ОБЭ оказывал разнонаправленное влияние. Пептид (60-76) восстановил активность комплекса I, другой пептид (60-62) не оказывал никакого влияния.

Активность цитохром с-оксидазы значительно ниже в ОБЭ митохондриях из неокортекса и гиппокампа по сравнению с ЛО. Скорость окисления искусственного донора электронов TMPD в ОБЭ митохондриях после введения фрагмента RAGE (60-76) показывает значения выше, чем в контрольных ЛО митохондриях. Фрагмент 60-62 также недостоверно, но повышает активность комплекса IV в митохондриальной фракции из гиппокампа ОБЭ мышей.

Интересно отметить, что активность каталазы также оказалась значительно ниже у ОБЭ мышей по сравнению с ЛО контролем.

Т.о., БА приводит к снижению активности ферментов митохондриальной дыхательной цепи, что может приводить к повреждению митохондрий и гибели нейронов. Низкая активность каталазы может быть связана с изменением характера окислительного стресса при БА от пероксидов на другие активные формы кислорода.

## КОРРЕКЦИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ В МЫШЦАХ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АЛКОГОЛЬНОМ ПАНКРЕАТИТЕ ФИТОПРЕПАРАТОМ "ТЫКВЕОЛ"

**Ромашенко А.В.<sup>1</sup>, Микашинович З.И.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия

*Romashenkoart@mail.ru*

Природа повреждающего фактора на начальных этапах алкогольного панкреатита окончательно не выявлена. В настоящее время общепринятой теорией является теория в основе которой лежит окислительный стресс, который может приводить к развитию кислородной недостаточности, ишемизации миокарда.

Цель исследования:

На основе определения ферментов антиоксидантной защиты и показателей состояния кислородного режима в миоцитах при алкогольном панкреатите, оценить корригирующие воздействие фитопрепарата «Тыквеол».

Результаты.

Через 2 месяца после моделирования алкогольного панкреатита (Патент № 2422916), выявлена тенденция к снижению содержания как лактата так и ПВК. На этой стадии алкоголизации регистрируется тенденция к снижению активности каталазы, ГП, на этом фоне выявляется тенденция к накоплению глутатиона.

Через 3 месяца выявляется достоверное изменение измеряемых параметров, на 434% повышается содержание лактата в миоцитах, при этом выявляется синхронное повышение ГП и каталазы почти на 50%, на фоне резкого достоверного повышения содержания глутатиона на 192% по сравнению с контролем.

Использование «Тыквеола» через 2 месяца алкоголизации характеризовалось достоверным повышением активности ГП и каталазы на 50% и 311% соответственно, параллельное повышение содержание глутатиона на 25%. Обращает внимание выраженное снижение уровня лактата на фоне достоверного повышения ПВК на 194%.



Через 3 месяца использования «Тыквеола» сопровождалось с возвращением уровня лактата к контрольным величинам на фоне роста содержания ПВК, при этом уровень глутатиона снизился по сравнению с нелечеными животными и стал меньше контрольных значений. Каталаза активировалась по сравнению со всеми сроками исследования. Активность глутатионпероксидазы оказалась низкой по сравнению с нелечеными животными и даже ниже контрольных цифр.

Таким образом, деструктивное влияние на метаболические процессы сердечной мышцы достоверно регистрируется на 3 месяц наблюдения. Применения «Тыквеола» в этот период характеризовалось перераспределением роли антиоксидантного фактора на фоне достоверного снижения ГП, регистрировалась самая высокая активность каталазы, что указывает на возрастающую роль каталазы, снижение уровня активных форм кислорода, это происходит на фоне нормализации содержания лактата, это указывает на снижение кислородной задолжности в сердечной мышце. Следует отметить повышение содержание ПВК через 2 месяца лечения на 294%, через 3 месяца содержание выросло примерно в 5 раз.

## ВЛИЯНИЕ ПОЛИСТИРОЛЬНОГО ЛАТЕКСА С КАРБОКСИЛИРОВАННОЙ ПОВЕРХНОСТЬЮ НА АКТИВНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ ЛИПАЗ

**Савина А.А.<sup>1</sup>, Гарнашевич Л.С.<sup>1</sup>, Зайцев С.Ю.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия

*Kirablackfire@mail.ru*

Иммобилизация липазы на полимерные носители позволяет изменять рабочие характеристики фермента, такие как пролонгированность действия и стабильность работы, температурные и рН оптимумы, так же позволяет использовать фермент многократно. Метод физической адсорбции фермента на подложке является самым простым в исполнении и самым дешевым, единственные минусом которого является частичная потеря фермента в процессе десорбции с носителя. То, как в дальнейшем будет работать фермент, зависит и от условий, в которых была проведена иммобилизация.

Данная работа посвящена влиянию количества отрицательно-заряженного полимерного носителя на рабочие характеристики конечного продукта при физической иммобилизации липазы. К 0,91% раствору полистирольного латекса с карбоксилированной поверхностью частиц (PS-COOH), размером частиц 3,8 мкм и концентрацией карбоксильных групп 4,2 мкг-экв/г добавляли раствор липазы (5 мг/мл): панкреатической свиной липазы (ПСЛ), грибной липазы из дрожжей *Candida cylindracea* (LCC) и липазы растительного происхождения из проростков пшеницы (LWG). Инкубация проводилась в 0,05 М растворе солей хлорида кальция и хлорида натрия, рН 6,1 30 мин при 25°C.

Измерения активности проводились для чистой липазы и для комплексов с различными соотношениями – 10:1, 20:1, 40:1 и 100:1.

В результате исследований было обнаружено, что латекс с отрицательно-заряженной поверхностью неоднозначно влияет на липазы из различных источников. Присутствие любого количества PS-COOH в растворе ПСЛ снижает активность фермента, причем наблюдается линейная зависимость снижения активности с увеличением количества носителя. Обратный эффект наблюдался в случае с LCC и LWG. Присутствие малого количества микросфер с отрицательным зарядом увеличивало активность этих липаз до 150%. повышение концентрации PS-COOH приводило к снижению активности.



Таким образом PS-COOH способен повышать каталитическую активность LCC и LWG, но снижает ее у ПСЛ. Наблюдаемый эффект прямо пропорционален концентрации.

## ДЕЙСТВИЕ СФЕРИЧЕСКИХ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА РАЗЛИЧНОГО ДИАМЕТРА НА БАКТЕРИИ И МЛЕКОПИТАЮЩИХ

**Скоморохова Е.А.<sup>1,2</sup>, Ильичева Е.Ю.<sup>1,2,3</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО ИТМО, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБНУ ИЭМ, Санкт-Петербург, Россия;  
<sup>3</sup>ФГАОУ ВО СПбПУ, Санкт-Петербург, Россия

*ekaterina-skomorhova@mail.ru*

Наночастицы серебра (AgNP), благодаря своим антибактериальным и противогрибковым свойствам, используются при изготовлении медицинских изделий, в пищевой и легкой промышленности. Количество изготавливаемых AgNP постоянно растет, а вероятность их контакта с человеком увеличивается. Поэтому исследования влияния AgNP на млекопитающих становятся актуальными. Большинство работ рассматривает биологическую активность AgNP как результат их корродирования в биологических средах, Ag(I)-опосредованного образования АМК и индукция ими окислительного стресса. Такой сценарий воспроизводится в экспериментах *in vivo* и *in vitro* в присутствии экстремальных концентраций AgNP. Но на млекопитающих AgNP могут влиять и в меньших концентрациях. Это происходит потому, что абиогенные Ag(I) изоэлектронны эссенциальному микроэлементу Cu(I), который является ко-фактором купроэнзимов и участником сигналинга. Т.о., при изучении биоактивности AgNP актуально рассматривать последствия вмешательства Ag(I) в метаболизм Cu. Целью работы было изучить биоактивность AgNP в зависимости от их размера. В работе был использован набор AgNP, полученных химическим восстановлением из Ag(NO<sub>3</sub>). По данным СЕМ, ТЕМ, лазерной рефрактометрии и UV/Vis-анализа препараты содержали сферические AgNP с диаметром 10, 20 и 75 нм (AgNP10, AgNP20, AgNP75). Наибольшим антибактериальным эффектом на клетки *E. coli* обладали AgNP10, при этом все препараты AgNP действовали в дозо- и время-зависимой манере. Клетки линии A549 были более устойчивы к действию AgNP, чем бактерии, но их рост подавлялся после обработки всеми AgNP. Для оценки влияния AgNP на метаболизм меди мышам линии C57Bl/6 в/б вводили AgNP (10 мкг/г массы тела) в течение недели. Концентрация Ag и Cu была измерена методом ААС. Содержание Cu во внутренних органах не отличалось у животных всех групп. Ag преимущественно накапливалось в печени. В сыворотке крови [Ag] прогрессивно увеличивалась в течение недели и быстрее под влиянием AgNP10. [Cu] в крови снижалась после 3-ей инъекции. Оксидазная активность церулоплазмينا (ЦП) у всех животных, получавших AgNP также падала уже на третий день, при этом AgNP75 подавляли ее почти полностью, а AgNP10 и AgNP20 примерно на 70%. Методом гель-фильтрации показано, что в сыворотке Ag-животных Ag включен в ЦП. После отмены инъекций серебро выводилось из организма мышей через желчь в течение одного месяца. В работе обсуждаются последствия замещения меди серебром у млекопитающих.

Работа поддержана грантами РФФИ МК2718.2018.4.



## ИНГИБИРОВАНИЕ HYDSL ГИДРОГЕНАЗЫ THIОCAPSA ROSEOPERSICINA ИОНАМИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

**Стародубов А. С.<sup>1</sup>, Зорин Н. А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН ФИЦ ПНЦ БИ ИФПБ РАН, Пущино, Россия

*alexkex3@gmail.com*

Использование ископаемых источников энергии влечет за собой увеличение концентрации CO<sub>2</sub> в атмосфере. Его количество стремительно возрастает на протяжении последних 50 лет и в 2019 году составляет 0,4%, это ускоряет процесс парникового эффекта. Нефть и продукты ее сгорания загрязняют окружающую среду. Также количество ресурсов нашей планеты ограничено. В связи с этим, возникает необходимость разработки альтернативных методов получения энергии. С этой точки зрения, перспективным видом топлива является молекулярный водород. Некоторые биологические системы способны выделять водород. Полученный водород может быть преобразован в электрический ток отдельными ферментными системами, которые осуществляют перенос электронов на электрод при поглощении/выделении водорода. Одним из таких ферментов является гидрогеназа.

Гидрогеназа является ключевым ферментом метаболизма водорода и катализирует обратимую активацию молекулярного водорода. Интерес к гидрогеназам в значительной степени обусловлен стремлением познать их структуру и механизм действия, а также вследствие их перспективности как водородактивирующего катализатора новых типов водородных топливных элементов. Исследование гидрогеназ возможно и с использованием ингибиторов, потенциально взаимодействующих как с белковой глобулой, так и с металлоцентрами (NiFe активным центром и FeS кластерами, имеющимися в структуре гидрогеназ). При взаимодействии гидрогеназы с такими ингибиторами как Hg<sup>2+</sup> и Ag<sup>+</sup> активность гидрогеназы определяли спектрофотометрически, а состояние активного центра оценивали по ИК Фурье-спектроскопии.

Изучено ингибирующее действие Hg<sup>2+</sup> и Ag<sup>+</sup> на активность и структуру HydSL гидрогеназы пурпурной серной бактерии *Thiocapsa roseopersicina*. Было установлено, что ингибирование носит необратимый характер действия при воздействии таких ионов, как Hg<sup>2+</sup> и Ag<sup>+</sup>. Были определены константы ингибирования гидрогеназы этими ионами при разных температурах (10 до 50°C). Присутствие этих ингибиторов в растворе фермента значительно снижало их термостабильность и вызывало денатурацию при температуре выше 50°C, чем и объясняется подбор температур. Показано также, что в процессе инкубации фермента с Hg<sup>2+</sup> и Ag<sup>+</sup> происходит разрушение железосерных кластеров.





## ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА АСТРАГАЛА ОБНАЖЕННОГО НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В КРОВИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ГИПОТЕРМИИ

**Сулейманова М.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

*maripat1996@gmail.com*

Умеренная гипотерми стимулирует образование активных форм кислорода в тканях теплокровных животных. При кратковременной гипотермии наблюдается интенсификация процессов окислительной модификации липидов и белков мембран эритроцитов и плазмы, что свидетельствует о развитии окислительного стресса. Для защиты клеток и тканей от окислительного стресса необходимо усилить антиоксидантную защиту организма. Проведенные ранее исследования показали, что астрагал обнаженный (*Astragalus denudatus* Steven) богат флаваноидами и селеном, которые могут оказать мощный антиоксидантный эффект.

Целью данного исследования было определение антиоксидантных свойств сухого экстракта астрагала обнаженного в условиях гипотермии.

Для изучения антиоксидантной активности экстракта астрагала обнаженного в крови крыс были определено содержание малонового диальдегида, маркера перекисного окисления липидов, указывающего на интенсивность протекания свободнорадикальных процессов.

Опыты проводились на белых беспородных крысах массой около 200 грамм. Опытные животные были разделены на три группы: контрольную, контрольную, подвергавшуюся умеренной гипотермии и опытную. Опытные крысы получали вместе с пищей сухой экстракт астрагала обнаженного в количестве, соответствующем их массе, и перед декапитацией подвергались умеренной гипотермии.

Полученные результаты показали, что у крыс, подвергавшихся гипотермии, содержание малонового диальдегида относительно контроля в плазме увеличилось на 68%, а в эритроцитах - на 90%. В то время, как у животных в условиях гипотермии, которые получали сухой экстракт астрагала обнаженного, в плазме показатель не увеличивался, а в эритроцитах увеличивался на 38%.

Таким образом, сухой экстракт астрагала обнаженного значительно снижает уровень перекисного окисления липидов в крови, что указывает на его способность усиливать антиокислительную активность организма в целом. Необходимо продолжить исследования и определить другие показатели свободнорадикального окисления и изучить активность антиоксидантных ферментов под влиянием астрагала обнаженного.



## РЕГУЛЯЦИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ МАЛОЙ ГТФ-АЗЫ ARL4C/ARL7 В КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК HELa И VERO ПОСРЕДСТВОМ ВОЗДЕЙСТВИЯ АКТИВАТОРАМИ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА LXR/RXR

**Улас Е.В.<sup>1</sup>, Надеждина Е.С.<sup>1,2</sup>, Бураков А.В.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт белка РАН, Пущино, Россия; <sup>3</sup>НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия

*evgeniya.ulas@me.com*

Сеть микротрубочек (MT) является компонентом цитоскелета эукариотических клеток. В клетках животных основным центром организации MT (ЦОМТ) является центросома. В интерфазе в качестве альтернативных ЦОМТ также могут выступать мембраны аппарата Гольджи (АГ). Молекулярные механизмы организации MT на АГ изучены фрагментарно, не все белки-участники данного процесса идентифицированы. Ранее нами был проведен сравнительный анализ транскриптомов культур клеток Vero и BS-C-1, полученных из эпителия почки зеленой мартышки и принципиально различающихся в активности АГ в качестве ЦОМТ. Были показаны несколько новых белков-кандидатов на участие в организации MT на АГ. В их числе – малая ГТФ-аза Arl4c/Arl7, экспрессия гена которой оказалась повышенной в клетках BS-C-1 по сравнению с клетками Vero приблизительно в 4 раза. Мы установили, что содержание белка Arl4c/Arl7 в BS-C-1 также примерно в 4 раза превышает его уровень в Vero. В литературе описано, что увеличения концентрации этого белка в клетках HeLa возможно добиться посредством их обработки активаторами X-рецептора печени (LXR) и ретиноидного X-рецептора (RXR). Мы решили воспроизвести данный эффект, а также попытались повысить концентрацию Arl4c/Arl7 в клетках Vero, чтобы в случае успеха проследить за возможными изменениями в организации MT. На клетки воздействовали активаторами ядерных рецепторов LXR – T0901317 – и RXR – бексаротеном. Оказалось, что при воздействии на клетки культуры HeLa лигандами LXR/RXR в течение 2 суток зависимость повышения уровня белка ARL4C/ARL7 от концентрации лигандов отсутствует в диапазоне 0,1 – 10 мкМ для T0901317 и 0,5 – 2,5 мкМ для бексаротена. Однако наблюдалось более выраженное увеличение концентрации ARL4C/ARL7 при продлении времени воздействия до 7 суток, а также при совместном воздействии активаторов LXR/RXR по сравнению с их отдельным применением. Обработка клеток HeLa T0901317 и бексаротеном в течение 7 суток приводила к приблизительно трехкратному повышению концентрации белка ARL4C/ARL7. Однако в клетках Vero повышение концентрации белка Arl4c/Arl7 при условиях воздействия, идентичным воздействию на HeLa, не наблюдалось, несмотря на активацию LXR/RXR, детектируемую по повышению в клетках белка ABCA1, ген которого, как известно, находится под непосредственной регуляцией LXR/RXR. Эффект увеличения уровня белка Arl4c/Arl7 при инкубации клеток с T0901317 и бексаротеном отсутствовал даже при продлении времени воздействия до 10 суток. Работа поддержана грантом РФФИ 18-04-00742.



## ИНСТРУМЕНТЫ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ РЕДОКС-РЕГУЛЯЦИИ НЕЙРОНАЛЬНОЙ ПЕРЕДАЧИ

**Фетисова Е.С.<sup>1</sup>, Богданова Ю.А.<sup>2</sup>, Потехина Е.С.<sup>2</sup>, Белоусов В.В.<sup>2</sup>**

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

*fetisova.el.s@gmail.com*

Пероксид водорода участвует в формировании редокс-баланса (от англ. redox – reduction-oxidation) и выполняет сигнальные функции в физиологических условиях. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> способен окислять редокс-чувствительные остатки цистеина в белках, влияя на их конформацию и/или функционирование. Данный тип регуляции был продемонстрирован для ряда фосфатаз, киназ, белков защитных путей, а также кальциевых каналов. Генерация H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> может осуществляться под воздействием специфических стимулов, длительность его присутствия и миграции контролируется работой антиоксидантных систем. Таким образом в клетке формируется редокс-ландшафт, в котором сигнальные пути в различных компартментах подвергаются избирательной редокс-модификации.

Было показано, что АФК оказывают влияние на функционирование клеток нервной системы, формирование долговременной потенциации. Однако изучение редокс-процессов, протекающих в синаптических компартментах, а также в астроцитах, активно влияющих на функционирование синапсов, было затруднено из-за отсутствия подходящих инструментов.

Для изучения влияния редокс-статуса клеток на спайкование нейронной сети в первичной смешанной гиппокампальной культуре нами был создан ряд генетических конструкций с использованием биосенсора для детекции H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (HyPer) и оксидазы D-аминокислот (DAAO). Фермент позволяет осуществлять генерацию H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, контролируемую через количество внесенного субстрата. Используя специфические промоторы, сигнальные последовательности и синаптические белки, мы добились астроцитарной и нейрональной локализации наших конструкторов, позволяющей определить влияние редокс-статуса отдельных компартментов нейронов и астроцитов на активность сети. Для регистрации активности нейронов использовались биосенсоры, реагирующие на изменения концентрации внутриклеточного кальция (GECO, Camr). Нами подобраны оптимальные условия для ведения клеточных культур, трансфекции, трансдукции, имажинга и формирования устойчивой спайковой активности. Эксперименты лягут в основу исследований *in vivo* для уточнения роли H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в формировании долговременной потенциации.



## NAD(H) РЕГУЛИРУЮТ ОТКРЫВАНИЕ mPTP СО СТОРОНЫ ЦИТОЗОЛЯ

**Харечкина Е.С.<sup>1</sup>, Никифорова А.Б.<sup>1</sup>, Одинокова И.В.<sup>2</sup>, Крестинина О.В.<sup>2</sup>, Бабурина Ю.Л.<sup>2</sup>, Круглова С.А.<sup>1</sup>, Круглов А.Г.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН ИТЭБ РАН, Пущино, Россия; <sup>2</sup>ФИЦ ПНЦ БИ ИФПБ РАН, Пущино, Россия

*katya.kypri@gmail.com*

К настоящему времени молекулярное строение неспецифической  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимой поры (mPTP) не установлено, несмотря на ее интенсивное изучение на протяжении более чем 40 лет. Тем не менее, многое известно о регуляции данного мегаканала.  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{P}_i$ , активные формы кислорода являются активаторами mPTP, тогда как адениновые нуклеотиды,  $\text{Mg}^{2+}$ , циклоспорин А, пиридиновые нуклеотиды (PN) – ингибиторами. Предполагается, что NAD(H) и NADP(H) подавляют пору, действуя на регуляторные сайты со стороны матрикса: оказывают аллостерический эффект, поддерживают восстановленное состояние убихинона, являющегося регулятором поры, а также глутатиона, находящегося в редокс-равновесии с критическими тиолами mPTP. В данной работе мы исследовали влияние внешних PN, действующих со стороны цитозоля, на открывание mPTP.

Было обнаружено, что NADH и, в меньшей степени, NAD дозозависимо (в ряду 0 – 2 мМ) подавляли открывание mPTP в митохондриях печени, сердца и мозга крыс: они увеличивали время полумаксимального набухания митохондрий и их кальциевую емкость. NADP(H) оказались неэффективными. Поскольку PN не способны проникать в матрикс, то полученные результаты указывают на существование PN-зависимого регулятора mPTP во внешних отделах митохондрий. Не было обнаружено окисления и восстановления нуклеотидов, что свидетельствует об аллостерическом механизме действия. Наиболее подходящим кандидатом на роль NAD(H)-связывающего сайта представляется потенциал-зависимый анионный канал VDAC, поскольку в литературе существуют данные о регуляции его проводимости с помощью PN. Мы обнаружили, что G3139 и DIDS (блокаторы проводимости канала) снижали эффект PN, а  $\text{Mg}^{2+}$ , его лиганд, наоборот, дозозависимо увеличивал. Однако в эмбриональных (MEF, HEK293T) и раковых клетках (HEp-2, THP1), в отличие от терминально дифференцированных гепатоцитов и кардиомиоцитов, защитный эффект NADH был минимальным либо отсутствовал, хотя все объекты экспрессировали полный набор изоформ VDAC. Таким образом, VDAC не является NAD(H)-зависимым регулятором PTP, либо существует неизвестный, связанный с процессом клеточной дифференциации регулятор его взаимодействия с NAD(H).

Работа выполнена при поддержке Гранта РФФ № 17-75-10122.



## ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУРАХ ТЕЛА

**Хизриева С.И.<sup>1</sup>, Халилов Р.А.<sup>1</sup>, Джафарова А.М.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

*saimat140992@mail.ru*

Температура представляет собой наиболее важный экологический фактор из всего многообразия сложных климатических влияний на биосистемы. В экстремальных для организма условиях (ишемии, гипоксии, отравлении, переохлаждении) температура тела гомойотермов может существенно снизиться.

Гипотермия сопровождается развитием целого ряда патологических или компенсаторно-приспособительных процессов, большая часть из которых, возможно, связана со структурно-функциональными изменениями в митохондриях клетки.

Целью данной работы явилось исследование эффектов кратковременной умеренной (30°C) и глубокой (20°C) гипотермии на некоторые биоэнергетические параметры митохондрий печени крыс.

Опыты выполнены на крысах-самцах линии Вистар массой 200-220 г. Гипотермию вызывали наружным охлаждением животных в плексигласовых камерах с рубашкой, через которую циркулировала холодная (5°C) вода. Выделение митохондрий из печени крыс производили методом дифференциального центрифугирования в градиенте плотности сахарозы. Измерения потребления кислорода митохондриями печени крыс проводили полярографическим методом. Выраженность эффектов гипотермии на дыхание митохондрий при других метаболических состояниях зависит от вида добавленного субстрата окисления: сукцинат (субстрат комплекса II ЭТЦ) или глутамат (субстрат комплекса I ЭТЦ).

Исследование показало, что снижение температуры тела до 30°C сопровождается существенной стимуляцией дыхания митохондрий почти во всех метаболических состояниях. Дальнейшее падение температуры тела (до 20°C) приводит лишь к незначительным изменениям скоростей дыхания относительно умеренной гипотермии. При этом значения коэффициента окислительного фосфорилирования и дыхательного контроля, а также показателя чувствительности митохондрий к 2,4 ДНФ снижаются.

Стимуляцию дыхания можно рассматривать как компенсаторную реакцию, направленную на поддержание постоянной температуры тела в условиях повышенного теплообмена. Кроме того, снижение дыхательного контроля является следствием разобщения окисления и фосфорилирования. Слабое разобщение, в соответствии с гипотезой Скулачева В.П., приводит к уменьшению степени восстановленности коэнзима Q (убихинона). Это в свою очередь снижает скорость генерации супероксидного радикала дыхательной цепью, что особенно важно, учитывая интенсификацию свободно-радикальных процессов в тканях гомойотермных животных на начальных этапах развития гипотермии.

Таким образом, основной вклад в изменение биоэнергетических характеристик митохондрий, при снижении температуры тела, вносят начальные этапы развития гипотермического состояния.



## НЕКОТОРЫЕ СВОЙСТВА МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ЛИПОФУСЦИНА

**Чаплыгина А.В.<sup>1</sup>, Векшин Н.Л.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ ИБК РАН, Пущино, Россия

*shadowhao@yandex.ru*

Одним из маркеров старения принято считать накопление «внутриклеточного мусора» в виде гранул липофусцина, количество которого увеличивается не только при старении как таковом, но также при различных патологиях (нейрональный липофусциноз, паркинсонизм).

Липофусцин, накапливающийся с годами в митохондриях при старении организма, содержит мало липидов, т.к. сами митохондрии содержат их не очень много. Митолипофусцин, выделенный из митохондрий (на колонке G-50) из печени старой крысы, имеет массу около 60 кДа. Он довольно гидрофобен: плохо растворяется в воде, но неплохо – в детергентных водных растворах, а также в спиртах.

Митолипофусцин состоит из нескольких глобул повреждённых белков, сшитых по типу шиффовых оснований, дающих голубую полосу флуоресценции при возбуждении в близком ультрафиолете. Нельзя также исключить, что в голубую флуоресценцию митолипофусцина вносит вклад антраниловая кислота, образовавшаяся в ходе деградации триптофановых остатков. Максимум спектра возбуждения находится при 360 нм, а излучения при 460 нм.

Митолипофусцин оказался очень устойчив к кислотам и щелочам: при pH 1 и pH 12 он не разрушался. Он устойчив ко многим восстановителям и окислителям. Он не разрушался под действием миллимолярных концентраций аскорбиновой кислоты, сукцинат натрия, НАДН и глутатиона в восстановленной форме. Он устойчив к протеиназам и фосфатазам. На него не влияли ни протеиназа, ни кислая фосфатаза, ни щелочная фосфатаза, ни биназа.

Разрушить митолипофусцин удалось только дитионитом – мощнейшим восстановителем. Можно предположить, что прочные связи между белковыми глобулами в митолипофусцине образованы с участием сульфгидрильных групп.

Частичное разрушение митолипофусцина удалось осуществить с помощью ультрафиолетового облучения. Фотоблэчинг митолипофусцина проводился под действием ультрафиолетового света 450-вт ксеноновой лампы. Разрушение митолипофусцина ультрафиолетовым светом носило необратимый характер: даже через полчаса после завершения фотоблэчинга интенсивность флуоресценции не вернулась к исходной.

Можно сделать вывод, что липофусцин в клетках старых животных не имеет собственного механизма утилизации. Даже достаточная активность лизосом и протеаз клетки все равно не способна разрушить липофусциновые гранулы.



## ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К НОРАДРЕНАЛИНУ ЗНАЧИТЕЛЬНО НАРУШЕНА В ЛИНИИ ИММОРТАЛИЗОВАННЫЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ЖИРОВОЙ ТКАНИ

**Чечехин В. И.<sup>1</sup>, Иванова А. М.<sup>1</sup>, Тюрин-Кузьмин П.А.<sup>1</sup>, Калинина Н. И.<sup>1</sup>,  
Сысоева В. Ю.<sup>1</sup>**

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

*v-chech@mail.ru*

Мезенхимные стромальные клетки (МСК) выявляются в большинстве тканей организма и играют ключевую роль во многих процессах, включая обновление жировой ткани. Функциональная активность МСК регулируется гормонами и нейромедиаторами, а одним из ключевых является норадреналин. Ранее в нашей лаборатории был показан феномен переключения внутриклеточной сигнализации с бета-адренорецепторов на альфа1А-адренорецепторы у МСК и назван «гетерологической сенситизацией», которая ранее была обнаружена только в эмбриональных клетках. Также было показано, что соотношение между субпопуляциями МСК, полученных из жировой ткани, экспрессирующих адренергические рецепторы  $\alpha 1A$ ,  $\alpha 1B$ ,  $\alpha 2A$ ,  $\alpha 2B$ ,  $\beta 1$ ,  $\beta 2$  и  $\beta 3$ , существенно варьируется от донора к донору. Из-за высокой гетерогенности первичных МСК для дальнейшего исследования механизмов мы решили использовать гомогенную популяцию иммортализованных мезенхимальных стволовых клеток, происходящих из жировой ткани (hTERT-МСК).

В данной работе мы исследовали чувствительность hTERT-МСК к норадреналину, а также способность их регулировать чувствительность к нему. С помощью иммунофлуоресцентного анализа было показано, что hTERT-МСК экспрессируют все типы адренорецепторов. Анализ с помощью проточной цитометрии показал, что процент клеток, содержащих данные изоформы адренорецепторов, был довольно стабильным, но ниже по сравнению с первичными культурами. При исследовании чувствительности hTERT-МСК к норадреналину путем регистрации  $Ca^{2+}$ -ответа мы продемонстрировали, что процент клеток, отвечающих на норадреналин, был в 4 раза ниже по сравнению с первичными МСК, а вариабельность ответа hTERT-МСК была сходной. Используя ингибиторный анализ, мы показали, что hTERT-МСК отвечают на норадреналин  $Ca^{2+}$ -зависимым путем только через  $\alpha 1$ -адренорецепторы. Исследуя феномен «гетерологической сенситизации» у hTERT-МСК, мы показали, что данная культура слабее регулируется норадреналином по сравнению с первичными МСК. Используя метод ELISA, мы показали, что норадреналин стимулирует синтез цАМФ в первичных МСК, тогда как в hTERT-МСК данный нейромедиатор этого не делает. Таким образом, hTERT-МСК проявляют ослабленную способность реагировать на норадреналин, а также регулировать чувствительность к данному гормону.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-315-80018.



## МЕТАБОЛИЧЕСКОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ В КОЖЕ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АЛЛЕРГИЧЕСКОМ КОНТАКТНОМ ДЕРМАТИТЕ

**Чумаченко М.С.<sup>1</sup>**

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

*Chumachenkomaria19@gmail.com*

Аллергический контактный дерматит (АКД) является широко распространённым заболеванием, в основе которого лежит комплекс иммунохимических и биохимических нарушений. Более 20% населения чувствительно, по меньшей мере, к одному контактному аллергену. Литературные данные последних лет свидетельствуют о значимости метаболического профилирования, активно используемого для открытия механизмов, вовлеченных в развитие заболевания, а также для поиска новых потенциальных маркеров.

Цель данной работы заключается в определении дифференциальных метаболомных профилей аминокислот в коже у животных с экспериментальным аллергическим контактным дерматитом.

Аллергический контактный дерматит был индуцирован 2,4-динитрохлорбензолом. Носитель – смесь ацетон: оливковое масло. В эксперименте были использованы самцы крыс линии Wistar массой 280 – 300 г (n=7), разделенные на 3 экспериментальные группы: – контроль, контрольная группа с нанесением носителя, группа с индуцированным АКД. Материалом для исследования являлся гомогенат кожи, который подвергался депротеинизации 0,1М HClO<sub>4</sub>, содержащей внутренний стандарт - норвалин. Определение концентрации свободных аминокислот проводилось методом ВЭЖХ с предколоночной дериватизацией с о-фталевым альдегидом. Анализ данных проводился в программе Statistica 10.0. Для выявления наиболее информативных показателей, использовали пошаговый дискриминантный анализ.

Были идентифицированы и измерены концентрации 29 соединений: аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота, серин, α-аминоадипиновая кислота, глутамин, гистидин, цистатионин, глицин, треонин, цитруллин, аргинин, ансерин, карнозин, аланин, таурин, γ-аминомасляная кислота, тирозин, α-аминомасляная кислота, этаноламин, валин, метионин, 3-метилгистидин, δ-аминовалериановая кислота, триптофан, фенилаланин, изолейцин, лейцин, орнитин, лизин.

Дискриминантный анализ пула исследованных соединений показал, что контрольная и группа с АКД полностью корректно разделены на плоскости двух дискриминантных функций. Высокая степень дискриминации характеризуется величиной лямбды Уилкса, которая составляла 0,008,  $p < 0,0001$ . Наиболее информативными показателями в данной модели являются уровни триптофана, тирозина, таурина, аргинина, γ-аминомасляной кислоты.

Уровни триптофана, тирозина, аланина, глицина и γ-аминомасляной кислоты вносили основной вклад в значения обеих канонических переменных (дискриминантных функций) и обладали наивысшими значениями F-константы Фишера среди всех исследованных соединений.

Полученные данные свидетельствуют, что развитие АКД может являться причиной значительного дисбаланса в спектре свободных аминокислот в коже. Результаты представляют интерес для оценки степени метаболических нарушений, специфических особенностей метаболических сдвигов, а также при выявлении метаболомных маркеров, которые могут быть использованы для изучения патогенеза АКД и разработки эффективных технологий лечения.





## ПРОМЫШЛЕННО ЦЕННЫЕ ОКСИДАЗЫ ГРИБА *THIELAVIA OVISPORA*

**Шебанова А.Д.<sup>1,2</sup>, Мясоедова Н.М.<sup>1</sup>, Гайдина А.С.<sup>1</sup>, Баскунов Б.П.<sup>1</sup>, Черных А.М.<sup>1</sup>, Ренфельд Ж.В.<sup>1</sup>, Понаморева О.Н.<sup>2</sup>, Головлева Л.А.<sup>1</sup>, Коломыцева М.П.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФИЦ ПНЦ БИ ИБФМ РАН, Пущино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Тульский государственный университет, Тула, Россия

*anneteshebanova@mail.ru*

Краситель малахитовый зеленый используется для текстильного окрашивания, в ветеринарии и медицине. Краситель является стойким загрязнителем, и может легко адсорбироваться твердыми поверхностями или живыми организмами, накапливаясь в них. Малахитовый зеленый оказывает мутагенное и канцерогенное влияние на организмы, препятствуя их росту, размножению и развитию. К известным способам разложения красителей относят озонирование, окислительные и фотохимические процессы, ионный обмен и электрохимическое разрушение. Некоторые из этих процессов позволяют достичь эффективного удаления красителя, однако, сопряжены с высокими эксплуатационными затратами и загрязнением окружающей среды. Поэтому биологические способы трансформации красителей становятся все более востребованными в биоремедиации сточных вод и утилизации промышленных отходов.

Грибные лакказы (“голубые” оксидазы) – медьсодержащие ферменты, катализирующие четырехэлектронное окисление широкого ряда ароматических и неорганических субстратов с сопутствующим восстановлением молекулярного кислорода до воды. Именно поэтому малахитовый зелёный, будучи соединением трифенилметанового ряда, может выступать в качестве субстрата для “голубых” оксидаз. Использование грибных оксидаз, в частности лакказ, в технологиях деградации малахитового зеленого является перспективным, в связи с минимальными затратами (не требует дорогих катализаторов и повышенных энергозатрат) и снижением степени загрязнения окружающей среды (не использованием дополнительных токсичных соединений).

Разработана и усовершенствована схема очистки оксидаз из культуральной жидкости гриба *Thielavia ovispora*, полученной в ходе ранее подобранных условий погруженного культивирования мицелия в жидкой минеральной среде с использованием растительных источников углерода и энергии. Очистку проводили с использованием анионообменной, гидрофобной хроматографий, а также гель- и ультрафильтраций. В результате было выделено два гомогенных ферментных препарата и исследованы кинетические и физико-химические свойства полученных голубых оксидаз.

Показана способность оксидаз гриба *T. ovispora* активно трансформировать малахитовый зеленый. Посредством тонкослойной хроматографии и масс-спектрометрии были выделены и идентифицированы интермедиаты трансформации красителя. Предложен путь разложения малахитового зелёного оксидазами гриба *T. ovispora*.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ (Соглашение №14.616.21.0001, RFMEFI61614X0001).



## РАЗНООБРАЗИЕ ФОСФОНОАЦЕТАЛЬДЕГИД ГИДРОЛАЗ У ПОЧВЕННЫХ БАКТЕРИЙ РОДА *ACHROMOBACTER*

**Эпиктетов Д.О.<sup>1</sup>, Свиридов А.В.<sup>1</sup>, Леонтьевский А.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФИЦ ПНЦ БИ ИБФМ РАН, Пушкино, Россия

*epiktetoff@gmail.com*

Фосфоноацетальдегид гидролаза (фосфонатаза) – важнейший фермент в метаболизме органофосфонатов (ОФ). Основным представителем ОФ – глифосат (ГФ), токсичное соединение, содержащее прочную связь углерод-фосфор (С-Р). Фосфонатаза впервые была обнаружена у *V.cereus*. Несмотря на данные о возможном существенном разнообразии фосфонатаз у разных таксонов бактерий, систематического изучения данного вопроса не проводилось. В настоящей работе рассматривается сравнительная характеристика фосфонатаз, выделенных из рода *Achromobacter* и резко отличающихся между собой и с литературными данными.

Описанная в литературе фосфонатаза *V.cereus* представляла собой гомодимер с молекулярной массой (Мг) субъединицы около 30 кДа, рН 8–9,  $K_m=0,033$  мМ,  $V_{max}=29,7$  Ед./мг белка. Белок элюировался с DEAE-Sephadex при NaCl 0,4 М. В литературе по умолчанию предполагается, что фосфонатазы бактерий дикого типа должны обладать сходной структурой и свойствами. Однако нами было показано, что даже в пределах одного рода *Achromobacter* наблюдается весьма значительная варибельность фосфонатаз. Так очищенный ферментный препарат фосфонатазы штамма *Achromobacter* sp. Kg16, представлял собой мономер с Мг около 66 кДа, рН 7,2–7,6,  $K_m=0,889$  мМ,  $V_{max}=1,2$  Ед./мг белка, числом оборотов  $k_{cat}=0,4$  с<sup>-1</sup>, и каталитической эффективностью  $k_{cat}/K_m=4,5 \times 10^2$  л моль<sup>-1</sup> с<sup>-1</sup>. Элюция белка с DEAE-Toyorearl происходила при концентрации NaCl 0,13 М. У другого штамма-деструктора ГФ *Achromobacter* sp. Km11 фермент представлял собой гомодимер с Мг субъединицы около 25 кДа, рН 7,2–7,5,  $K_m=0,466$  мМ,  $V_{max}=2,5 \times 10^{-2}$  Ед./мг белка,  $k_{cat}=0,019$  с<sup>-1</sup>, и  $k_{cat}/K_m=4 \times 10^{-2}$  л моль<sup>-1</sup> с<sup>-1</sup>. Фермент элюировался с DEAE-Toyorearl при концентрации NaCl 0,16 М. Фосфонатаза у бактерии *Achromobacter* sp. Kg13 представляла собой мономер с Мг около 45 кДа, рН 7,2–7,5,  $K_m=3,32$  мМ,  $V_{max}=7,2 \times 10^{-1}$  Ед./мг,  $k_{cat}=0,53$  с<sup>-1</sup>,  $k_{cat}/K_m=1,6 \times 10^{-1}$  л моль<sup>-1</sup> с<sup>-1</sup>.

У штамма-деструктора ГФ *Achromobacter* sp. Kg19 впервые было обнаружено наличие двух различающихся фосфонатаз в одной бактериальной клетке. Оба фермента представляли собой мономеры с Мг около 66 кДа. Элюция первого ферментного препарата с фосфонатазной активностью с DEAE-Toyorearl происходила при NaCl 0,15 М, второго – при NaCl 0,34 М. Оптимальное значение рН обоих изоформ фосфонатазы лежало в пределах 7,4–7,6. Ферменты обладали низким сродством к субстрату ( $K_m=1,2$  мМ – I изоформа) и ( $K_m=1,1$  мМ – II изоформа), низким значением  $V_{max}=5,7 \times 10^{-1}$  Ед./мг белка (I) и  $V_{max}=5,9 \times 10^{-1}$  Ед./мг белка (II),  $k_{cat}=0,58$  с<sup>-1</sup> и  $0,59$  с<sup>-1</sup>, и  $k_{cat}/K_m=0,48$  л моль<sup>-1</sup> с<sup>-1</sup> и  $0,54$  л моль<sup>-1</sup> с<sup>-1</sup>.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №18-74-00021



## ГИПОХЛОРИТ-ИНДУЦИРОВАННАЯ ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ ФИБРИНОГЕНА: СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ НАРУШЕНИЯ

**Юрина Л.В.<sup>1</sup>, Васильева А.Д.<sup>1</sup>, Бугрова А.Е.<sup>1</sup>, Индейкина М.И.<sup>1,2</sup>, Азарова Д.Ю.<sup>1</sup>,  
Кононихин А.С.<sup>2,3</sup>, Николаев Е.Н.<sup>3,4</sup>, Розенфельд М.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия;  
<sup>2</sup>ФГАОУ ВО Московский физико-технический институт (государственный университет),  
Долгопрудный, Московская область, Россия; <sup>3</sup>ФИНЭПХФ РАН им. В. Л. Тальрозе,  
Москва, Россия; <sup>4</sup>Автономная некоммерческая образовательная организация высшего  
профессионального образования “Сколковский институт науки и технологий”,  
Московская область, Сколково, Россия

*lyu.yurina@gmail.com*

Будучи уязвимой мишенью для активных форм кислорода (АФК), молекулы фибриногена (ФГ), циркулируя в плазме крови, постоянно подвергаются свободнорадикальной атаке. Пост-трансляционные окислительные модификации ФГ вызывают нарушения функциональных свойств белка и, как следствие, сборку фибрина, характеризующегося аномальной архитектурой, пониженной прочностью и эластичностью. Альтернативная сборка трехмерной структуры фибриновой сети при окислении ФГ может быть обусловлена окислительными модификациями специфических остатков метионина, принадлежащих  $\text{A}\alpha$ -,  $\text{B}\beta$ - и  $\gamma$ -полипептидным цепям и, прежде всего, метионина  $\text{A}\alpha\text{Met476}$ , локализованного в  $\alpha\text{C}$ -домене.

При исследовании окислительной модификации ФГ методом масс-спектрометрии были проанализированы образцы ФГ, не подвергающиеся индуцированному окислению (контроль) и обработанные  $50 \mu\text{mol} / \text{mg}$  белка гипохлорита (опыт). Как в контрольном, так и опытных образцах был картирован целый ряд участков полипептидных  $\text{A}\alpha$ -,  $\text{B}\beta$ - и  $\gamma$ -цепей ФГ. Покрывтия для этих цепей в контроле и опыте составили: и 77%, 84%, 83%, соответственно. Оказалось, что при индуцируемом окислении ФГ, модификации затрагивают различные аминокислотные остатки (АКО), принадлежащие всем трем полипептидным цепям белка.

Окисление ФГ вызывает ингибирование полимеризации фибрина, снижение мутности благодаря тому, что структура такого фибрина характеризуется более тонкими индивидуальными фибриллами, низкой пористостью и уменьшенной механической прочностью по сравнению с фибрином, образованным из неокисленного ФГ.

Набор окислительных сайтов, идентифицированных в нашей работе, получен впервые. Он позволяет проанализировать особенности окислительной модификации молекул ФГ в условиях, близких к таковым в кровотоке. Масс-спектрометрические данные демонстрируют возможности структуры ФГ удерживать в неприкосновенности витальные АКО и пептидные фрагменты при окислительных атаках, что в совокупности с большим количеством обнаруженных модифицированных остатков метионинов, рассматриваемых как перехватчики АФК, позволяет предполагать наличие структурной антиоксидантной адаптации белка.

Исследование выполнено в рамках бюджетного финансирования по государственному заданию (тема 0084-2014-0001), а также при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №18-04-01313. Масс-спектрометрические данные получены при поддержке гранта Российского Научного фонда, № 14-24-00114.



## СЕКЦИЯ "МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ"

### ВЛИЯНИЕ НА БИОДЕГРАДАЦИЮ БЕЛОГО ФОСФОРА СОСТАВА КУЛЬТУРАЛЬНЫХ СРЕД

Акосах Й.А.<sup>1</sup>, Миндубаев А.З.<sup>2</sup>, Бабынин Э.В.<sup>1</sup>, Бадеева Е.К.<sup>2</sup>, Минзанова С.Т.<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>ФГБУН ФИЦ КазНЦ РАН, Институт органической и физической химии им. А.Е.

Арбузова, Казань, Россия

*mindubaev-az@yandex.ru*

В рамках наших предыдущих исследований были сделаны значительные успехи. Тем не менее, некоторые важные проблемы оставались нерешенными. Например, вопрос о влиянии солей меди на биodeградацию белого фосфора.

Поскольку белый фосфор при комнатной температуре активно реагирует с ионами двухвалентной меди, до последнего времени не был подтвержден факт его биodeградации: превращения можно было объяснить химической реакцией. Мы впервые провели дальнейшую модификацию среды Придхем-Готлиба, исключив из ее состава не только источник фосфора фосфат, но и сульфат меди. Только исключив из состава  $\text{CuSO}_4$ , и наблюдая, тем не менее, рост микроорганизмов, мы можем получить более обоснованные доводы в пользу биodeградации белого фосфора. Мы провели параллельные посевы культур аспергиллов в культуральные среды нескольких составов с целью подбора оптимальной.

Мы исследовали рост четырех штаммов *A. niger*, из них один (AM1) выделен нами из реактива белого фосфора. Еще три штамма любезно предоставлены нам Всероссийской коллекцией микроорганизмов (ВКМ), при ИБФМ им. Г.К. Скрыбина (Пушино).

В среде с белым фосфором в качестве единственного источника фосфора наиболее интенсивный рост аспергиллов наблюдается в диапазоне концентраций от 0.25 до 0.0017%. Замедление роста при более высоких концентрациях  $\text{P}_4$  объясняется токсическим действием последнего. А замедление роста при более низких концентрациях белого фосфора объясняется нехваткой биогенного элемента фосфора, необходимого для жизнедеятельности. В целом, рост в среде с  $\text{P}_4$  в качестве единственного источника фосфора свидетельствует о метаболическом превращении токсичного белого фосфора в биогенный фосфат. В среде с белым фосфором и фосфатом в качестве источника фосфора интенсивность роста аспергиллов возрастает пропорционально снижению концентрации белого фосфора.

В культуральной среде, не содержащей сульфат меди, рост грибов не отличается от роста в контроле с медью. Следует отметить, что при внесении эмульсии белого фосфора в среду, не содержащую медь, не наблюдалось выпадение черного осадка, отмеченное нами в более ранних работах. Значит,  $\text{P}_4$  не вступает в химическую реакцию и сохраняется в среде более длительное время. Этот факт является дополнительным аргументом в пользу того, что имеет место биodeградация белого фосфора, а не химическая нейтрализация ионами меди.

Наиболее оптимальными являются среды, содержащие нитрат натрия. Наименее благоприятной является среда с аммонийной формой азота. Из этого результата можно сделать вывод о том, что *A. niger* AM1 предпочитает нитратный азот аммонийному, и что нитрат является важным фактором, благоприятствующим росту данного микроорганизма и биodeградации белого фосфора.



Эта работа была выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проект 15-29-02629 офи\_м и Фонда содействия инновациям, проект № С1-34299.

## АССОЦИИИ МИКРООРГАНИЗМОВ С НЕМАТОДАМИ, ПОРАЖАЮЩИМИ РАСТЕНИЯ

Аль-Накиб Е.А.<sup>1</sup>, Кучман Ю.С.<sup>1</sup>, Дорофеева Л.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ РАН, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина, Пушкино, Россия

*ealnakib@mail.ru*

Фитогельминты являются наиболее патогенными для растений организмами. Ежегодно в результате поражения нематодами сельскохозяйственных растений погибает огромное количество ценных пищевых и кормовых культур. Паразитические нематоды снижают товарные качества продукции. Страдают также крупный и мелкий рогатый скот, поскольку происходят тяжелые отравления. Нематодные поражения можно наблюдать повсеместно, поскольку они способны поражать любое растение. Известно, что нематоды ассоциируют с микроорганизмами – грибами, вирусами, бактериями. Особенно часто встречаются организмы актиномицетной линии эволюции (актиномицеты). Они отличаются наиболее сложной организацией генома и фенотипа. Среди актиномицетов, ассоциированных с нематодами, наиболее изученными являются коринеформные организмы семейства *Microbacteriaceae*. Бактерии переносятся на хозяйские растения нематодами рода *Anguina* и могут заселять растительные галлы, индуцированные ангвинами на хозяйских растениях. Детальное изучение этих ассоциаций поможет установить причину образования галлов и поражения растений. В процессе работы проводились экспериментальные исследования по изучению микробного состава образцов пораженных нематодами растений. Были выделены чистые культуры микроорганизмов, определены культуральные признаки и проведена идентификация методами MALDI-TOF и анализа нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК. Объектом служили образцы растений с признаками нематодного поражения. Использованные среды: среда для выделения геодерматофилов, среда для выделения метилотрофов, среда R2A, среда с добавлением солода, среда YIM 47, среда Soy. Они были максимально очищены от растительных остатков и гомогенизированы. После культивирования на плотной питательной среде, были изучены морфологические и культуральные свойства. По результатам MALDI удалось идентифицировать роды *Rhodococcus*, *Rathayibacter*, *Artrobacter*, *Frigoribacterium*, *Microbacterium* и *Clavibacter*, относящиеся к классу *Actinobacteria*. Штаммы класса *Actinobacteria* составляют 56% из общего количества выделенных изолятов из образцов галлов, пораженных нематодами растений Москвы и Московской области. Роды *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Methylobacterium*, *Pantoea* из класса гамма-протеобактерии и род *Rhizobium* из альфа-протеобактерий. Филогенетический анализ проводили в программе MEGA. Для анализа использовали нуклеотидные последовательности генов 16S рРНК типовых штаммов известных видов рода *Curtobacterium*, депонированные в GenBank. Сходство генов 16S рРНК определяли с помощью ресурсов и алгоритмов, имеющихся на сайте EzBioCloud.



## ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИТЕЛ К ЦИТОМЕГАЛОВИРУСУ И ВИРУСАМ ПРОСТОГО ГЕРПЕСА МЕТОДОМ ИФА У ПАЦИЕНТОВ ГБУЗ «НИИ-ККБ №1» Г.КРАСНОДАРА

**Астафьева С.И.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

*svetlanaastafeva@mail.ru*

Герпес - самая распространенная вирусная инфекция человека, длительно существующая в организме, преимущественно в латентной форме. По данным Всемирной организации здравоохранения, к 12-летнему возрасту 90% россиян уже инфицировано вирусом герпеса первого типа. Вирусы семейства герпеса могут приводить к первичному поражению организма с различной симптоматикой (от легкой до крайне тяжелых форм) и вторичному, при длительном персистировании, иммунодефициту, активируясь в ответ на иммуносупрессию. Неблагоприятная экологическая обстановка, снижение уровня социальной защиты населения и, как следствие, угнетение защитных сил организма способствуют существенному увеличению числа больных в России.

В качестве объектов исследования были использованы образцы сыворотки крови пациентов ГБУЗ «НИИ-ККБ №1 имени профессора С.В. Очаповского» г. Краснодара. Для выявления в сыворотке крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа IgM и IgG к вирусам простого герпеса (ВПГ) использовали наборы «ВектоВПГ-IgM» и «ВектоВПГ-IgG», к цитомегаловирусу (ЦМВ) - «ВектоЦМВ-IgM» и «ВектоЦМВ-IgG» («Вектор-Бест», Новосибирск, Россия).

Целью исследования явилось выявление IgG и IgM к ВПГ и ЦМВ методом ИФА у пациентов ГБУЗ «НИИ-ККБ №1». Были обследованы 300 образцов сыворотки крови пациентов из 11 отделений стационара ККБ №1. Чаще других положительные результаты были обнаружены у пациентов неврологического – 30% от всех обследованных, нефрологического – 27% и реанимационного – 16% отделений. Наименьший процент зарегистрирован в пульмонологическом, урологическом и гинекологическом отделениях. Выявляемость IgG к ЦМВ у обследованных нами пациентов, мужчин и женщин, резко возрастала после 25 лет, а после 36 лет достигала 100%. Частота обнаружения IgG к ВПГ у возрастных групп старше 55 лет также достигала 100% как у мужчин, так и у женщин. Острая фаза заболевания (IgG и IgM) была отмечена у 39 обследованных – при ВПГ и 46 – при ЦМВ.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что герпесвирусная инфекция находится в организме преимущественно в хронической форме, а снижение иммунитета может приводить к рецидиву заболевания.

## ОПТИМИЗАЦИЯ СПОСОБА ОЦЕНКИ ФУНГИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ ШТАММА *BACILLUS SUBTILIS* BZR 336G

**Астахов М.М.<sup>1,2</sup>, Козицын А.Е.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ ВНИИ Биологической защиты растений, Краснодар, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

*astahov.91@inbox.ru*

Актуальность данной работы связана с широким применением химических средств защиты в растениеводстве, начавшейся во времена Зелёной революции в 40-х годах прошлого века и продолжающейся по сей день. Подобный подход к сельскому хозяйству



вызывает множество серьезных проблем, поэтому в настоящее время растёт интерес к микробным биопрепаратам, которые помимо ростстимулирующего эффекта обладают антагонистической активностью к возбудителям болезней растений. Чтобы оценить эффективность штаммов-продуцентов биофунгицидов требуются простые методы оценки антагонистической активности, отображающие точные воспроизводимые результаты. В данной работе рассматривались две модификации метода встречных культур, для оценки наибольшей эффективности и воспроизводимости результатов.

В данном исследовании изучалось влияние способа внесения бактериального штамма-антагониста к фитопатогенному грибу *Fusarium oxysporum* на качество получаемых результатов, их воспроизводимость и удобство учёта.

В лаборатории создания микробиологических средств защиты растений и коллекции микроорганизмов ФГБНУ ВНИИБЗР разработан опытный образец биопрепарата на основе *Bacillus subtilis* BZR 336g для защиты сельхоз культур от экономически значимых болезней, вызываемых плесневыми грибами.

Объектом является один из перспективных бактериальных штаммов-продуцентов биофунгицидов *Bacillus subtilis* BZR 336g. В качестве тест-культуры для оценки биологической активности данного штамма использовался фитопатогенный гриб *Fusarium oxysporum*. Антагонизм исследовали в лабораторных условиях двумя оригинальными методами. В первом варианте опыта стерильным пробойным сверлом вырезали лунки в плотной КГА-среде, затем стерильной пипеткой в лунки закапывали суспензию клеток исследуемого штамма. Во втором варианте опыта исследуемый штамм вносили в расплавленную и остуженную среду, вмешивая её в суспензию лёгкими вращательными движениями, после чего чашки Петри оставляли на горизонтальной поверхности до застывания.

Наиболее эффективно проявил себя метод вмешивания суспензии в питательную среду. При его использовании ингибирование мицелия достигло 81%. В луночном варианте этот показатель достиг 67%. Также была выявлена необходимость совместного культивирования микроорганизмов в течение 10 суток для наиболее точного результата, что связано с отставанием в росте мицелия *F. oxysporum* от бактериального агента антагониста, по отношению к контрольным вариантам.

## АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ У ПАЦИЕНТОВ НА ПРИМЕРЕ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА KLEBSIELLA

Ахмедзянова П.Д.<sup>1</sup>, Соловьева Г.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия; <sup>2</sup>МБУЗ Выселковская центральная районная больница имени заслуженного врача РФ В.Ф. Долгополова, ст. Выселки, Россия

*polahmedzyanova@gmail.com*

Бактерии рода *Klebsiella* могут вызывать различные инфекционные заболевания человека. Штаммы *K. pneumoniae* и *K. oxytoca* устойчивые к антимикробным препаратам, представляют серьёзную проблему для практического здравоохранения и отнесены ВОЗ в группу возбудителей с «критически высоким уровнем приоритетности».

Целью работы является определение спектра чувствительности к антимикробной терапии штаммов рода *Klebsiella* разной видовой принадлежности выделенных от больных пребывающих в хирургическом, реанимационном, гинекологическом, детском и терапевтическом отделениях МБУЗ ЦРБ Выселковского района. Чувствительность микроорганизмов определяли с помощью диско-диффузионного метода и методом



высокочувствительной фотометрии на анализаторе "Microscan autoScan4". Оценка резистентности штаммов *Klebsiella* проводилась на выборке из 214 пациентов. Количество резистентных штаммов больше всего представлено в хирургическом и реанимационном отделениях больницы. Штаммы проявляли устойчивость во всех отделениях МБУЗ ЦРБ Выселковского района к ампициллину (93,7%), ципрофлоксацину (64,5%), левофлоксацину (60,1%).

Карбапенемы (меропенем, имипенем) были стопроцентно эффективны в терапевтическом, детском и гинекологическом отделениях ЦРБ, так же проявили хорошую задержку роста бактерий рода *Klebsiella* в хирургическом отделении (91,9% чувствительных штаммов).

Амикацин, относящийся к группе аминогликозидов, показал высокие результаты задержки роста бактерий во всех отделениях ЦРБ (82,9% чувствительных штаммов).

Цефалоспорины в комбинациях, такие как цефоперазон/сульбактам показывали стопроцентную эффективность в детском и гинекологическом отделениях и значительно воздействовали на рост бактерий в хирургическом отделении (87,3% чувствительных штаммов).

Нитрофурантоин, относящийся к нитрофуранам, показал низкие результаты в подавлении роста микроорганизмов в хирургическом отделении (83,3% резистентных штаммов) и отделении анестезиологии-реанимации (94,1% резистентных штаммов), но был эффективен на сто процентов в гинекологическом и детском отделениях.

Бета-лактамазой расширенного спектра обладали 14 штаммов *Klebsiella*, выделенные от пациентов в различных отделениях ЦРБ.

Вариабельность уровней и спектров антибиотикорезистентности штаммов рода *Klebsiella* обуславливает необходимость проведения микробиологического наблюдения за распространением устойчивых штаммов и анализом механизмов формирования резистентности.

## СОЗДАНИЕ КОЛЛЕКЦИИ ЭНДОЛИЗИНОВ И ИХ ДОМЕНОВ В КАЧЕСТВЕ ПЛАТФОРМЫ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ НОВЫХ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ СРЕДСТВ

**Байчер С.Д.<sup>1,2</sup>, Шадрин А.М.<sup>2,3</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ РАН, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пущино, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия

*matt.jeevas@mail.ru*

Ферменты бактериофагов, эндолизины, высокоспецифично разрушающие клеточную стенку бактерий, стали объектом пристального внимания в последние десятилетия в связи с возрастающей антибиотикорезистентностью. Их наиболее перспективным применением является использование в медицинской практике, особенно по отношению к группе ESKAPE (аббревиатура, включающая названия шести бактериальных патогенов, зачастую обладающих устойчивостью к наиболее широко применяемым антибиотикам), куда входит *Enterococcus faecium* – возбудитель мочеполовых заболеваний и бактериемий, приводящих, при наличии ослабленного иммунитета, к летальному исходу. Кроме того, эндолизины могут играть роль инструментов для детекции и уничтожения бактерий в пищевой продукции до её попадания на прилавок, в том числе для представителей группы *Bacillus cereus*, вызывающих пищевые отравления. Учитывая изменчивость строения клеточных стенок





патогенов, в совокупности с перспективой перехода к персонализированной медицине, для борьбы с бактериальными инфекциями эффективной мерой является создание коллекций эндолизинов и их доменов, чтобы ситуационно конструировать подходящие в каждом конкретном случае ферменты.

В данной работе использованы два эндолизина бактериофага, инфицирующего *Enterococcus faecium*, а также эндолизин из бактериофага  $\phi$ lzh57, проявляющего активность к широкому спектру представителей группы *Bacillus cereus*.

В результате внедрённых изменений, к числу которых относятся: удлинение линкерного участка, удаление пептидогликан-связывающего домена и сочетание доменов различных эндолизинов между собой, было сконструировано 12 химерных белков. Для каждого из выделенных ферментов было проведено изучение специфичности, термостабильности, влияния pH и ионной силы раствора. На основании полученных данных составлен перечень свойств изученных доменов

## ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ ВИНОГРАДНОГО ВИНА И КОЖИЦЫ ВИНОГРАДА НА БАКТЕРИИ *ESCHERICHIA COLI*

**Безматерных К.В.<sup>1</sup>, Смирнова Г.В.<sup>1</sup>, Октябрьский О.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН ПФИЦ УрО РАН, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО  
РАН, Пермь, Россия

*hydrargyrum@iegm.ru*

Исследование растительных полифенолов привлекает большое внимание в связи с их положительным влиянием на здоровье. Виноград является одной из наиболее распространенных в мире плодовых культур с высоким содержанием полифенолов. Бактерии, обитающие в кишечнике, принимают непосредственное участие в метаболизме полифенолов и, в отличие от клеток хозяина, могут подвергаться воздействию высоких концентраций немодифицированных полифенолов, что может оказывать существенное влияние на видовой состав и физиологическое состояние микробиоты. В настоящее время хорошо известно, что совокупная микробиота выступает как важный метаболический орган, и ее дисбаланс приводит к различным расстройствам и хроническим заболеваниям. В данной работе мы изучали влияние экстрактов виноградного вина и кожицы винограда на *Escherichia coli*, типичного представителя нормофлоры желудочно-кишечного тракта.

С использованием реактива Folin-Ciocalteu показано, что в экстракте красного виноградного вина «PRIOS» общий уровень полифенолов был в 2 раза выше, чем в экстракте кожицы винограда Кишмиш. ВЭЖХ анализ выявил наличие галловой и кофейной кислот, эпигаллокатехингаллата, танина, кверцетина, ресвератрола и ряда других соединений. Экстракты имели примерно одинаковое количество ресвератрола, но различались по содержанию кверцетина, которого в кожице было в 2 раза больше, чем в вине. Из-за низкой растворимости соединений в составе экстрактов и токсичного действия на бактерии самого растворителя (ДМСО), мы не смогли определить значение минимальной ингибирующей концентрации (МИК) экстрактов. В экспериментах были использованы концентрации ниже МИК: 3.6 мг/мл вина и 3.8 мг/мл кожицы винограда. Добавление экстрактов вина и кожицы в культуральную среду приводило к временному ингибированию удельной скорости роста бактерий на 28 и 30% соответственно. При этом экстракт вина оказывал некоторое бактерицидное действие на *E. coli*, снижая количество колониеобразующих единиц (КОЕ) через 70 мин экспозиции в 1.8 раза относительно контроля. Экстракт кожицы винограда не влиял на количество КОЕ.



Таким образом, оба экстракта демонстрировали умеренное бактериостатическое действие на клетки *E. coli* в условиях *in vitro*. Бактерицидный эффект экстракта вина был, по-видимому, обусловлен суммарным действием ингредиентов, входящих в его состав. Модулирующие эффекты полифенолов красного вина на рост *Escherichia coli in vivo* требуют дальнейшего исследования.

Работа выполнена в соответствии с государственным заданием 01201353246 и поддержана грантом Президента РФ МК-3376.2018.4.

## ВЛИЯНИЕ РЕПРЕССОРА БЕЛКОВ ТЕПЛООВОГО ШОКА НА ДЕГРАДАЦИЮ ГЕКСАДЕКАНА БАКТЕРИЯМИ RHODOCOCCUS PYRIDINIVORANS 5AP

Букляревич А.А.<sup>1</sup>, Титок М.А.<sup>1</sup>

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

*ann\_bukl@tut.by*

Из образца загрязненной нефтепродуктами почвы были изолированы бактерии *R. pyridinivorans* 5Ap, растущие при температуре от 18°C до 45°C, в среде с pH от 6 до 11, в присутствии NaCl до 7%. Данные бактерии способны использовать в качестве единственного источника углерода и энергии широкий спектр органических соединений и эффективно утилизировать нефть в песчаной почве. Перечисленные свойства свидетельствуют о высокой адаптивной способности этих микроорганизмов и возможности их использования для биоремедиации загрязненной среды от опасных соединений. Ранее было установлено, что утилизация ряда органических соединений данными бактериями зависит от функциональной активности белков теплового шока (GroEL1 и GroES). Мутанты с инактивированными генами *groELS* в 1,7 раза хуже деградировали гексадекан при температуре 42°C.

Особенностью актиномицетов является присутствие в хромосоме двух копий генов *groEL* и одной копии *groES*, транскрипция которых негативно регулируется белком HrcA за счет связывания с инвертированными повторами CIRCE в области «-10» и «-35». Анализ генома бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap позволил выявить сайты связывания репрессора HrcA. Два сайта локализовались в промоторной области гена *groEL2* (коор. 3989218–3989244 и 3989253–3989259). Перед опероном *groESL* (коор. 3557800–3557826) и геном, кодирующим белок-антифриз I типа (коор. 1061166–1061192) обнаружено по одному сайту связывания белка HrcA.

Используя молекулярные методы, фрагмент гена, кодирующего белок репрессор, был встроен в состав суицидального вектора pK18mob, введение которого в клетки бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap позволило отобрать мутантные варианты с инактивированной детерминантой *hrcA*. Предполагали, что в отсутствие репрессора в клетке увеличиться экспрессия генов *gro* и, как следствие, возрастет эффективность деградации гексадекана. Утилизацию гексадекана оценивали после культивирования исходных и мутантных бактерий при 28°C и 42°C соответственно. При этом добавочно анализировали штамм дикого типа, который выращивали в течение 3 часов при температуре 28°C, затем в течение трех часов подвергали температурному стрессу (42°C), после чего опять культивировали при 28°C. В результате этих экспериментов было установлено, что штамм дикого типа, временно подвергавшийся температурному воздействию, и мутант HrcA–незначительно, но более эффективно утилизировали гексадекан при 28°C. При 42°C в отсутствие HrcA–репрессора эффективность деградации гексадекана снижалась.



Следовательно, для утилизации этого соединения необходимы дополнительные белки, синтез которых снижается в отсутствии белка HrcA.

## ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА ЦИАНОБАКТЕРИАЛЬНОЙ ПРИРОДЫ BIOР НА РОСТ И ЛИПИДООБРАЗОВАНИЕ СТРЕПТОМИЦЕТОВ

**Бырса М.Н.<sup>1</sup>, Васильчук А.В.<sup>1</sup>, Березюк Ю.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт микробиологии и биотехнологии, Кишинев, Республика Молдова

*mellon23@yandex.ru*

Штаммы рода *Streptomyces* отличаются способностью продуцировать вторичные метаболиты, важные для роста и развития различных организмов. Их качественный и количественный состав зависит от состава среды культивирования. Стоит отметить, что в природе они образуют вместе с цианобактериями микробные ассоциации, ведя непрерывный обмен веществ между собой. Учитывая литературные данные, с целью повышения количества биологически активных веществ, содержащихся в различных штаммах стрептомицетов, в состав жидких классических сред культивирования был добавлен препарат BioR, полученный из биомассы цианобактерий *Arthrospira platensis*, содержащий аминокислоты и олигопептиды.

Установлено, что добавление препарата BioR в комплексную питательную среду по-разному влияет на рост и накопление биомассы изучаемых штаммов стрептомицетов. Так, например, количество биомассы у *S. canosus* CNMN-Ас-02 в опытах превышало контрольные показатели на 10.09-81.38 %, у *S. massasporeus* CNMN-Ас-06 на 9.58-35.67 % и у *S. fradiae* CNMN-Ас-11 на 6.1-18.17 % в зависимости от концентрации добавленного в среду препарата. Причём наибольшее количество биомассы было отмечено при культивировании *S. canosus* с добавлением в среду BioR в концентрации 20.0 % (на 81.38 %), а у *S. massasporeus* – при концентрации BioR 10.0 % (на 35.67 %) и *S. fradiae* – при концентрации BioR 0.1 % (на 18.17 %).

Содержания липидов в биомассе изучаемых штаммов стрептомицетов также изменялось в зависимости от количества добавленного в среду культивирования препарата BioR. Замечено, что в биомассе *S. canosus* больше общих липидов, если этот препарат добавляли в среду в малых концентрациях (0.1-1.0 %) – на 38.36 % больше, чем в контроле при концентрации BioR в среде 1.0 %. Количество общих липидов в биомассе *S. massasporeus* увеличилось на 22.4 %, если в среде присутствовал BioR в количестве 10.0 %. У *S. fradiae* не было замечено в условиях проводимых опытов увеличения количества общих липидов в биомассе при добавлении в среду препарата BioR.

Таким образом, проведенные исследования показали, что препарат цианобактериальной природы BioR обладает способностью активировать рост и накопление биомассы у стрептомицетов в той или иной степени, в зависимости от того, в какой концентрации он добавлен в жидкую комплексную среду.



## АМИНОКИСЛОТЫ БИОМАССЫ STREPTOMYCES MASSASPOREUS CNMN-AC-06, КУЛЬТИВИРОВАННОГО НА КОМПЛЕКСНОЙ СРЕДЕ (R) С ПРЕПАРАТАМИ ЦИАНОБАКТЕРИАЛЬНОЙ ПРИРОДЫ

**Васильчук А.В.<sup>1</sup>, Бырса М.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт микробиологии и биотехнологии, Кишинев, Республика Молдова,

*vasilchuk2009@mail.ru*

В настоящее время более половины населения планеты испытывает острый дефицит белка, и аминокислотам принадлежит большая роль в проблеме его ликвидации, поскольку широкое использование аминокислотных добавок является одним из решающих условий в развитии кормопроизводства и животноводства. На сегодня главным их поставщиком служит микробиологическая промышленность. Среди микроорганизмов одно из первых мест занимают актиномицеты, штаммы которых являются активными в отношении синтеза аминокислот. В частности, род *Streptomyces* привлекает особое внимание как один из источников получения этих веществ. Повышение количества той или иной аминокислоты в биомассе можно получить, изменяя состав питательной среды для культивирования микроорганизмов.

Целью исследований являлось изучение аминокислотного состава биомассы *Streptomyces massasporus* CNMN-AC-06, полученной при культивировании штамма на комплексной среде с добавлением препаратов цианобактериальной природы. Аминокислотный состав биомассы определяли методом ионообменной хроматографии на аминокислотном анализаторе ААА-339 М „Microtehnа” (Чехия).

В результате проведенных опытов установлено увеличение количества отдельных аминокислот при оптимизации среды препаратами цианобактерий. Например, количество цистеиновой кислоты выросло на 483,2 %, метионина – на 121,39%, цистеина на 98,89%, аланина – на 67,83%, гистидина – на 66,49%, агринина – на 61,82%, лейцина –на 38, 22%, треонина –на 29,79% по сравнению с контрольным образцом биомассы при добавлении в питательную среду препарата BioR в концентрации 2,0%. Увеличение количества таких аминокислот как, пролин, глицин, валин, изолейцин, фенилаланин, лизин менее выражено. В вариантах опытов при добавлении препарата полисахаридов в концентрации 50,0% в питательную среду наблюдалось выраженное увеличение такой аминокислоты как орнитин – почти на 216,84%, гистидин – на 74,9%, пролин –на 63,2%. Тенденция значительного увеличения количества, в основном, просматривалась для незаменимых аминокислот, что говорит о расширении возможности получения этих аминокислот в гораздо большем количестве, используя стрептомицеты почв Молдовы.

Таким образом, полученные данные позволяют рекомендовать препараты цианобактерий для повышения биосинтетической активности стрептомицетов, в частности, увеличения накопления биомассы с улучшенным качественным и

количественным аминокислотным составом, рассматривая её как основу новых биопрепаратов для сельскохозяйственных животных и птицы.



## ПОИСК ГЕНОВ ПЕРМЕАЗ АМИНОКИСЛОТ У ДРОЖЖЕЙ *PICNIA PASTORIS*

**Волков А.А.<sup>1</sup>, Румянцев А.М.<sup>1</sup>, Самбук Е.В.<sup>1</sup>**

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

*volkov.art.andr@gmail.com*

Метилотрофные дрожжи *Pichia pastoris* широко используются в современной биотехнологии для синтеза рекомбинантных белков. При этом применяются промоторы генов метаболизма метанола (*MUT*-генов), в частности гена алкогольоксидазы 1 (*AOX1*). В связи с этим большой практический интерес вызывает изучение механизмов регуляции этих генов. В нашей лаборатории было показано, что помимо уже известного механизма регуляции активности гена *AOX1* источником углерода (глицерином и метанолом), существует отдельный механизм его репрессии при наличии пролина в среде.

Целью данной работы являлся поиск генов *P. pastoris*, кодирующих пермеазы, осуществляющие транспорт пролина, и получение штаммов, содержащих делеции в этих генах.

На первом этапе работы провели биоинформатический анализ протеома и генома дрожжей *P.pastoris*. Для поиска пермеаз аминокислот и соответствующих генов использовали последовательности, известные для другого вида дрожжей - *Saccharomyces cerevisiae*. Было обнаружено, что у *P. pastoris* присутствуют три гена, гомологичных гену *GAP1 S. cerevisiae*, кодирующему основную пермеазу аминокислот и два гена, гомологичных гену *PUT4*, кодирующему специфическую пермеазу пролина. Гены, выявленные у *P.pastoris* были условно обозначены как *PpGAP1-1*, *PpGAP1-2*, *PpGAP1-3*, *PpPUT4-1*, *PpPUT4-2*.

На втором этапе работы были получены штаммы дрожжей *P. pastoris*, содержащие делеции соответствующих генов. Для этого были сконструированы плазмиды, содержащие 5' и 3' фланкирующие последовательности данных генов. Между ними была помещена последовательность гена устойчивости к антибиотику зеоцину (*sh ble*). Плазмидами трансформировали штамм дрожжей tr2-4-GS115 *PAOX-PHO5 phox*. Полученные трансформанты характеризуются наличием делеций в генах *PpGAP1-1*, *PpGAP1-2*, *PpGAP1-3*, *PpPUT4-1*, *PpPUT4-2*. Так же они содержат репортерный ген кислой фосфатазы *PHO5* под контролем промотора гена *AOX1*, что позволяет исследовать регуляцию данного промотора в различных условиях.

В ходе дальнейшей работы будет проведено исследование влияния делеций в генах, кодирующих пермеазы, на регуляцию промотора гена *AOX1* и других *MUT*-генов пролином у *P. pastoris*. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-34-00750.



## АНАЛИЗ БИОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА МАТРИКСА БИОПЛЕНОК АКНЕИЧЕСКОГО ШТАММА CUTIBACTERIUM ACNES RT5

**Ганнесен А.В.<sup>1</sup>, Здоровенко Э.Л.<sup>2</sup>, Бочкова Е.А.<sup>1</sup>, Ардуэн Ж.<sup>3</sup>, Масье С.<sup>3</sup>,  
Копицын Д.С.<sup>4</sup>, Горбачевский М.В.<sup>4</sup>, Кадыкова А.А.<sup>2,5</sup>, Шашков А.С.<sup>2</sup>, Журина М.В.<sup>1</sup>,  
Нетрусов А.И.<sup>6</sup>, Книрель Ю.А.<sup>2</sup>, Плакунов В.К.<sup>1</sup>, Фейоле М.Ж.Ж.<sup>7</sup>**

<sup>1</sup>ФИЦ Фундаментальные основы биотехнологии РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН  
Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, Москва, Россия; <sup>3</sup>Университет  
Руана, лаборатория полимерных и биополимерных поверхностей ( UMR 6270 PBS), Руан,  
Франция; <sup>4</sup>ФГАОУ ВО Российский государственный университет нефти и газа  
(национальный исследовательский университет) имени И.М. Губкина, Москва, Россия;  
<sup>5</sup>ФГБОУ ВО Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева,  
Москва, Россия; <sup>6</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В.  
Ломоносова, Москва Россия; <sup>7</sup>Университет Руана, лаборатория микробиологии, сигналов  
и микроокружения ( LMSM EA4312), Эврё, Франция

*andrei.gannesen@gmail.com*

На коже *Cutibacterium acnes* (ранее называвшийся *Propionibacterium acnes*), в зависимости от штамма и микроокружения, может выступать как комменсал или как условный патоген. Акнеические штаммы *C. acnes* формируют биопленки внутри полостей кожных желез, что является причиной воспалений и других кожных расстройств. Продукты, синтезируемые *C. acnes* (внеклеточные ферменты, факторы патогенности и т.д.), играющие важную роль в жизнедеятельности бактерии, накапливаются во внеклеточном матриксе биопленок *C. acnes*, что свидетельствует о ключевой роли матрикса биопленок *C. acnes* в патогенезе акне и других инфекций. Однако, на данный момент данные о составе матрикса *C. acnes* очень малочисленны. Мы разработали новую методику экстракции матрикса биопленок грамположительных бактерий без использования дополнительной химической или ферментной обработки, способной служить причиной артефактов. Мы обнаружили, что матрикс биопленок акнеического штамма *C. acnes* RT5 состоит преимущественно из полисахаридов и белков. При помощи количественных биохимических методов было определено сочетание главных компонентов матрикса – белков, ДНК и углеводов. Методом масс-спектрометрии по принципу орбитальной ловушки было определено 447 белков матрикса – гидролазы, шапероны, факторы гемолиза, другие белки и более чем 40 белков неизвестной природы и назначения. При помощи метода ядерно-магнитного резонанса была установлена структура основного полисахарида матрикса. Наши данные показывают, что матрикс биопленок *C. acnes* является сложной многокомпонентной системой, знание структуры которой позволит разработать новые антибиопленочные препараты, активные в отношении *C. acnes*.

Работа сотрудников ФИЦ Биотехнологии РАН и ИОХ РАН была частично поддержана финансированием Министерством высшего образования и науки Российской федерации, а работа Ганнесена А.В. была также поддержана грантом Campus France. Помимо этого, сбор и обработка результатов ЯМР сотрудниками были поддержаны грантом ИОХ им. Н.Д. Зелинского грантом РФ № 18-14-00098. Работа сотрудников РГУНГ им. И.М. Губкина поддержана грантом РФ 17-79-10489; сотрудников Университета Руана – грантами FEDER и региона Нормандии.



## МНОЖЕСТВЕННЫЕ АМИНОКИСЛОТНЫЕ ЗАМЕНЫ В КОДИРУЮЩЕЙ ЧАСТИ И ИЗМЕНЕНИЕ 3' UTR ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА ПРИ АДАПТАЦИИ К РАЗЛИЧНЫМ ТИПАМ КЛЕТОК

Гладышева А.В.<sup>1,2</sup>, Терновой В.А.<sup>1</sup>, Пономарева Е.П.<sup>1</sup>, Протопопова Е.В.<sup>1</sup>,  
Локтев В.Б.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п.Кольцово, Россия; <sup>2</sup>ФГАОУ ВО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

*gladysheva\_av@vector.nsc.ru*

Вирус клещевого энцефалита (ВКЭ) вызывает тяжелое неврологическое заболевание. Однако ни патогенетический механизм, ни вопрос того, как вирус может осуществлять свой жизненный цикл в таком широком спектре хозяев, нам до конца остаются не понятными.

Из мозга, погибшей от энцефалита женщины, был выделен штамм С11-13 ВКЭ. Адаптация к клеткам производилась путем серии пассажей на культурах клеток РЕК, 293 и Neuro-2a. После каждого пассажа производилось полногеномное секвенирование. Установлено, что адаптированный к клеткам штамм С11-13 приобрел множественные аминокислотные замены. Замещение происходило преимущественно в белках NS2a, NS3 и NS5. Нами было произведено полноразмерное выравнивание нуклеотидных последовательностей 3'UTR и моделирование вторичных структур 3' UTRs РНК ВКЭ. Было обнаружено увеличение длины варибельного региона 3' UTR (V3'UTR). С пассажной историей размер V3'UTR изменяется от 107 до 144 нуклеотидов. Установлено, что классическая Y-3 структура у штамма С11-13 сформировалась в процессе многократного пассирования на клетках, хотя изначально это была гантелеобразная (DB) структура. Форма Y-3 в целом сохранялась для различных вариантов и штаммов внутри сибирского генотипа, приобретая лишь дополнительные стеблевые петли (SL). Например, у штамма Kolarovo-2008 имеется пять шпилек, вместо двух.

Нами были построены 3' UTRs 22 последовательностей различных штаммов ВКЭ, ранее полученных в условиях нашей лаборатории. Анализ вторичных структур позволил установить, что основную роль в варьировании размеров вирусного генома играет значительная гетерогенность V3'UTR, размер которой, в целом, колеблется от 67 до 446 нуклеотидов. Наиболее разнообразная структура V3'UTR характерна для европейского генотипа ВКЭ. Она представлена двойными Y-образными структурами и 2-4 стеблевыми петлями.

Исключение составил штамм Tomsk-PT122, у которого была обнаружена дополнительная вставка в V3'UTR (NAR). За счет чего размер V3'UTR увеличился до 413 нуклеотидов. NAR в V3'UTR у штамма Tomsk-PT122 полностью сформирован нуклеотидными вставками из кодирующих областей вирусного белка E и NS4a. А консервативная среди многих флавивирусов структура, 3'LSH у данного штамма претерпевает видоизменение. Пропадает SL 2 структура и высококонсервативный пентануклеотид SACAG.

Таким образом, наличие найденных делеций и инсерций в V3'UTR и множественных аминокислотных замен в белках NS2a, NS3 и NS5 позволяет предположить существование некоторого механизма редактирования генома ВКЭ, который принципиально важен как при репликации ВКЭ, так и при его адаптации к различным видам хозяев.



## ТАКСОНОМИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И ЭКОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС МИКРОБИОМА АГРОСЕРОЙ ЭВТРОФИРОВАННОЙ ПОЧВЫ

Голиков М.В.<sup>1</sup>

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

*cool.mik3492594@yandex.ru*

Применение минеральных и органических удобрений с целью поддержания стабильно высокого продукционного процесса сельскохозяйственных культур, является одной из главных причин агрогенной эвтрофикации почвы. Высокие концентрации биофильных элементов в местах расположения очагов удобрений в почве могут быть причиной микробного токсикоза почвы. В зависимости от интенсивности нагрузок на микробный комплекс почвы проявляются разные типы его модификационной изменчивости. Целью данной работы было исследование таксономической структуры и экофизиологического статуса удобряемой агросерой почвы.

Исследования проводились на седьмой и восьмой год микрополевого опыта, заложенного в 2011 г. на агросерой почве (ИФХиБПП РАН, г. Пущино) с возрастающими дозами минеральных (НРК) и органических (свежий навоз КРС) удобрений, вплоть до экстремальных. Характер отклика микробного сообщества на удобрительные нагрузки оценивали комплексом экофизиологических показателей. Количественная оценка обилия рибосомальных генов микроорганизмов проводилась методом ПЦР в реальном времени. Структура микробных сообществ почв оценивалась методом ДНК-метабаркодинга.

Применение органических удобрений существенно увеличивало микробную биомассу и активность физиологических процессов, а также способствовало развитию метаногенеза. Внесение НРК-удобрений полностью подавляло азотфиксирующую способность почвы и снижало микробную биомассу с увеличением вносимой дозы. Вне зависимости от дозы внесение органических удобрений многократно повышало численность микроорганизмов: количество рибосомальных генов архей повышалось в 2.5 раза, бактерий – в 5-7 раз, грибов – в 18-20 раз. Повышение дозы вносимых минеральных удобрения последовательно снижало численность копий генов архей (при N360P300K300 - в 2.5 раза). Внесение удобрений также предопределяло альфа-разнообразие микробного сообщества, которое возрастало с органическими удобрениями, и резко (до 2.5 раз) снижалось с ростом дозы НРК. Доля ряда филумов уменьшалась при росте дозы минеральных удобрений (*Acidobacteria* с 14% до 7%; *Chloroflexi* с 6% до 1%; *Verrucomicrobia* с 14% до 3%), тогда как для других, наоборот, увеличивалась (*Actinobacteria* с 13% до 17%; *Proteobacteria* с 26% до 54%; WPS-2 с 0.6% до 1.2%;).

Таким образом, длительное внесение разных доз удобрений приводит к ощутимым сдвигам в показателях микробиологического состояния почв, существенно сказываясь на численности, структуре и активности почвенного микробиома.

Исследование выполнено при поддержке РФФИ, проект № 19-04-00315.





## ИЗУЧЕНИЕ РОСТА НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ-ПРОДУЦЕНТОВ БИОСУРФАКТАНТОВ В ПРИСУТСТВИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Голуб А.А.<sup>1</sup>, Волченко Н.Н.<sup>1</sup>, Самков А.А.<sup>1</sup>, Худокормов А.А.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

[www.gol95@mail.ru](mailto:www.gol95@mail.ru)

В настоящее время в результате развития нефтедобывающей и нефтеперерабатывающей промышленности нефть является одним из главных компонентов загрязнения окружающей среды. Эта проблема является актуальной в наше время и достаточно серьезной, как в Краснодарском крае, так и на территории других регионов России. На сегодняшний день биологические методы очистки предусматривают использование штаммов микроорганизмов, способных усваивать различные углеводороды нефти в качестве единственного источника углерода.

Объектом исследования послужила выборка штаммов нефтеоокисляющих бактерий с известной гидрофобностью и поверхностно-активными свойствами, взятых из коллекции кафедры генетики, микробиологии и биотехнологии КубГУ. Целью работы стало изучение активности роста нефтеоокисляющих бактерий в присутствии тяжелых металлов (ТМ). Это обусловлено тем, что они могут являться загрязняющими веществами наряду с нефтепродуктами и устойчивость к ним микроорганизмов является важным фактором в случае практических работ по биоремедиации.

Проверка активности роста нефтеоокисляющих микроорганизмов производилась в два этапа. Вначале на плотной питательной среде, куда вносили тяжелые металлы в концентрациях от 100 до 500 мкг/мл с шагом в 100 мкг/мл. Далее на жидкой минеральной среде, с добавлением сахарозы в качестве единственного источника углерода и тяжелыми металлами, выбранными по минимальной ингибирующей концентрации. Последние были подобраны на основе данных, полученных в предыдущих исследованиях сотрудников кафедры – кобальт (150 мкг/мл), цинк (100 мкг/мл) и никель (250 мкг/мл).

По результатам эксперимента можно отметить, что большая часть штаммов росли на плотной питательной среде при максимальной концентрации ТМ в пределах 400 - 500 мкг/мл. Наименее устойчивыми показали себя штаммы: *Rhodococcus sp.* В8, Z2 – наблюдалось полное отсутствие роста в присутствии цинка; *Gordonia amicalis* K14 – рост при минимальной концентрации цинка и никеля в 200 мкг/мл; *Micrococcus sp.* K15 – рост при минимальной ингибирующей концентрации никеля и цинка и полное отсутствие роста в присутствии кобальта.

При оценке роста штаммов-продуцентов биоПАВ в жидкой минеральной среде в присутствии кобальта, цинка и никеля штаммами с максимальным приростом биомассы являлись *Rhodococcus sp.* - J8, Z5 и *Nocardia sp.* – K5.

Наименьшее ингибирующее воздействие на рост микроорганизмов в жидкой среде оказал никель, наибольшее – кобальт. Данные результаты могут быть использованы при подборе штаммов для применения в условиях одновременного загрязнения среды нефтепродуктами и тяжелыми металлами.



## ОПРЕДЕЛЕНИЕ РОСТА БИОМАССЫ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* НА СРЕДЕ С РАЗЛИЧНЫМИ ИСТОЧНИКАМИ УГЛЕРОДА

Григорова С.Д.<sup>1</sup>, Зеленская А.А.<sup>1</sup>, Сорокина В.Ю.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

*sonyatre@mail.ru*

Дрожжи – оптимальная модель для изучения многих процессов и явлений. Сахаромицеты традиционно являются одними из наиболее активно применяемых микроорганизмов как в исследовательских, так и производственных целях. Одной из типичных задач является оценка активности роста в зависимости от состава среды, в том числе – углеводов. Так известно, что питательные среды для выращивания дрожжей могут содержать различные формы сахаров: пентозу, глюкозу, фруктозу, сахарозу. Наиболее легко сбраживаются глюкоза и фруктоза. Несколько труднее – сахароза и мальтоза.

Целью работы являлось изучение особенностей роста *Saccharomyces cerevisiae* на среде с различными источниками углерода и их концентрацией в среде 0,5 и 5% и расчет кинетических параметров роста культуры. Для достижения поставленной цели были выдвинуты следующие задачи: культивировать дрожжи на средах с сахарами, содержащими разное количество атомов углерода, и с разной концентрацией этих сахаров; определить выход биомассы и удельную скорость роста. Культивирование проводилось на минеральной среде, в состав которой входят (г/л):  $\text{KNO}_3$  – 2;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 0,3;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  – 0,7;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,4. Источником углерода в среде были сахара, содержащие разное количество атомов углерода – арабиноза ( $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_5$ ), глюкоза ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ) и сахароза ( $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ ). Эти сахара были внесены в концентрации 0,5 % и 5%. Культивирование проводилось в термостате при температуре 37° С.

В финале опыта была проведена оценка выхода биомассы *Saccharomyces cerevisiae* гравиметрическим методом (АСВ). Наибольший выход биомассы на средах с 5 % концентрацией сахаров показали дрожжи, выросшие в присутствии арабинозы - 7,75 г/л, наименьший в присутствии глюкозы – 4,5 г/л. В средах с концентрацией сахаров 0,5 % максимальная продукция дрожжей наблюдалась на среде с арабинозой – 2,5 г/л, наименьший с сахарозой – 1,5 г/л.

Определение концентрации белка спектрофотометрическим методом показало наибольшие значения – 0,143 мг/л для среды, содержащей 5 % арабинозы, равно как и максимальное значение биомассы. На основе полученных данных были проведены кинетические расчеты ростовых характеристик – максимальная удельная скорость роста  $\mu = 0,0064 \text{ ч}^{-1}$  была отмечена на среде с арабинозой 0,5%.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что при использовании в культивировании дрожжей питательной среды на основе сахара арабинозы показывает наилучший прирост биомассы, наибольшее содержание белка и максимальную скорость роста по сравнению с другими сахарами.



## СКРИНИНГ ШТАММОВ *VIBRIO CHOLERAЕ* ПО ПОКАЗАТЕЛЮ АКТИВНОСТИ ХОЛЕРНОГО ТОКСИНА МЕТОДАМИ *IN VITRO*

Дуракова О.С.<sup>1</sup>, Громова О.В.<sup>1</sup>, Гаева А.В.<sup>1</sup>, Ливанова Л.Ф.<sup>1</sup>, Волох О.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт "Микроб"  
Роспотребнадзора, Саратов, Россия

*komissar92@yandex.ru*

Холерный токсин (ХТ), один из основных факторов вирулентности холерного вибриона, в макроорганизме вызывает формирование антитоксического иммунитета (WER, 2010). В настоящее время имеются как природные штаммы *Vibrio cholerae cholerae* (Mekalanos J.J. 1996), геноварианты *V. cholerae* El Tor (Nair G.B., 2002) с повышенной продукцией ХТ, так и сконструированные штаммы *V. cholerae* (Смирнова Н.И., 1993).

В настоящее время специфическая активность ХТ тестируется различными методами, такими как GM1-ELISA (Маркина О. В., 2003), реакцией пассивного иммунного гемолиза (РПИГ) (Шагинян И.А., 1983), методом кожной пробы по *Craig* на кроликах (Craig S. P., 1965).

Целью нашей работы явилась разработка методического подхода для выбора штаммов *V. cholerae* с максимальной продукцией холерного токсина с использованием комплекса методов *in vitro*.

Для исследования мы взяли 3 сконструированных штамма *V. cholerae*, 9 природных геновариантов *V. cholerae* El Tor и *V. cholerae cholerae* 569В (ГКПБ «Микроб»).

На первом этапе работы был проведен анализ штаммов на присутствие в хромосоме гена *ctxA* с использованием тест-системы для выявления ДНК *V. cholerae* (*ctxA*+) (ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб»). В результате было показано наличие гена *ctxA* у всех изученных штаммов.

Далее был проведен подбор питательной среды для максимального биосинтеза ХТ в условиях малообъемного культивирования. Были использованы бульон АК1, среда на основе ферментативного гидролизата фибрина, казеиновый бульон. Методами GM1-ИФА, ДИА, РПИГ показано, что максимальная продукция ХТ выявлена у штамма *V. cholerae* KM68 на среде с гидролизатом фибрина (Дуракова О.С., 2018). Для культивирования природных геновариантов использовали бульон АК1, специально подобранный для получения холерного токсина 2-го типа, продуцируемого штаммами *V. cholerae* El Tor.

Сравнительный анализ продукции ХТ у природных штаммов холерных вибрионов показал, что наибольшая продукция ХТ наблюдалась у геновариантов *V. cholerae* P18899, M1349, M1298, а также у классического штамма *V. cholerae* 569В.

ПЦР анализ показал стабильность признака токсинпродукции у всех изученных штаммов вне зависимости от условий культивирования.

В результате проведенных исследований нами были отобраны штаммы *V. cholerae* с наибольшим выходом холерного токсина.

Таким образом, применение комплекса молекулярно-генетических, микробиологических, иммунохимических методов является перспективным методическим подходом для выбора штаммов-продуцентов протективных антигенов.



## ФАГОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ОБЩИХ КОЛИФОРМНЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РЕКИ ЛИСТВЯНКА (РЯЗАНСКАЯ ОБЛАСТЬ) В ВЕСЕННЕ- ЛЕТНИЙ ПЕРИОД 2017 ГГ.

**Зацаринная Е.А.<sup>1</sup>, Гаськова А.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Рязанский государственный университет имени С.А. Есенина, Рязань,  
Россия

*microbiog@mail.ru*

В настоящее время в мире наблюдается глобальная тенденция к увеличению резистентности бактерий к антибиотикам. Известно, что коммунально-бытовые сточные воды ускоряют распространение устойчивости к АМП среди бактерий. Общеизвестной альтернативой антибиотикам являются бактериофаги, поэтому целесообразно оценить фагочувствительность изолированных колиформ по отношению к фаговым лекарственным средствам, выпускаемым в нашей стране.

Целью работы была оценка фагочувствительности среди ОКБ, выделенных из р. Листвянка.

В исследование было включено 4 промышленных бактериофага, выпускаемых в виде растворов ФГУП «НПО «Микроген» («Бактериофаг колипротейный», «Бактериофаг поливалентный очищенный», «Секстафаг®») Пиобактериофаг поливалентный и «Интести®-бактериофаг»). Результат опыта с бактериофагами учитывали по степени лизиса и оценивали по четырех-крестной системе.

В летний период 2017 г. выделено 83 изолята ОКБ из 3 створов реки Листвянка (до очистных сооружений, в пруду-отстойнике и 500 м ниже этого пруда). Действие фаговых препаратов на выделенных колиформ имело значительные отличия в зависимости от конкретного створа и самого препарата. Так, в пруду-отстойнике обнаружены 2 изолята (2,4%), которые оказались нечувствительными ко всем исследуемым фаговым препаратам. Однако только в этом створе найдены 4 культуры (4,8%), полностью лизируемые фагами. Из них 2 штамма лизировались Секстафагом, 1 штамм чувствителен к Секстафагу и Пиобактериофагу, 1 штамм к Колипротейному и Интести-бактериофагу. Частота ОКБ, обладающих средней чувствительностью к фагам, выше до очистных сооружений и после них. Встречаемость культур с низкой фагочувствительностью на трех створах практически не отличалась. 28,9% излятов были не восприимчивы к действию Колипротейного и Интести-бактериофага, 24,1% – к Пиобактериофагу и 16,9% – к Секстафагу. Низкая литическая активность отмечена для колипротейного бактериофага и Секстафага (45,6% и 34,9% соответственно). Около 50% выделенных изолятов обладало средней чувствительностью (т.е. наблюдался лизис с отдельными колониями вторичного роста) к Интести, Пиобактериофагу и Секстафагу.

Фагочувствительность отдельных изолятов колиформ весьма отличается. Как показали исследования антибиотикорезистентности ОКБ, выделенных на территории г. Рязани (Зацаринная и др., 2016; Зацаринная и др. 2017), для них характерен высокий уровень устойчивости к АМП. Поэтому для эффективного лечения заболеваний, вызванных энтеробактериями, препаратами бактериофагов необходимо проведение лабораторного анализа на фагочувствительность.



## МИКРООРГАНИЗМ SHEWANELLA КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ФИТОСТИМУЛИРУЮЩИЙ ШТАММ

**Зеленская А.А.<sup>1</sup>, Волченко Н.Н.<sup>1</sup>, Самков А.А.<sup>1</sup>, Худокормов А.А.<sup>1</sup>**  
<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

*angel.zel@mail.ru*

В современном мире остро стоит проблема очистки окружающей среды от различного рода загрязнений. С каждым годом антропогенное воздействие оказывает всё более сильное влияние на баланс экосистем. Как рентабельный, недорогой и экологичный метод в борьбе с загрязнениями зарекомендовала себя биоремедиация, в том числе с использованием микроорганизмов и растений. В связи с этим существует необходимость исследования растительно-микробных ассоциаций, механизмов их взаимодействия. Подбор наиболее выгодных партнёров позволит повысить интенсивность очистки почвы и воды, ускорит восстановление естественного функционирования экосистем.

Известно большое количество микроорганизмов, способных эффективно выступать в качестве биологических агентов в подобных процессах, однако всегда актуален подбор новых штаммов, с неисследованными ранее функциями. Цель нашей работы состояла в оценке характера взаимодействия штамма *Shewanella oneidensis* MR-1 с растениями. В литературе шеванелла не описана как типичный микроорганизм-фитостимулятор, относясь к группе исходно морских бактерий. Однако она активно применяется в технологии микробных топливных элементов, которые выступают как новые возобновляемые источники энергии. Учитывая перспективность класса растительно-микробных топливных элементов – характер влияния *Shewanella* на высшие растения требует изучения.

Рост *S. oneidensis* MR-1 на средах, основанных на корневых выделениях травосмеси «Газон универсальный» показал, что экссудаты растений способны оказывать стимулирующий эффект на микроорганизм. Использовать только одни экссудаты в качестве питательной среды оказалось недостаточным, но совместное использование корневых выделений и минимальной среды показало увеличение скорости роста в сравнении с минимальной средой. Вероятно, это обусловлено наличием в корневых метаболитах стимулирующих рост *Shewanella* органических веществ.

Микроорганизмы *S. oneidensis* MR-1, выросшие на плотной питательной среде, показали фитостимулирующую активность как при бактеризации непророщенных семян газонной травы, так и проростков на 6 день развития. В первом случае длина проростков, из семян, обработанных микроорганизмами, на 40% превышала таковую в контроле с водой. Во втором – превышение составляло до 24%. Для фитостимулирующего эффекта во втором случае была более эффективна большая на 2 порядка концентрация бактериальной культуры.

Таким образом, на основе полученных результатов можем предположить возможность применения *Shewanella oneidensis* MR-1 как биологического агента для растительно-микробных топливных элементов.



## РЕДАКТИРОВАНИЕ ГЕНОМА БАКТЕРИОФАГА T7 С ПОМОЩЬЮ CRISPR-CAS9

**Знобищева Е.А.<sup>1</sup>, Морозова Н.Е.<sup>1</sup>, Ходорковский М.А.<sup>1</sup>, Северинов К.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>АНОО ВО Сколковский институт науки и технологий, д. Сколково, Россия

*znobishcheva.elena@gmail.com*

В настоящее время число бактериальных заболеваний, проявляющих устойчивость к антибиотикам, растет. Бактериофаги, вирусы бактерий, имеют большой потенциал в борьбе с такими патогенами и в изучении различных защитных систем бактерий. Помимо этого, фаги могут стать мощными платформами для создания вакцин в генной терапии для доставки генов и белков в клетки млекопитающих. Однако, такой потенциал бактериофагов развит чрезвычайно слабо. В основном это связано со сложностью использования классических генетических стратегий для манипулирования фаговым геномом. Умение модифицировать геномы бактериофагов в конкретных местах позволит расширить спектр их применения в молекулярной биологии и медицине.

Целью данной работы являлась разработка простого и универсального метода для редактирования геномов бактериофагов. В работе использовался бактериофаг T7, заражающий *Escherichia coli*. В качестве модификации производилась вставка гена желтого флуоресцентного белка EYFP в геном фага.

В эксперименте использовался генный редактор из адаптивной иммунной системы бактерий CRISPR-Cas II типа – эффекторный белок Cas9. В комплексе с гидовой РНК он вносил двунизовой разрыв в строго определенное место на геноме бактериофага в момент инфекции. В месте разрыва происходила гомологичная рекомбинация, опосредованная системой рекомбинации  $\lambda$ -Red, вследствие чего продукт гена капсида бактериофага T7, был сшит с геном желтого флуоресцентного белка.

Таким образом, с помощью предложенного подхода удалось достаточно просто и эффективно произвести вставку гена EYFP в геном бактериофага T7 во время заражения *E.coli*. Полученный бактериофаг в дальнейшем найдет применение в исследовании защитных систем бактерий.

## ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ЭКСТРАКЛЕТОЧНЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ ШТАММА ГАЛОТОЛЕРАНТНЫХ БАКТЕРИЙ *BACILLUS SUBTILIS* EGP5QL12

**Ибрагим И.М.<sup>1</sup>, Коннова С.А.<sup>1,2</sup>, Федоненко Ю.П.<sup>1,2</sup>, Сигида Е.Н.<sup>2</sup>**

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

*ibrahim.egypt2016@yandex.ru*

В работе представлены результаты исследований продуцирующего экстраклеточные полисахариды (ЭПС) изолята EGP5QL12, выделенного из соленого озера Карун (Фаюм, Египет). Фенотипическая характеристика штамма EGP5QL12 продемонстрировала, что он представлен грамположительными формирующими споры подвижными палочковидными клетками. На плотных питательных средах бактерии формировали белые слизистые круглые колонии. Анализ последовательности нуклеотидов гена 16S рРНК штамма



EGP5QL12 позволил его идентифицировать как *Bacillus subtilis* (гомология 100%). Штамм *B. subtilis* EGP5QL12 проявлял способность к росту на минеральной среде, содержащей в качестве единственного источника углерода и энергии сырую нефть (1 % w/v) в присутствии 5% NaCl. Оптимизацию условий роста *B. subtilis* EGP5QL12 с целью увеличения продукции им ЭПС проводили с использованием питательной среды SG, внося в нее дополнительно различные источники углерода (Suc, Glc, Fru, Man, Lac). Следует отметить, что максимальный выход биомассы был отмечен через 42 ч культивирования в среде SG при pH 7 (диапазон роста pH 5–10), 5% NaCl (рост в диапазоне концентраций NaCl 0–15%), при 30°C (рост в диапазоне температур 20–45°C), а также в присутствии смеси 3% Glc/Suc. Максимальный выход ЭПС (5.7 г/л) был отмечен при несколько отличных значениях pH (8), концентрации NaCl (10%) и смеси Glc/Suc (4%). После отделения клеток центрифугированием (4000'g, 40 мин) культуральную жидкость концентрировали на вакуумном испарителе, ЭПС осаждали охлажденным 95% этанолом (v/v 1:3), очищали повторным переосаждением и диализом. Высокомолекулярные фракции ЭПС получали гель-фильтрацией на колонке с Sepharose CL-6B. Для ЭПС оценивали эмульгирующую активность (*E*) в отношении керосина и подсолнечного масла. В пробирки (диаметр 15 мм) помещали 2 мл раствора ЭПС (1% w/v) и 3 мл гидрофобной субстанции, 3 мин перемешивали на вортексе и оставляли при комнатной температуре. Через 24 и 48 ч рассчитывали отношение высоты слоя эмульсии к высоте всей смеси и выражали *E* в процентах. Значение  $E_{24}$  составило 39.47 и 48.27%, а  $E_{48}$  – 39.47 и 41.37 % в отношении керосина и подсолнечного масла, соответственно. Ионообменной хроматографией на колонке с DEAE-Toyopearl 650M ЭПС был фракционирован на «нейтральную» и «кислую» фракции. Обе фракции имели сходный моносахаридный состав с преобладанием Man (~ 50%) при различиях в соотношении отдельных компонентов. Также в составе исследуемых фракций ЭПС присутствовали Glc, GlcN, Rha, Gal.

## ИЗУЧЕНИЕ ГЕНОВ ПОЛИАМИНОКСИДАЗ У ДРОЖЖЕЙ *PICNIA PASTORIS*

Иванова А.В.<sup>1</sup>, Сидорин А.В.<sup>1</sup>, Румянцев А.М.<sup>1</sup>, Падкина М.В.<sup>1</sup>

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

*st055295@student.spbu.ru*

Для разных видов дрожжей характерно наличие небольших генных семейств, кодирующих белки с одинаковой функцией. Их подробное изучение необходимо для понимания эволюции геномов и регуляторных систем микроорганизмов.

Полиаминоксидазы широко распространены среди дрожжей и особенно хорошо изучены у модельного объекта *Saccharomyces cerevisiae*. У этих дрожжей описан ген *FMS1*, кодирующий фермент, который осуществляет окисление полиаминов, в том числе спермина. Продукты его окисления используются дрожжами для синтеза пантотеновой кислоты и участвуют в гипузинировании фактора инициации трансляции эукариот eIF5A.

Целью данной работы является изучение регуляции генов полиаминоксидаз у метилотрофных дрожжей *Pichia pastoris*.

Был проведён биоинформатический анализ протеомов и геномов дрожжей - представителей подотдела *Saccharomycotina* (отдел *Ascomycota*). Последовательность полиаминоксидазы *S. cerevisiae* была использована в качестве образца для сравнения. Одним из исследованных видов были метилотрофные дрожжи *P. pastoris*, являющиеся объектом современной биотехнологии. У них были выявлены два гена полиаминоксидаз



(*PpFMS1* и *PpFMS2*). Было обнаружено, что ген *PpFMS2* расположен рядом с геном *AOX1* и что их промоторные области могут перекрываться. Ген *AOX1 P. pastoris* кодирует алкогольоксидазу - фермент, осуществляющий первый этап пути метаболизма метанола.

Для изучения регуляции генов *PpFMS1* и *PpFMS2* были получены штаммы PFMS1-4-GS115 *PFMS1-PHO5 phox* и PFMS2-4-GS115 *PFMS2-PHO5 phox*. В геноме данных штаммов последовательность репортерного гена кислой фосфатазы (КФ) *PHO5* находится под контролем промоторов генов *PpFMS1* и *PpFMS2* соответственно. Штаммы, содержащие репортерные системы, выращивали в средах с различными источниками азота и углерода.

Показано, что регуляция генов *PpFMS1* и *PpFMS2* различается в зависимости от условий. Активность промотора гена *PpFMS2* отсутствовала в средах с глицерином и смесью глицерина с метанолом, но проявлялась в среде с метанолом в качестве источника углерода. Полученные результаты схожи с регуляцией гена *AOX1*, который репрессируется глицерином и индуцируется метанолом. В исследованных условиях активность промотора гена *PpFMS1* не наблюдалась.

Также были получены штаммы  $\Delta$ FMS1-4-GS115 и  $\Delta$ FMS2-4-GS115, в геноме которых в последовательности генов *PpFMS1* и *PpFMS2* были внесены делеции. В ходе дальнейшей работы будет проведено исследование влияния делеций в этих генах на фенотип дрожжей *P. pastoris*. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-34-00750.

## ИЗУЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧНОСТИ БАКТЕРИОФАГОВ *BACILLUS CEREUS*

**Калдыркаева З.С.<sup>1</sup>, Калдыркаев А.И.<sup>1</sup>, Феоктистова Н.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия имени П.А. Столыпина, Ульяновск, Россия

*usxa@yandex.ru*

В данной статье будут представлены исследования по типовым фагам *B.cereus*, лизирующие различные варианты внутри данного вида.

Целью наших исследований, являлась проверка специфичности фагов *B.cereus*.

В качестве индикаторной культур использовались 46 штаммов *B.cereus* (4 референс-штамма №96, №8035, №2527, №IP5832, 42 штамма *B.cereus* полевых культур).

Выделение бактериофагов *B. cereus* проводили из объектов внешней среды (из почвы). В ходе опытов нами было выделено и изучено 7 штаммов бактериофагов: FBc – 1; FBc – 2; FBc – 3; FBc – 4; FBc – 5; FBc – 6; FBc – 7.

При изучении биологических свойств выделенных фагов отмечались различия по морфологии образовавшихся негативных колоний, литической активности, спектру литического действия.

По морфологии негативных колонии фаги разделились на 4 типа:

Первый тип - колонии круглые, прозрачные, с неровным краем 2,5-4мм, с отсутствием зоны неполного лизиса.

Второй тип - колонии круглые, прозрачные, край ровный 1-2мм, с отсутствием зоны неполного лизиса.

Третий тип - круглые прозрачные, до 1мм, без зоны неполного лизиса. Объединяясь, имеют вид испещрений.

Четвертый тип - круглые прозрачные, до 1мм, край ровный, имеется зона неполного лизиса до 4мм.





Литическая активность составляла от  $3 \times 10^7$  до  $1,5 \times 10^9$ , фаговых частиц в 1мл. Для определения литической активности использовали 46 штаммов *B.cereus*.

Особенностью выделенных бактериофагов был узкий спектр лизиса среди имеющихся штаммов *B.cereus* по 3-13 штаммов из 46 тестируемых штамма *B.cereus*. Благодаря такой особенности фаги были условно разделены на группы (фаговары).

Бактериофаг FВс – 1 имел 2 тип негативных колоний, лизировал 10 штаммов из 46; FВс – 2 имел 3 тип негативных колоний, лизировал 3 штамма из 46; FВс – 3 имел 2 тип негативных колоний, лизировал 8 штаммов из 46; FВс – 4 имел 2 тип негативных колоний, лизировал 12 штаммов из 46; FВс – 5 имел 4 тип негативных колоний, лизировал 7 штаммов из 46; FВс – 6 имел 1 тип негативных колоний, лизировал 3 штамма из 46; FВс – 7 имел 2 тип негативных колоний, лизировал 13 штаммов из 46.

Важной особенностью фагов было то, что культуры *B.cereus* лизируемые одним фагом, были нечувствительны к остальным бактериофагам. Такую особенность имеют только высоко специфичные (типовые) фаги, способные лизировать только определенные типы (фаготипы) бактерий внутри вида. Благодаря типовым бактериофагам можно изучить мониторинг распространения бактерий, возможность установить источник и путь передачи.

## ИССЛЕДОВАНИЯ САДОВОЙ ЗЕМЛЯНИКИ НА ПОРАЖЕНИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫМИ БОЛЕЗНЯМИ

**Картабаева Б.Б.<sup>1</sup>, Политыко В.А.<sup>1</sup>, Айсувакова Т.П.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский НИИ фитопатологии, п. Большие Вяземы, Московская область, Россия

*kartabaeva040893@mail.ru*

Земляника садовая (*Fragaria ananassa Duch.*) – широко распространенная ягодная культура, отличающаяся способностью к быстрому вегетативному размножению, скороплодностью, урожайностью, высокой пластичностью является одной из основных ягодных культур в мире и в России, занимая достаточно большие площади в промышленном ягодоводстве.

Земляника, как и другие ягодные культуры, поражается вирусами, микозами и бактериями. Эти заболевания при благоприятных для них условиях снижают урожай ягод на 10-70%, но и приводят к резкому ослаблению или полной и нередко скоротечной гибели посаженных земляничных плантаций.

На базе ФГБНУ ВНИИФ в отделе резистентологии провели лабораторную диагностику в 2018 году привезенных образцов садовой земляники на сортах («Московский деликатес», «Елизавета II», «Полька») которая заключалась в выделении возбудителя, его идентификации и определении его родовой и видовой принадлежности общепринятыми методами. И перед тем как, заложить образцы на анализ провели визуальный осмотр растения, где отобрали части растений с пограничным переходом от здоровой части к больной.

Фитобактериологический анализ образцов проводили с помощью высева растительного материала на различные селективные и полуселективные питательные среды. Идентификация бактерий проводится с помощью классических физиологических, биохимических методов. При первичном отборе бактерий в качестве критериев были выбраны следующие: характеристика колоний; окраска по Граму; тип дыхания; постановка реакции свертываемости.



В результате проведенного микробиологического исследования растений садовой земляники (*Fragaria ananassa Duch.*) на сортах «Московский деликатес», «Елизавета II», «Полька» удалось выделить фитопатогенные бактерии рода (*Pseudomonas*) и условно - патогенные (*Pantonea agglomeras*) полученные путём посева из растёртого материала. Все изоляты бактерий, показавшие положительный тест на патогенность отобраны для дальнейшего изучения видовой и внутривидовой специализации.

## КЛАССИФИКАЦИЯ ГЕНОМОВ БАКТЕРИОВИРУСОВ ПОДСЕМЕЙСТВА TEVENVIRINAE С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ 10-МЕРОВ

**Киселев С.С.<sup>1</sup>, Зимин А.А.<sup>2</sup>, Панюков В.В.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ РАН, Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ РАН, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.

Скрябина РАН, Пушкино, Россия; <sup>3</sup>ФГУ ФИЦ ИПМ им. М.В. Келдыша РАН, Институт математических проблем биологии РАН, Пушкино, Россия

*anthyllium@gmail.com*

Большая часть методов, применяемых для построения филогенетических деревьев (присоединение ближайших соседей, максимальная парсимония, определение наибольшего правдоподобия и др.), напрямую или косвенно основана на множественном выравнивании последовательностей. Например, для бактерий в качестве стандартного маркера используются последовательности генов 16S рРНК. Однако довольно часто результаты такой классификации не соответствуют данным, полученным с использованием альтернативных наборов генов (мультилокусного анализа). Низкое сходство нуклеотидных последовательностей, перестройки и инверсии являются основными проблемами, сильно влияющими на качество результирующего выравнивания. Множественное выравнивание полных геномов является вычислительно сложной задачей, корректно реализуемой только для относительно близкородственных организмов, но практически недостижимой для геномов, значительно отличающихся друг от друга по длине, числу генов, набору общих генов для всей группы.

Для построения геномных филогенетических деревьев крупных бактериофагов Т4-типа мы выбрали известную простую схему, в которой для набора изучаемых геномов вычисляется матрица попарных расстояний (с помощью разработанной нами программы GnmDistUsKm) и затем эта матрица подаётся на вход широко используемого в филогенетическом анализе метода кластеризации UPGMA. Наш подход заключается в выборе метрики расстояний, основанной на k-мерах (коротких олигонуклеотидах длиной k оснований). При этом прямая и комплементарная последовательности считаются идентичными.

Было проанализировано 126 геномов вирусов, относящихся к подсемейству Tevenvirinae. Все они представляют собой линейные двухцепочечные ДНК. Минимальный размер генома составил 158099 н.п., максимальный — 252401 н.п., GC-состав варьировал в пределах 31,1–54,1 %. Оптимальная для исследования длина k была равна 10.

На построенном филогенетическом дереве идентифицируются основные клады, которые коррелируют с таксономическим положением бактерий-хозяев бактериофагов. Данное дерево максимально сходно с деревом, полученным при филогенетическом анализе, в котором в качестве стандартного маркера использовался ген мажорного белка капсида (gp23) этих фагов. Проведено также сопоставление предложенного метода с результатами подхода, реализованного в программе JSpecies, где метрикой является средняя нуклеотидная идентичность (ANI).



Работа была частично поддержана и выполнена в рамках проекта РФФИ № 18-07-00899.

## АНАЛИЗ МИКРОБНЫХ СИМБИОНТОВ ГУБОК *HALISARCA DUJARDINII* БЕЛОГО МОРЯ

**Козлова С.Ю.<sup>1</sup>, Гавирова Л.А.<sup>1</sup>, Лавров А.И.<sup>2,3,4</sup>, Шестаков А.И.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра микробиологии, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, Беломорская биологическая станция им. Н.А. Перцова, Приморский, республика Карелия, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, биологический факультет, кафедра эмбриологии, Санкт-Петербург, Россия; <sup>4</sup>ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

*sveta.cozlowa2010@yandex.ru*

Несмотря на то, что основной пищей губок (филум Porifera) служат микроорганизмы, в межклеточном веществе губок (мезохиле) постоянно обитает большое количество микробных популяций. Изучение ассоциаций губок с микроорганизмами в настоящее время представляет собой большой интерес, как фундаментальный, так и биотехнологический. В работе исследовали беломорских губок *Halisarca dujardinii* Johnston, 1842 (Demospongiae, Halisarcida), обитающих на мелководье, преимущественно на макрофитах *Fucus vesiculosus*. Губок собирали во время отлива и экспонировали в стеклянных емкостях со стерильной морской водой в течение 5 суток со сменой воды каждые 12 часов, а также в мембранных модулях в проточном морском аквариуме в течение 5 суток. После культивирования препарировали губок, часть материала фиксировали в жидком азоте для дальнейшего метагеномного анализа, а часть использовали для выделения культивируемых форм микроорганизмов, ассоциированных с губками. Дополнительно производили посеvy и фиксацию образцов морской воды (в точках отбора губок), а также образцов воды из емкостей культивирования для сравнения видового разнообразия микроорганизмов в воде и губках. Для выделения микроорганизмов использовали 5 различных питательных сред. В результате было выделено 93 чистые культуры микроорганизмов, из них 9 – из образцов воды. С помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии достоверно до вида было определено 14 культур, которые относятся к *Rhodococcus erythropolis*, *Rhodococcus fascians*, *Rhodococcus globerulus*, *Kytococcus sedentarius*, *Arthrobacter flavus* и *Bacillus pumilus*. Среди данных культур две повторялись у разных губок: *Rhodococcus erythropolis* и *Rhodococcus fascians*. Дальнейшее определение видовой принадлежности выделенных культур с помощью секвенирования генов 16S рРНК и проведение метагеномного анализа всех образцов позволит провести анализ микробиома беломорских губок *H. dujardinii*, сравнить его с микробным составом морской воды и с микробиомом других представителей филума Porifera.



## КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ УЧЁТ МИКРООРГАНИЗМОВ – НЕФТЕДЕСТРУКТОРОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ РЕКИ ЛИСТВЯНКА РЯЗАНСКОЙ ОБЛАСТИ

Колупаева Н.В.<sup>1</sup>, Зацаринная Е.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Рязанский государственный университет имени С.А. Есенина, Рязань,  
Россия

*microbiog@mail.ru*

Интенсивный рост промышленных потенциалов нефтедобывающей и нефтехимической отраслей приводит к изменению естественно сложившихся сообществ экосистемы, которые подвергаются антропогенному влиянию и претерпевают значительные изменения. Образующиеся в процессе переработки нефти сточные воды содержат значительное количество нефтепродуктов и их производных и, поступая в поверхностные водные объекты, вызывают увеличение антропогенной нагрузки на экологическую систему.

Среди всех существующих методов ликвидации нефтяных загрязнений широко распространён биологический метод, основанный на использовании деятельности углеводородокисляющих микроорганизмов, которые широко распространены в природных экосистемах. Данный метод позволяет уменьшить антропогенную нагрузку на природные водоёмы.

Цель данного исследования: изучение количества жизнеспособных микроорганизмов в донных иловых отложениях реки Листвянка (Рязанская область), способных к деструкции нефти и её производных. Из исследуемого поверхностного слоя донных отложений природного водного объекта были выделены смешанные культуры бактерий – нефтедеструкторов, окисляющие различные углеводороды. Получение накопительных культур осуществлялось на среде Ворошиловой – Диановой. В качестве единственного источника углеводорода для культивирования использовали сырую нефть, вазелиновое масло, бензин и дизельное топливо.

Во всех отобранных пробах донных отложений реки Листвянка была выявлена относительно высокая численность бактерий этой группы. Через 96 часов после инкубации было зафиксировано образование бляшек на углеводородных плёнках, что свидетельствовало о начале процесса размножения нефтедеструкторов и разрушении углеводородов. На 9 день культивирования накопительные культуры представляли собой тонкую пленку на поверхности питательной среды. Наиболее оптимальным для процесса окисления являлось использование дизельного топлива в качестве источника углеводорода, так как в пробах с данным нефтепродуктом наблюдалась самая высокая численность микроорганизмов ( $1,601 \times 10^{11} \pm 1,77 \times 10^{11}$  КОЕ/г иловых отложений). Среднее количество колоний бактерий, использующих бензин в качестве источника углеводорода, составило  $1,221 \times 10^{11} \pm 4,20 \times 10^{10}$  КОЕ/г иловых отложений. Трудноразлагаемыми веществами с медленными процессами окисления микроорганизмами оказались нефть и вазелиновое масло. В исследуемых пробах установлено наименьшее число колониеобразующих единиц нефтеокисляющих организмов ( $3,59 \times 10^{10} \pm 3,34 \times 10^{10}$  и  $4,55 \times 10^{10} \pm 1,26 \times 10^{11}$  КОЕ/г иловых отложений соответственно).



## УСТОЙЧИВОСТЬ К В-ЛАКТАМНЫМ АНТИБИОТИКАМ КОЛИФОРМНЫХ БАКТЕРИЙ ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РЯДА ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ СЕВЕРО-ЗАПАДА МУРМАНСКОЙ ОБЛАСТИ В ВЕСЕННЕ-ЛЕТНИЙ ПЕРИОД 2018 ГОДА

**Колупаева Л.В.<sup>1</sup>, Зацаринная Е.А.<sup>1</sup>, Гаськова А.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Рязанский государственный университет имени С.А. Есенина, Рязань, Россия

*microbiog@mail.ru*

Широкое использование  $\beta$ -лактамных антибиотиков в жизни человека, приводит к быстрому распространению устойчивости к этим антибактериальным препаратам и создаёт высокие риски для здоровья человека (Ben et al., 2019). Возникновение резистентных микроорганизмов приводит к тому, что ежегодно миллионы людей сталкиваются с заболеваниями, вызванными антибиотикоустойчивыми бактериями.

В связи с тем, что энтеробактерии способны не только длительное время находится во внешней среде (в данном случае в воде), но и могут накапливаться в ней, за счёт попадания в водоём со стоками жилищно-коммунальных хозяйств и промышленных сбросов, необходим мониторинг антибиотикорезистентности микроорганизмов.

Цель данного исследования оценить устойчивость к  $\beta$ -лактамным антибиотикам общих колиформных бактерий выделенных из водоёмов северо-запада Мурманской области. Образцы воды были отобраны из 3 поверхностных водных объектов: рек Лауккуйоки, Паз и озера Куэтсъярви. Из них было выделено 99 изолятов семейства *Enterobacteriaceae*. В процессе исследования были использованы 8  $\beta$ -лактамных антимикробных препаратов, представленные следующими классами: пеницилины, цефалоспорины (I-IV поколения) и карбопенемы.

Большинство выделенных изолятов обладало устойчивостью к цефазолину (I поколение) (83,8%), резистентность к остальным представителям этого класса антибактериальных препаратов уменьшалась от II поколения (цефуроксим) к IV (цефепим). Наиболее эффективным антибиотиком оказался тикарциллин/клавуланат относящийся к пенициллиновому ряду, устойчивыми к этому препарату оказались лишь 23,4% колиформных бактерий, тогда как 82,8% выделенных изолятов были невосприимчивы к ампициллину.

## КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА МРНК ЦИТОКИНОВ СВИНЕЙ ПРИ АЧС

**Кольцов А.Ю.<sup>1</sup>, Кольцова Г.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии, Покров, Россия

*lila5757@yandex.ru*

Африканская чума свиней (АЧС) – вирусная остро-протекающая геморрагическая лихорадка домашних и диких свиней с летальностью достигающей 100%. Ежегодные вспышки АЧС среди домашних свиней и кабанов в России с 2007 г. обуславливают необходимость исследований возбудителя болезни. Вирус АЧС является сложноорганизованным ДНК-содержащим вирусом, представителем семейства Asfarviridae.



Штаммы вируса АЧС могут обладать разной степенью вирулентности. Иммунный ответ организма при заражении аттенуированными и вирулентными штаммами существенно отличается. Для более детального понимания механизмов развития патологических изменений при АЧС и формирования протективного иммунного ответа необходимо изучение цитокинового профиля животных, инфицированных различными штаммами вируса.

Целью данной работы являлась разработка систем количественной оценки мРНК цитокинов свиней (IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ ) методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени.

В работе были использованы первичная культура макрофагов свиней и мононуклеарные клетки, выделенные из периферической крови (PBMC) неинфицированных подсвинков. Выделение РНК проводили с использованием QIAzol Lysis Reagent.

Оригинальные последовательности праймеров и TaqMan зондов подбирали к белок-кодирующим областям генов цитокинов (IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ ). В качестве референтных генов для нормализации количества мРНК были выбраны гены  $\beta$ -Actin и GAPDH. Синтетическая конструкция, включающая последовательности генов 6 цитокинов и эталонных генов, а также T7 промотер была сконструирована для получения РНК-стандартов.

Для валидации разработанных систем в качестве положительного контроля использовали клетки, стимулированные Конканавалином А. В результате исследований образцов мононуклеарных клеток увеличение уровня мРНК отмечали начиная с 4 ч после добавления Конканавалина А.

В результате проведенных исследований были подобраны условия для изучения уровней экспрессии генов 6 цитокинов свиней (IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ ) в культурах клеток после заражения вирусом АЧС. Для предварительных экспериментов были использованы 5 штаммов АЧС, отличающиеся по биологическим свойствам. Среди используемых штаммов вируса АЧС были штаммы с делециями иммуномодуляторных генов.

Таким образом, в результате исследований были разработаны 6 тест-систем для определения уровня мРНК цитокинов свиней и продемонстрирована возможность их использования для определения цитокинового профиля клеток, инфицированных вирусом АЧС.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-316-00100.

## КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ БАКТЕРИЙ НЕКОТОРЫХ ЭКОЛОГО-ТРОФИЧЕСКИХ ГРУПП В ВЕРМИКОПОСТАХ ИЗ ЛИСТОВОГО ОПАДА ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ ЮГА ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

**Корниевская Е.В.<sup>1</sup>, Минаева О.М.<sup>1</sup>, Куровский А.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия

*e\_biotech@mail.tsu.ru*

С использованием культуры *Eisenia fetida* Savigny были получены вермикомпосты из смесей верхового торфа и листового опада тополя черного, ивы ломкой и березы повислой. Данные виды растений характерны для дендрофлоры юга Западной Сибири и вносят основной вклад в формирование листового опада в естественных и



урбозкосистемах. В вермикомпостах определен количественный состав микроорганизмов следующих эколого-трофических групп: аммонификаторы, утилизаторы неорганического азота, олиготрофы и азотфиксаторы. Количество микроорганизмов первых трех групп подсчитывали, соответственно, на мясо-пептонном, крахмало-аммиачном и голодном агаре; окончательный результат выражали как количество колониеобразующих единиц на 1 г абсолютно сухого вещества (КОЕ/1 г а.с.в.). Количество азотфиксаторов оценивали на среде Эшби методом Виноградского как актуальную активность азотобактера, выраженную в процентах. Были получены следующие результаты. Максимальное количество аммонификаторов было в вермикомпостах из опада ивы и опада березы ( $8,2$  и  $8,1 \times 10^9$  КОЕ/1 г а.с.в.), в вермикомпосте из опада тополя аммонификаторов было почти в 2 раза меньше ( $4,7 \times 10^9$  КОЕ/1 г а.с.в.). Максимальное количество утилизаторов неорганического азота было в вермикомпосте из опада березы ( $9,9 \times 10^9$  КОЕ/1 г а.с.в.), существенно меньшее – в вермикомпостах из опада тополя ( $5,9 \times 10^9$  КОЕ/1 г а.с.в.) и опада ивы ( $4,9 \times 10^9$  КОЕ/1 г а.с.в.). Больше всего олиготрофов было в вермикомпосте из опада березы ( $7,9 \times 10^9$  КОЕ/1 г а.с.в.), несколько меньше – в вермикомпосте из опада ивы ( $6,0 \times 10^9$  КОЕ/1 г а.с.в.), и минимальное количество олиготрофов было в вермикомпосте из опада тополя ( $2,0 \times 10^9$  КОЕ/1 г а.с.в.). В целом, вермикомпост из опада березы по суммарному количеству КОЕ на 1 г а.с.в. опережал остальные вермикомпосты, что, очевидно, является показателем более высокой скорости созревания данного вермикомпоста. На втором месте по данным показателям был вермикомпост из опада ивы, на третьем – тополя. В отношении азотфиксаторов ситуация была обратной – максимальная актуальная активность 88,0 % наблюдалось в вермикомпосте из опада тополя, немного ниже был этот показатель в вермикомпосте из опада ивы – 82,7 % и наименьшая актуальная активность азотобактера была в вермикомпосте из опада березы – 67,7 %. Различия в концентрации микроорганизмов разных эколого-трофических групп, вероятнее всего, связаны с различным химическим составом исходного листового опада.

#### КОНСТРУИРОВАНИЕ ПЛАЗМИД, СОДЕРЖАЩИХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ГЕНОВ АЛКАНГИДРОКСИЛАЗ, КАК ЭТАП В ПОЛУЧЕНИИ МУТАНТНЫХ ШТАММОВ *GORDONIA SP. 1D*, ДЕФЕКТНЫХ ПО ГЕНАМ *ALKV* И *CYP153*

**Кочаровская Ю.Н.<sup>1</sup>, Сафронова М.Ю.<sup>1,2</sup>, Делеган Я.А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Тульский государственный университет, Тула Россия; <sup>2</sup>ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ РАН, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пущино, Россия

*kocharovskayaj@mail.ru*

Биоремедиация является одним из наиболее перспективных методов очистки грунтовых и водных экосистем от нефтяных загрязнений. В качестве объекта исследования в данной работе был выбран термотолерантный штамм *Gordonia sp. 1D*, в качестве основного деструктора алканов включенный в биопрепарат для очистки нефтезагрязненных грунтов в жарком аридном климате.

Штамм *Gordonia sp. 1D* содержит гены, кодирующие две различных алкангидроксилазы (Delegan et al., 2018). Ранее (Shen et al., 2010) было показано, что алкангидроксилазы гордоний отличаются спектрами окисляемых субстратов. Так, субстратами гидроксилазы *alkV* в основном являются линейные алканы длиной  $C_{10}$ - $C_{16}$  (Nie et al., 2014), а субстратами гидроксилазы *CYP* – короткие алканы длиной от  $C_6$ .

На основе вектора pEX18Tc были получены плазмиды, содержащие полные последовательности генов *alkV* и *CYP153*. В качестве селективных маркеров для



последующего отбора рекомбинантов во вставки были встроены кассеты, содержащие гены резистентности к хлорамфениколу: в последовательность гена *alkB* – по сайту *XhoI*, в последовательность гена *CYP153* – по сайту *AatII*.

Плазмиды будут введены в родительский штамм *Gordonia* sp. 1D путём электропорации. Рекомбинация последовательностей генов алкангидроксилаз штамма 1D со вставками плазмид позволит получить мутантные штаммы *Gordonia* sp. 1D *alkB*- и *CYP153*-, дефектные по соответствующим генам алкан гидроксилаз. Это позволит оставить работающей только одну алкан гидроксилазную систему и изучить их по отдельности.

#### Список литературы

Delegan Y.A., Valentovich L.N., Shafieva S.M., Ganbarov K.G., Filonov A.E., Vainstein M.B.. Characterization and genomic analysis of highly efficient thermotolerant oil-degrading bacterium *Gordonia* sp. 1D // *Folia Microbiol (Praha)*. 2019. Vol. 64, Pp. 41-48.

Nie Y., Liang J.L., Fang H., Tang Y.Q., Wu X.L. Characterization of a *CYP153* alkane hydroxylase gene in a Gram-positive *Dietzia* sp. DQ12-45-1b and its “team role” with *alkW1* in alkane degradation // *Appl Microbiol Biotechnol.* – 2014. – Vol.98. – No.1. – P.163-173.

Shen F.T., Young L.S., Hsieh M.F., Lin S.Y., Young C.C. Molecular detection and phylogenetic analysis of the alkane 1-monoxygenase gene from *Gordonia* spp. // *Systematic and Applied Microbiology.* – 2010. – Vol. 33. – P. 53–55.

Делеган Я.А. Термотолерантные бактерии-деструкторы углеводородов нефти // Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук, Пущино, 2016.

## ВЛИЯНИЕ КИСЛОРОДА НА СИНТЕЗ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ АКТИНОБАКТЕРИЙ ОЗЕРА БАЙКАЛ

**Краснова М.Е.<sup>1</sup>, Переляева Е.В.<sup>1</sup>, Дмитриев И.А.<sup>1</sup>, Васильева У.А.<sup>1</sup>, Протасов  
Е.С.<sup>1</sup>, Аксёнов-Грибанов Д.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт биологии Иркутского государственного университета, Иркутск, Россия

*marriekrasnova@gmail.com*

В связи с увеличением роста числа таких заболеваний, как ревматоидный артрит, болезнь Паркинсона, Альцгеймера и других, в развитии которых большую роль играет окислительный стресс, представляется актуальным поиск новых антиоксидантов и их продуцентов, а также оценка потенциала их применения в биофармацевтике (Mohammadipirani, 2018). Природные соединения, обладающие антиоксидантной активностью, способны вступать во взаимодействие со свободными радикалами и ингибировать развивающееся окисление, наблюдаемое, зачастую при стрессовых и патологических состояниях, и тем самым участвовать в профилактике и лечении заболеваний (Niki, 2010).

Особый интерес для поисковых исследований представляют микроорганизмы древних экосистем и озера Байкал. Экосистема озера Байкал характеризуется высоким процентом эндемичных организмов и специфичными условиями среды, например, низкой концентрацией минеральных солей, низкой температурой воды, которая, в свою очередь, влияет на высокую насыщенность кислородом. Предполагается, что такие условия среды обитания позволили микроорганизмам сформировать защитные механизмы к повышенному содержанию кислорода в среде обитания.





Целью данного исследования является оценка биотехнологической и антиоксидантной активности актинобактерий, выделенных из байкальских эндемичных амфипод.

В ходе исследования был проведен пробоотбор байкальских эндемичных амфипод, проведена фиксация недифференцированных тканей в растворах криопротекторов для последующего выделения и культивирования штаммов актинобактерий. Для оценки состава бактериального метабенома отобраны образцы гемолимфы. Вместе с тем, выделенные штаммы актинобактерий культивировали при стандартных условиях и в атмосфере повышенного содержания кислорода для оценки состава природных соединений, синтезируемых штаммами при помощи подходов высокоэффективной жидкостной хроматографии, сопряженной с масс-спектрометрией высокого разрешения и использованием базы данных Dictionary of Natural products. Установлено, что в условиях насыщенной кислородом атмосферы наблюдается интенсификация роста актинобактерий, в сравнении с обычными условиями, а в культуральной жидкости штаммов обнаружены природные соединения, синтезируемые микроорганизмами только в условиях культивирования при повышенном содержании кислорода.

Настоящее исследование проведено при частичной финансовой поддержке проектов РФФИ (18-74-00018), РФФИ (18-34-00294, 18-29-05051), проектов Минобрнауки РФ 6.9654.2017/8.9, а также Фонда поддержки прикладных экологических разработок и исследований «Озеро Байкал»

## ФЕНОТИПИЧЕСКОЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ВЫЯВЛЕНИЕ КАТАБОЛИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА РОДОКОККОВ В ОТНОШЕНИИ ИМИДАЗОЛИНОВ

**Круглова М.Н.<sup>1</sup>, Самков А.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

*mariya.kruglova.98@gmail.com*

Интенсификация сельского хозяйства часто связана с использованием генетически модифицированных культур, устойчивых к определенным пестицидам, длительно сохраняющимся в почве и исключающим отказ от импортного семенного материала за счет негативного воздействия на иные культуры. Поскольку применение пестицидов исключить нельзя, большую важность имеют способы нейтрализации их отрицательного влияния на растения.

Целью исследования являлось изучение чувствительности бактерий рода *Rhodococcus* к имазамоксу и имазапиру – гербицидам класса имидазолинов, а также определение наличия у родококков генов, потенциально связанных с деградацией данных пестицидов.

Определение влияния имидазолинов на рост родококков осуществлялось методом лунок. Обнаружены значительные различия в чувствительности родококков к разным имидазолиномам: имазамокс не оказывал токсического воздействия, а имазапир выявил штаммоспецифичное подавление роста. Наиболее устойчивыми к воздействию имазапира оказались штаммы *Rhodococcus sp.* B4, *Rhodococcus sp.* B8 и *Rhodococcus sp.* J2, радиус зоны задержки роста составлял от 4,5 мм, до 7,8 мм. Наиболее чувствительны к воздействию имазапира были штаммы *Rhodococcus spp.* K10, B2 и F5, показавшие зоны задержки роста от 15,2 до 16 мм. У штамма *Rhodococcus sp.* F2 радиус зоны задержки роста составлял 9,8 мм.



Для выявления наиболее распространенных генов, связанных с деградацией ксенобиотиков, у 11 культур родококков была проведена ПЦР с 7 различными парами праймеров. Наиболее широкий спектр катаболических генов выявлен у штамма *Rhodococcus sp.* F2: обнаружены три гена из семи исследованных – AtzB, AtzC, прсB, а также, предположительно, ген, кодирующий фермент первой степени деградации атразина. Для штаммов *Rhodococcus spp.* B3, B4 и 2A выявлено по одному гену из исследованных, в то время как штаммы *Rhodococcus spp.* Z5, B8, J2, J8 не несли в своем геноме ни одного из них.

Лабораторное моделирование биodeградации пестицидов на жидкой минеральной среде показало наличие у *Rhodococcus sp.* F2 способности к утилизации широкого спектра пестицидов: метрибузина, имидаклоприда, диазинона, амидосульфурона, йодосульфурон-метил-натрия и мефенпирдиэтила.

Внесение родококка в искусственно загрязненные разными пестицидами почвы показало значительно большее снижение их фитотоксичности в случае имазамокса, по сравнению с имазапиром, что полностью согласуется с выявленными различиями устойчивости родококков к двум исследованным имидазолинонам.

## ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ АЭРОБНЫХ ЭНДОСПОРОБРАЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ ПОЧВЫ ЗАПОВЕДНИКА «НЕНЕЦКИЙ»

**Кручинина А.Н.<sup>1</sup>, Кудряшова Е.Б.<sup>2</sup>, Арискина Е.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ РАН, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, Пущино, Россия

*kruchinina.al.kubsu@mail.ru*

Аэробные эндоспорообразующие бактерии играют существенную роль в природных процессах. Интерес к выделению и изучению данной группы микроорганизмов возрастает и имеет большое значение при проведении экологических исследований, а также в связи с широким использованием их в различных биотехнологических процессах. Особое значение представляют изоляты из заповедных территорий, не подверженных антропогенному воздействию, и экстремальных условий обитания, ферментные системы которых обладают более широким температурным диапазоном

Целью работы являлось изучение таксономической принадлежности изолятов аэробных эндоспорообразующих бактерий созданной ранее рабочей коллекции. Объектами исследования были штаммы, выделенные из образцов почвы Государственного природного заповедника «Ненецкий».

В процессе работы были использованы как классические, так и современные методы идентификации. На начальных этапах были изучены культурально-морфологические и физиолого-биохимические свойства. Дальнейшая идентификация была основана на изучении белкового профиля методом матрично-активированной лазерной десорбционно-ионизационной время-пролетной масс-спектрометрии (МАЛДИ-ВП МС) и анализа функциональных генов 16S рРНК и *gyrB*. ДНК была выделена методом Ausubel. ПЦР продукт получен на приборе GeneAmp PCR System 2700 (“Applied Biosystems”, США), с использованием универсальных праймеров 27f и 1525r, UP1 и UP2. Определение нуклеотидных последовательностей проводили с помощью набора реактивов ABI PRISM® BigDye™ Terminator v. 3.1 с праймерами 342r, 907r, 27f и 785f для гена 16S rRNA и праймером UP1S для гена *gyrB*, с последующим анализом продуктов реакции на автоматическом секвенаторе Applied Biosystems 3730 DNA Analyzer.



Обработку последовательностей проводили с использованием программ Chromas и MEGA7, определение процента сходства проводили с использованием инструментов сайта EZBioCloud. Филогенетический анализ полученных нуклеотидных последовательностей фрагмента гена 16S rRNA выполняли в программе BLAST NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) и EZBioCloud.

Комплекс проведенных исследований показал принадлежность исследуемых культур к классу *Bacilli* в соответствии с современной филогенетической систематикой. Методами МАЛДИ-ВП МС и филогенетического анализа гена 16S рРНК установлено, что исследуемые культуры относятся к родам *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Viridibacillus*, *Lysinibacillus*, *Psychrobacillus*, *Lactobacillus*, *Aneurinibacillus*.

## ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ВИРУЛЕНТНЫХ БАКТЕРИОФАГОВ СТАФИЛОКОККОВ С ИХ ХОЗЯЕВАМИ

**Купцов Н.С.<sup>1</sup>, Корниенко М.А.<sup>1</sup>, Гуляев А.С.<sup>1</sup>, Летарова М.А.<sup>2</sup>, Летаров А.В.<sup>2</sup>,  
Шитиков Е.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУ ФНКЦ Физико-Химической Медицины ФМБА, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФИЦ Биотехнологии РАН, Институт микробиологии им. Виноградского, Москва, Россия

*kuptsovns@gmail.com*

Одной из проблем мировой системы здравоохранения является рост числа возбудителей, проявляющих устойчивость к большинству современных антибиотиков. В связи с этим актуальной задачей является разработка альтернативных методов лечения, в том числе терапия вирулентными бактериофагами. Целью данной работы являлось изучение взаимодействия вирулентных бактериофагов с различными штаммами стафилококков.

В ходе исследования была проведена оценка спектра эффективности препарата “Бактериофаг стафилококковый” фирмы “Микроген” на коллекции из 112 *Staphylococcus aureus* (SA), 13 *Staphylococcus epidermidis* (SE) и 12 *Staphylococcus haemolyticus* (SH). Определение МЛСТ типа проводили согласно базе данных <https://pubmlst.org/>. Полногеномное секвенирование отдельного фага и штаммов стафилококка проводили на платформе Illumina (Illumina, Inc.).

Среди тестируемых штаммов были выявлены случаи устойчивости к исследуемому препарату: 10 (9%), 9 (69%) и 9 (75%) для SA, SE и SH, соответственно. Устойчивые штаммы SA относились к МЛСТ типам 1, 121 и 398; штаммы SE к типам 2, 6, 19, 81, 86, 173, 189, 198; штаммы SH к типам 1, 2, 5, 14, 17, 21. Основными рецепторами стафилококков к бактериофагам являются тейхоевые кислоты, в связи с этим проведен анализ генов тейхоевых кислот у исследуемых штаммов. Была выявлена высокую вариабельность генов среди коагулазо-отрицательных стафилококков по сравнению с SA, что, скорее всего, определяет разницу во взаимодействии с бактериофагами. При этом некоторые устойчивые штаммы SA несли наборы генов тейхоевых кислот, аналогичные чувствительным штаммам. Анализ кривых адсорбции устойчивых штаммов SA показал, что бактериофаг абсорбируется к данным штаммам. Последнее свидетельствует об устойчивости бактерий на пост-адсорбционных стадиях развития фага. Для дальнейшего исследования взаимодействия бактериофаг-SA была выбрана пара штаммов (устойчивый и чувствительный) одного МЛСТ типа и проведено их полногеномное секвенирование. На основании полученных данных проведен анализ систем рестрикции-модификации и токсин-антитоксин, а также локусов CRISPR-Cas. Различий, которые могли бы объяснить устойчивость бактерий к бактериофагу, выявлено не было. Кроме того, был проведен



анализ профагов в составе исследуемых бактериальных геномов и было установлено значительное отличие по данному признаку. Это в свою очередь требует дальнейших исследований по влиянию профагов на взаимодействие стафилококков с вирулентными фагами.

## У МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЕЗА СУЩЕСТВУЮТ МЕЛКИЕ ТЕРМОСТАБИЛЬНЫЕ ФОРМЫ, ВОССТАНАВЛИВАЮЩИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ В ВИДЕ КЛЕТОК С ДЕФЕКТНОЙ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКОЙ

**Кучвальский М.В.<sup>1</sup>, Красникова Е.Л.<sup>1</sup>, Лысенко А.П.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>РУП Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского, Минск, Республика Беларусь

*kuchvalskimv@gmail.com*

Туберкулез является одной из 10 ведущих причин смерти в мире. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения на 2018 год, четверть населения Земли имеют латентный туберкулез. Это обусловлено способностью микобактерий персистировать внутри организма из-за их свойства трансформироваться в защитные формы с дефектной клеточной стенкой (CWD-формы). Более того, в ряде исследований была доказана способность CWD-форм выдерживать автоклавирование при 121 °С.

Цель работы заключалась в выявлении способности автоклавированных культур микобактерий проходить через нанометровые фильтры и прорасти на поверхности питательной среды.

В работе была использована культуральная жидкость, полученная при выращивании штамма *Mycobacterium bovis* 8 на среде Сотона в течение 8 недель. На подготовительном этапе жидкость была проавтоклавирована 30 мин при 121 °С, затем профильтрована через стерилизующий фильтр Millex GP 220 нм и через ультрафильтр Amicon Ultracel с пределом задержания 300 кДа, законсервирована 0,3% фенолом и 0,02% азидом натрия.

В ходе эксперимента фильтрах был разделен на 3 равные части и пропущен через ультрафильтры с диаметром пор 220 нм (Millex GP), 10 нм (100 кДа) и 3 нм (10 кДа) (Amicon Ultracel). Полученные фракции были смешаны со стимулятором роста ВКГ в соотношении 1:2, инкубированы 48 ч при 37 °С и посеяны (по 0,3 мл на пробирку) на скошенную питательную среду MycCel DW.

Через 2 дня после посева были обнаружены мелкие стекловидные колонии, которые трансформировались в хорошо выраженный сплошной бактериальный слой после 3–5 «слепых» пересевов на свежую среду. В результате из фракций фильтрата были получены однотипные быстрорастущие (10–12 ч) культуры.

С помощью ПЦР с праймерами к 16S рРНК *M. bovis* и к видоспецифичным локусам IS6110, *mpb70* и *mpb64* было доказано, что все культуры, полученные путем посева фракций, соответствуют *M. bovis*. Благодаря окраске мазков по Киньону и дифференцирующим иммунопероксидазным методом (были использованы аффинноочищенная сыворотка кролика с IgG к CWD-формам *M. bovis*, а также конъюгат пероксидазы хрена с козьими антителами к IgG кролика) была подтверждена принадлежность бактерий к CWD-формам *M. bovis*. Полученные результаты доказывают, что защитные формы микобактерий способны преодолевать фильтры нанометрового диапазона и сохранять жизнеспособность. Дальнейшие исследования свойств микобактерий с дефектной клеточной стенкой помогут подробнее выявить их роль в патологии животных и человека при туберкулезе.



## ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ПРОЦЕССА БИОЭМУЛЬГАЦИИ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ МИКРОБНОЙ УТИЛИЗАЦИИ УГЛЕВОДОРОДОВ

**Ламова Я.А.<sup>1</sup>, Сережкин И.Н.<sup>1</sup>, Шестаков А.И.<sup>1</sup>**

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

*lamova.yana@mail.ru*

Одним из наиболее безопасных и перспективных методов утилизации нефтяных загрязнений является процесс микробной биоремедиации. Наибольший акцент в рамках данного направления исследователи делают на ферментативную биodeградацию углеводородов (УВ). Однако известно, что процесс микробной деградации нефтепродуктов происходит через этап выделения микроорганизмами поверхностно-активных веществ. Существует предположение, что при увеличении в процессе эмульгации площади контакта углеводородов с воздушной средой происходит интенсификация испарения компонентов нефти с водной поверхности. Таким образом, целью данной работы является изучение вклада биоэмульгации углеводородов в убыль углеводородов нефти в условиях низких температур.

В качестве объектов исследования были выбраны два микробных сообщества Nsk и Csha, выделенные из загрязненных нефтью образцов морской воды и почвы портовых зон Мурманска и Кандалякши. Характер роста культур и активность в отношении нефти исследовали в минеральной среде Таусона, содержащей 1% смеси сырой нефти и дизельного топлива в качестве основного источника углерода и энергии. Культивирование микроорганизмов проводили в орбитальном шейкере при температуре +4°C.

В результате работы было показано, что сообщество Csha обладало высокой эмульгирующей активностью в отношении углеводородов нефти, напротив, в среде культивирования сообщества Nsk образовывалась крупнодисперсная эмульсия. Степень деградации УВ спустя 20 суток культивирования микробным сообществом Csha составила 83%, сообществом Nsk – 38%.

Для оценки непосредственного влияния процесса эмульгации на испарение углеводородов был проведен эксперимент, исключаящий фактор окисления УВ микроорганизмами. В качестве поверхностно-активного вещества для эмульгирования УВ использовали стерильный раствор Tween-80 в конечной концентрации 0,1%. Было показано, что добавление к стерильной среде с нефтепродуктами синтетического эмульгатора Tween-80 способствует в условиях постоянного перемешивания убыли нефтепродуктов в количестве 16% от контрольного образца на десятые сутки инкубации. При этом, наблюдается снижение концентрации только среднекипящих n-алканов (C12-C24). Поскольку среда с Tween-80 была стерильной, можно предположить, что снижение концентрации углеводородов связано только с абиотическими потерями, в частности, в результате процесса испарения.



## ОПРЕДЕЛЕНИЕ РАСХОДА СУБСТРАТА *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* НА СРЕДЕ С РАЗЛИЧНЫМИ ИСТОЧНИКАМИ УГЛЕРОДА

**Лымарева В.В.<sup>1</sup>, Костенко О.С.<sup>1</sup>, Круглова М.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

*violetta\_cool1@mail.ru*

Дрожжи – внетаксономическая группа высших грибов, утративших мицелиальное строение, преимущественно вегетирующих в одноклеточной форме и размножающихся почкованием или делением. В биотехнологии дрожжи используются как векторные системы при производстве инсулина, интерферона, гетерологичных белков. Питательные среды для выращивания дрожжей могут содержать различные формы сахаров: пентозу, глюкозу, фруктозу, сахарозу.

Целью работы является изучение особенностей роста *Saccharomyces cerevisiae* на среде с различными источниками углерода и измерение кинетических параметров роста культуры. Для достижения поставленной цели были выдвинуты следующие задачи: провести культивирование дрожжей на средах с сахарами, содержащими разное количество атомов углерода, в том числе с концентрацией этих сахаров 0,5 и 5%; измерить количество нитрата как источника азота в среде после культивирования; определить выход биомассы и экономический коэффициент роста.

Оценивали убыль нитратов в минеральной среде в присутствии различных сахаров - в среде с 0,5% сахарозы было ассимилировано максимальное количество NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, минимальное – в случае использования арабинозы 5%. В конце опыта была взвешена сухая биомасса *Saccharomyces cerevisiae* после центрифугирования и высушивания. Наибольший выход биомассы среди сред с 5% концентрацией сахаров имели дрожжи, выросшие на среде с арабинозой - 7,75 г/л, наименьший с глюкозой – 4,5 г/л. Среди сред с концентрацией сахаров 0,5% наибольший выход имели дрожжи со среды с арабинозой – 2,5 г/л, наименьший с сахарозой – 1,5 г/л.

Экономический коэффициент вычислялся по формуле:  $Y = dx/ds$ . Наибольший экономический коэффициент имели дрожжи, выросшие на среде с арабинозой 5% - 7,0. Наименьший – дрожжи, выросшие на среде с сахарозой 0,5% - 0,9.

Исходя из полученных данных, можно предположить, что нитраты, потребленные дрожжами, культивированными на среде с сахарозой 0,5%, использовались главным образом не на построение микробных клеток, т.к. у этой культуры прирост биомассы был наименьшим, а на продукты метаболизма. В свою очередь, дрожжи, выращенные на среде с арабинозой 5%, потребили меньше всего нитратов, но прирост биомассы был больше. Данные показывают, что дрожжи, выращенные на среде с арабинозой, дают больший прирост биомассы, но с экономической точки зрения использование этого сахара невыгодно.



ЛИПОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ ИЗ КОЛЛЕКЦИИ  
КАФЕДРЫ ГЕНЕТИКИ, МИКРОБИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ ФГБОУ ВО КУБГУ

Моисеева Е.В.<sup>1</sup>, Карасева Э.В.<sup>1</sup>, Худокормов А.А.<sup>1</sup>, Самков А.А.<sup>1</sup>, Мамонтова  
Ю.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

*moisieieva97@inbox.ru*

Микробные ферменты широко используются в биотехнологических, пищевых и фармацевтических производствах. В свою очередь, липолитические ферменты не настолько широко применимы, поэтому изучение липолитической активности - это широкая область для исследований. Способность синтезировать липазы характерна для многих микроорганизмов, но данный процесс является штаммоспецифичным и его нельзя закрепить за определенной систематической единицей. Тем не менее важность бактериальных липаз обусловлена их физиологическими и физическими свойствами. Липазы микроорганизмов стабильнее, чем животные или растительные, при этом их активность не снижается в условиях окружающей среды. Также липазы устойчивы в органических растворителях и специфичны к потребляемому субстрату.

Основными проблемами при изучении липолитической активности являются физические свойства липидов – гидрофобность и нерастворимость в неорганических растворителях, таких как вода, что обуславливает низкую скорость разложения микроорганизмами этих субстратов. В связи с этим увеличивается время, необходимое для выявления продуцентов липаз, усложняется методика проведения эксперимента и процедура пробоподготовки. Поэтому представляется целесообразным проведение предварительных качественных тестов на плотных и жидких минеральных средах, где в качестве единственного источника углерода и энергии используются липиды с разной степенью насыщенности молекул.

Для изучения процесса выделения микробных липаз произвольно были выбраны 125 штаммов бактерий из коллекции кафедры генетики, микробиологии и биотехнологии ФГБОУ ВО КубГУ, относящихся к разным таксономическим единицам. На плотных средах липолитической активностью обладали 48 % культур, а на жидких средах проявили способность к окислению липидов 51 % штаммов.

По результатам работы липолитической активностью на плотных и жидких средах с источниками углерода - животным жиром и растительным маслом - обладали представители родов: *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Dietzia*, *Gordonia*, *Nocardia*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Stenotrophomonas*. Наибольшее количество штаммов бактерий, способных к деструкции липидов, относились к родам *Rhodococcus* (25 %), *Dietzia* (12 %), *Bacillus* (11,5 %), *Pseudomonas* (8 %). Поэтому на этапе предварительного отбора штаммов-продуцентов липаз, рекомендуется обращать внимание на представителей этих родов.



## АНАЛИЗ РЕГУЛЯЦИИ СИНТЕЗА ПИОВЕРДИНА У БАКТЕРИЙ PSEUDOMONAS BRASSICACEARUM БИМ В-446

**Муратова А.А.<sup>1</sup>, Мандрик-Литвинкович М.Н.<sup>1</sup>, Валентович Л.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ГНУ Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

*anya.muratova.93@mail.ru*

Бактерии рода *Pseudomonas*, активно продуцируют во внешнюю среду широкий спектр биологически активных соединений, среди которых особый интерес вызывают флуоресцирующие пигменты, представляющие собой уникальные соединения, обладающие антимикробными свойствами.

Целью настоящего исследования являлся анализ регуляции синтеза пиовердина у бактерий *P. brassicacearum* БИМ В-446.

В результате аннотации генома бактерий *P. brassicacearum* БИМ В-446 нами был выявлен *pvd*-кластер, отвечающий за синтез пиовердина. Для исследования данного кластера использовали метод направленного мутагенеза, в результате которого были получены варианты с отсутствием синтеза данного антимикробного метаболита. Для поиска генов, участвующих в регуляции синтеза пиовердина, был проведен транспозоновый мутагенез и были отобраны варианты бактерий с отсутствием флюоресценции и измененными свойствами антимикробной активности. Были определены нуклеотидные последовательности восьми генов, инактивированных в результате встраивания транспозона. Затем с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии было установлено, что при встраивании транспозона в гены прекращается синтез определенных форм пиовердина: у мутанта с направленной инактивацией *pvd*-кластера отсутствуют все 8 форм пиовердина, а у транспозоновых мутантов определяется от 1 до 7 форм.

Таким образом, были охарактеризованы новые, ранее не описанные генетические детерминанты, мутация в которых приводила к нарушению синтеза пиовердина.

## РАЗВИТИЕ ТЕРМОФИЛЬНОЙ МИКРОФЛОРЫ ИЗ ГЕОТЕРМАЛЬНЫХ ВОД ЖАРКЕНТСКОЙ ВПАДИНЫ (КАЗАХСТАН) НА РАЗЛИЧНЫХ НАКОПИТЕЛЬНЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ

**Мусабеков Ж.Т.<sup>1</sup>, Батыкова Ж.К.<sup>1</sup>, Сайдильдина С.С.<sup>1</sup>, Назаров С.В.<sup>2</sup>, Машжан А.С.<sup>1</sup>, Батлуцкая И.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Алматы, Казахстан;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

*svyatoslav.nazarov11@gmail.com*

Термофильные микроорганизмы, обитающие в геотермальных водах, могут служить продуцентами высокоактивных и стабильных ферментов, пригодных к использованию при высоких температурах.

В пределах Жаркентской впадины в урочище Жаркунак Республики Казахстан расположен ряд скважин, предназначенных для добычи геотермальных вод. Воды, поступающие на поверхность из скважины №5539, глубиной 2850 метров, характеризуются как слабоминерализованные (до 1,0 г/дм<sup>3</sup>), щелочные (рН 8,1-9,0), умеренно радоновые (до 60 нКи/л), богатые кремниевой кислотой (свыше 50 мг/дм<sup>3</sup>),





преимущественно хлоридно-гидрокарбонатного натриевого состава с высокой концентрацией фтора (до 10 мг/дм<sup>3</sup>).

Забор проб, содержащих представителей термофильной микрофлоры, проводили со дна озера, образованного поступающими из скважины водами, на глубине около 30 см при температуре воды +96 °С. Пробы донного грунта охлаждали до +4 °С и наутро высевали в жидкие питательные среды различного состава.

Среда на основе рецептуры Лурия-Бертани, предназначенная для накопления амилитических микроорганизмов, содержала 10 г/л триптона, 5 г/л дрожжевого экстракта и 10 г/л картофельного крахмала, рН 7,0-7,2. Среда Гетчинсона для отбора организмов, способных к секреции целлюлаз, содержала NaNO<sub>3</sub> 2,5 г/л; FeCl<sub>3</sub> 0,01 г/л; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1 г/л; MgSO<sub>4</sub>\*7H<sub>2</sub>O 0,3 г/л; NaCl 0,1 г/л; CaCl<sub>2</sub> 0,1 г/л; рН довели до 7,2 добавлением 20% раствора Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>; единственным источником углерода была карбоксиметилцеллюлоза в концентрации 5 г/л. Для накопления продуцентов липаз использовалась среда, содержащая tween-80 10 г/л; пептон 10 г/л; NaCl 5 г/л; CaCl<sub>2</sub> 0,1 г/л; рН 7,4.

Посевы проводились путём добавления 10 мл жидкой пробы (суспензия донных отложений) к 140 мл каждой из трёх питательных сред. Во всех средах в течение первых двух суток культивирования было фотометрически зафиксировано развитие микрофлоры. Более интенсивный рост микроорганизмов наблюдался в средах, предназначенных для накопления амилитических и липолитических видов, что отражает присутствие в их составе легкоусваиваемых источников углерода. В среде Гетчинсона, предназначенной для отбора продуцентов целлюлаз, также наблюдалось развитие микроорганизмов, что свидетельствует о наличии у определённых термофильных видов в пробах преадаптации к расщеплению целлюлозы.

## ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИОФАГА CLAVIBACTER MICHIGANENSIS – ВОЗБУДИТЕЛЯ БАКТЕРИАЛЬНОГО РАКА ТОМАТА

**Орловская П.И.<sup>1</sup>, Гирилович Н.И.<sup>1</sup>, Пилипчук Т.А.<sup>1</sup>, Мандрик-Литвинкович М.Н.<sup>1</sup>, Коломиец Э.И.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ГНУ Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

*orlovskapi@gmail.com*

Томат занимает одну из лидирующих позиций в рейтинге самых потребляемых овощей во всем мире. Вместе с тем, ежегодные потери урожая этой культуры составляют около 35 % валовых сборов, что во многом связано с высоким процентом поражаемости растений бактериальными болезнями (40-60 %). На сегодняшний день одним из наиболее вредоносных заболеваний томата является бактериальный рак, вызываемый бактериями *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Заболевание проявляется в виде увядания растений вследствие поражения сосудистой системы; пятнистости на листьях и плодах; язвочек на стеблях, плодоножках, жилках и черешках листьев. В Европейском союзе фитопатоген *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* относится к карантинным объектам (список А2).

Эффективным средством биологической борьбы с бактериальными заболеваниями растений являются бактериофаги, разрушающие клетки фитопатогенных бактерий. Главное преимущество бактериофагов перед другими средствами борьбы с бактериозами состоит в том, что они обладают высокой видоспецифичностью в отношении патогенных бактерий и являются естественными компонентами экосистем, поэтому их можно



использовать для профилактики и сдерживания развития бактериозов на всех стадиях развития растений.

Целью работы являлось выделение бактериофагов *Clavibacter michiganensis* – возбудителя бактериального рака томата.

Из образцов минеральной ваты (субстрата для выращивания томатов), отобранных на территории теплицы с гидропонной технологией выращивания овощных культур (Гродненская область, Республики Беларусь) был выделен бактериофаг *Clavibacter phage* Cm-1 вирулентный к бактериям *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. На газоне индикаторного штамма бактериофаг Cm-1 образовывал мелкие, 1-2 мм в диаметре, прозрачные, с четко очерченным краем, без ореола негативные бляшки. Также проанализирован спектр литического действия фага Cm-1 к 9 фитопатогемам вида *Clavibacter michiganensis* из Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов Института микробиологии НАН Беларуси и показано, что фаг характеризуется широким спектром литического действия, образуя негативные колонии на всех исследуемых штаммах.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о возможности использования выделенного бактериофага *Clavibacter phage* Cm-1 как агента для защиты томатов от бактериозов.

#### БИОРАЗНООБРАЗИЕ МИКРОМИЦЕТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ КУБГУ С РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ СТРОИТЕЛЬНЫХ МАТЕРИАЛОВ

**Оробец К.С.<sup>1</sup>, Худокормов А.А.<sup>1</sup>, Карасёва Э.В.<sup>1</sup>, Волченко Н.Н.<sup>1</sup>, Самков А.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

*orobets.ks@gmail.com*

Биоповреждения строительных материалов микроскопическими грибами являются распространенной проблемой и требуют безотлагательного решения. Для разработки эффективных средств антифунгальной защиты необходимо изучение биоразнообразия микромицетов-биодеструкторов и их особенностей.

Объект исследования – микроскопические грибы, выделенные с объектов, расположенных на территории КубГУ и имеющих визуальные повреждения.

Исследуемый материал – соскобы с различных биоповрежденных участков штукатурки, бетона, кирпича и дерева. Выделение микроскопических грибов-биодеструкторов для последующего количественного учета осуществляли путем посева суспензии на стандартные питательные среды в чашки Петри. Идентификация микромицетов проводилась по их морфологическим признакам.

Среди выделенных микроскопических грибов были идентифицированы 12 различных видов: *Penicillium purpurogenum*, *Penicillium* spp., *Penicillium* spp, *Mucor plumbeus*, *Aspergillus niger*, *A. terreus*, *A. fumigatus*, *A. nidulans*, *A. spp.*, *Trichoderma viride*, *Trichotecium roseum*, *Cladosporium* spp. Наиболее часто из очагов биодеструкции строительных материалов выделялись представители родов *Aspergillus*, *Penicillium*. Данные микроорганизмы встречались в каждом типе исследуемых материалов, как в естественных (древесина), так и в искусственных строительных материалах (штукатурка, бетон и пр.). Наибольшее видовое разнообразие выявлено у представителей родов *Aspergillus* (5 видов) и *Penicillium* (3 вида). Максимальное биоразнообразие различных видов микроскопических грибов-агентов биоповреждений по данным проведенных исследований отмечено для штукатурки (на всех пробах 7 различных видов). По результатам проведенных исследований суммарно наибольшее число зародышевых



единиц микромицетов находилось в пробах различных образцов штукатурки и составило от  $6 \cdot 10^5$  до  $1 \cdot 10^7$  в 1 г; в пробах кирпича число зародышевых единиц колебалось от  $2 \cdot 10^5$  до  $4 \cdot 10^6$  в 1 г; в пробах древесины – от  $3 \cdot 10^5$  до  $7 \cdot 10^5$  в 1 г; а наименьшее количество зародышевых единиц было обнаружено в образцах бетона и составило от  $1 \cdot 10^5$  до  $1 \cdot 10^6$  в 1 г.

Таким образом, было установлено, что для биоповрежденных строительных материалов характерно большое биоразнообразие микромицетов-деструкторов, среди которых преобладают представители родов *Aspergillus* и *Penicillium*.

## ДЕЙСТВИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО КАТИОННОГО ПЕПТИДА ВАРНЕРИНА В УСЛОВИЯХ ГОЛОДАНИЯ И ГИПЕРОСМОТИЧЕСКОГО СТРЕССА

**Отинов Г.Д.<sup>1</sup>, Полюдова Т.В.<sup>2</sup>, Коробов В.П.<sup>2</sup>**

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

*g.d.otinow@gmail.com*

Быстрое развитие резистентности бактерий к вводимым в практику новым антибиотикам является глобальной проблемой, одним из решений которой представляется поиск оптимальной комбинации условий среды и действия различных антибактериальных агентов.

Целью настоящего исследования явился поиск условий проявления синергии между действием антибактериального низкомолекулярного катионного пептида семейства лантибиотиков варнерина и различными условиями среды, в частности, голоданием и гиперосмотическим стрессом.

Объектами исследования явились грамположительные бактерии *Cutibacterium acnes* ВКМ АС1450, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 29887 и *Streptococcus pyogenes* NCIMB 8884.

На первых этапах исследования проводилось выявление чувствительности бактерий этих штаммов к варнерину методом двукратных серийных разведений, результаты которого показали, что исследуемые бактерии обладали резистентностью к варнерину, кроме бактерий *C. acnes* ВКМ АС1450.

Вторым этапом явилось изучение динамики гибели бактерий под действием варнерина в условиях голодания и гиперосмотического стресса. Оценку эффекта пептида проводили после добавления к суспензии клеток равного объема варнерина, растворенного в 10 мМ Трис – HCl буфере или 30% водном растворе сахарозы с конечной концентрацией пептида 0,5 мг/мл. В процессе экспериментов измеряли ОП<sub>600</sub> бактериальных суспензий и динамику количества колониеобразующих единиц (КОЕ/мл).

Результаты экспериментов показали, что в использованных условиях варнерин губительно действует не только на чувствительные бактерии *Cutibacterium acnes* ВКМ АС1450, но и на резистентные к нему *Streptococcus pyogenes* NCIMB 8884 (величина КОЕ/мл уменьшилось более чем в 10 раз), однако, в этих условиях варнерин не вызывал гибели бактерий *S. epidermidis* ATCC 29887. Важно отметить, что антибактериальное действие варнерина в условиях гиперосмотического стресса распространялось на все исследуемые штаммы бактерий. Так, КОЕ/мл *S. epidermidis* ATCC 29887 снизилось практически на порядок. Вместе с тем необходимо отметить, что в условиях гиперосмотического стресса не было выявлено усиления антибактериального действия



варнерина на *C. acnes* ВКМ АС1450 и *S. pyogenes* NCIMB 8884 в сравнении с условиями голодания.

Таким образом, совместное влияние голодания и гиперосмотического стресса и катионного пептида варнерина открывают возможности преодоления резистентности бактерий при действии на них этого лантибиотика.

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ВЫДЕЛЕНИЯ МЕТАГЕНОМНОЙ ДНК ИЗ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

**Охремчук Е.В.<sup>1</sup>, Буйницкая С.В.<sup>1</sup>, Сидоренко А.В.<sup>1</sup>, Валентович Л.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ГНУ Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

*katerina\_akhr@bio.bsu.by*

Исследования последних лет показывают, что нарушение качественного и количественного состава симбиотической кишечной микробиоты вносит значительный вклад в развитие ряда заболеваний человека. Это обуславливает актуальность изучения изменений микробиоценоза кишечника, ассоциированных с различными патологиями.

В настоящее время наиболее информативным методом анализа структуры кишечной микробиоты считается метагеномный анализ, одним из важнейших этапов которого является выделение ДНК микробного сообщества из кала. Варьируя параметры, исследователь может получать различные результаты, работая с одним и тем же образцом биоматериала.

В 2018 году в Республике Беларусь впервые стартовал научный проект, связанный с изучением микробиома кишечника человека. Целью первого этапа исследований явился анализ эффективности доступных коммерческих наборов и описанных в литературе методов выделения метагеномной ДНК из кала.

Протестировано 11 наборов разных производителей и методика, предложенная в работе Кумар и соавторов. Измерение концентрации и анализ чистоты образцов ДНК проводили 3 методами: спектрофотометрическим, флуориметрическим и денситометрическим анализом электрофореграмм при помощи ПО Image Lab. Пригодность образцов ДНК для молекулярно-генетических исследований подтверждали путем рестрикционного анализа и амплификации с универсальными праймерами к гену 16S рРНК.

Образцы метагеномной ДНК, полученные с использованием разных наборов, отличались по концентрации и спектральным характеристикам. При этом, оптимальным сочетанием тестируемых характеристик обладали препараты нуклеиновых кислот, выделенные с помощью набора NucleoSpin® DNA Soil (Cat No740780.50, Macherey-Nagel).

На основании проведенного исследования мы можем судить об эффективности экстракции нуклеиновых кислот лишь по их целостности, концентрации, а также химической чистоте образца. Для того чтобы выявить, в какой степени в полученных метагеномных ДНК представлены нуклеиновые кислоты отдельных таксонов микроорганизмов, необходимо провести их дальнейший анализ с помощью высокопроизводительного массового секвенирования. Полученные данные позволят выбрать наиболее подходящий метод для выделения ДНК из образцов кала для максимально полного выявления таксономического разнообразия кишечной микробиоты здоровых людей и пациентов с онкогематологическими заболеваниями, что и является основной целью проекта.



## ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА VB\_VTS\_B83, НОВОГО УМЕРЕННОГО БАКТЕРИОФАГА БАЦИЛЛ ГРУППЫ *BACILLUS CEREUS*

**Пилигримова Э. Г.<sup>1,2</sup>, Казанцева О. А.<sup>1</sup>, Загородный В. А.<sup>3</sup>, Шадрин А. М.<sup>1,4</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ РАН, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пущино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Вятский государственный университет, Киров, Россия; <sup>3</sup>ФГАОУ ВО Самарский национальный исследовательский университет им. С.П. Королева, Самара, Россия; <sup>4</sup>ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия

*andrey2010s@gmail.com; andrey.shadrin@ibpm.ru*

В последнее время вновь возрос интерес к бактериофагам – вирусам, инфицирующим бактерии. Бактериофаги и их компоненты часто становятся основой для разработки антибактериальных препаратов, систем диагностики и доставки лекарственных средств. Для максимально эффективного применения бактериофагов в медицине, ветеринарии, сельском хозяйстве и пищевой промышленности требуется их глубокое изучение на генетическом уровне с помощью метода полногеномного секвенирования.

В данной работе мы описываем ранее не охарактеризованный умеренный бактериофаг В83, выявленный при индукции митомицином С профагов из штамма *Bacillus thuringiensis* VKM В-83, обнаруженного в телах мертвых гусениц сибирского шелкопряда в 50-х годах XX века. При визуализации структуры вириона методом электронной микроскопии, бактериофаг В83 был отнесен к семейству *Siphoviridae*. Определены особенности заражения штаммов бактерий-хозяев при температуре +30, +37 и +42°C. В ходе анализа данных секвенирования геномной ДНК, идентифицированы открытые рамки считывания, кодирующие белки репликации и рекомбинации, поддержания плазмидной формы, регуляции метаболизма ДНК, структурные белки и белки лизиса бактериальной клетки. Общая организация генома В83 указывает на то, что данный фаг, как и описанные ранее бактериофаги LE1 *Leptospira biflexa* и P1 *E. coli*, в состоянии профага присутствует в клетке экстрахромосомно в форме кольцевой плазмиды.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-04-00300

## ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИОФАГА PF-11 ФИТОПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ РОДА *PSEUDOMONAS*

**Пилипчук Т.А.<sup>1</sup>, Коломиец Э.И.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

*tanya.pilipchuk@tut.by*

Ежегодно бактериальные болезни сельскохозяйственных растений уничтожают значительную часть мирового урожая, нанося тем самым большие убытки экономике различных стран. К широко распространенным в мире возбудителям бактериозов растений относятся представители вида *Pseudomonas syringae*. В настоящее время существует около 50 патоваров этого вида, способных заражать как культурные, так и дикорастущие растения.



Одним из эффективных средств биологической борьбы с возбудителями бактериальных заболеваний являются препараты на основе вирусов бактерий, которые целенаправленно действуют на патоген, не затрагивая полезных микроорганизмов, обитающих в окружающей среде.

В связи с вышеизложенным, целью данной работы являлась характеристика фага Pf-11 фитопатогенных бактерий *Pseudomonas syringae*.

Из образцов растительного материала (стеблей и листьев томата), был выделен бактериофаг Pf-11 вирулентный к бактериям *Pseudomonas syringae* БИМ В-286. На газоне индикаторного штамма фаг Pf-11 формировал прозрачные негативные бляшки, диаметром 2-4 мм, с четко очерченным краем, без ореола. Электронно-микроскопический анализ частиц фага показал наличие у него изометрической головки диаметром 40 нм и короткого конусовидного отростка без базальной пластинки.

Анализ чувствительности фага к действию физико-химических факторов выявил, что фаг устойчив к цитрату натрия (1–4%) и хлороформу (1-10%).

Исследования литической активности фага Pf-11 в отношении фитопатогенных бактерий рода *Pseudomonas* показали, что фаг лизирует бактерии *P. syringae* БИМ В-86, *P. syringae* БИМ В-695, *P. putida* БИМ В-68, *P. putida* БИМ В-159, *P. fluorescens* БИМ В-582 и не активен в отношении штамма *P. fluorescens* БИМ В-152.

Рестрикционный анализ фаговой ДНК с использованием эндонуклеаз AvaI, HincII, HindIII, EcoRI, BamHI выявил наличие сайтов рестрикции у фага Pf-11 для всех вышеперечисленных ферментов кроме Hind III. Продукты рестрикции бактериофага Pf-11, полученные с помощью рестриктаз HincII, были клонированы в вектор pJET и секвенированы по Сэнгеру. Определенная нуклеотидная последовательность фрагмента геномной ДНК размером 495 п.н. характеризовалась сходством (91%) с референтной нуклеотидной последовательностью только одного организма – бактериофага *Pseudomonas phage Andromeda*, депонированной в базе данных NCBI (ГенБанк).

Бактериофаг Pf-11 депонирован в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов и может быть использован в составе препарата для защиты от бактериозов, вызванных бактериями рода *Pseudomonas*.

#### LYSOBACTER SOLANACEARUM, ШТ. LBL – МИКРООРГАНИЗМ, ВЫДЕЛЕННЫЙ С ПОВЕРХНОСТИ КОЖНОГО ПОКРОВА ШПОРЦЕВОЙ ЛЯГУШКИ XENOPUS LAEVIS

**Погодина Е.И.<sup>1</sup>, Абашина Т.Н.<sup>1,2</sup>, Шорохова А.П.<sup>1</sup>, Поливцева В.Н.<sup>1</sup>, Есикова Т.З.<sup>1</sup>, Сузина Н.Е.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ РАН, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пущино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия

*pogodinatya@yandex.ru*

Симбиотические микроорганизмы-эпибионты кожи лягушки активно исследуются на протяжении последних десятилетий. В настоящее время известно, что слизистые покровы земноводных населены бактериями представителями нескольких десятков родов, таких как *Pseudomonas*, *Brevundimona*, *Pseudoclavibacter*, *Rhodococcus* и других. Данные ряда исследований свидетельствуют о том, что роль симбиотических микроорганизмов можно охарактеризовать в целом, как защитную. Микроорганизмы могут продуцировать вещества с антимикробной активностью, конкурировать за субстрат с болезнетворными микроорганизмами, изменять микроокружение поверхностных покровов хозяйских



организмов, предотвращая колонизацию покровов микроорганизмами из окружающей среды, либо стимулировать секрецию защитных пептидов кожными железами лягушек.

Нами с поверхности кожного покрова шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* был выделен бактериальный штамм LB1, который по своему филогенетическому положению наиболее близок к роду *Lysobacter*, вид *L. solanacearum*. Клетки штамма LB1 представляют собой неподвижные тонкие длинные палочки (3-5 x 0,5-0,6 мкм). При росте на богатых средах на начальных этапах лизиса бактерий наблюдается выделение черного водорастворимого пигмента.

Целью данной работы является комплексное изучение физиолого-биохимических свойств и цитологических особенностей нового изолята. Важным аспектом исследования является выявление и характеристика антимикробной активности штамма LB1.

В результате проведенных исследований установлено, что *L. solanacearum* шт. LB1 – грамотрицательный, аэробный микроорганизм, каталазо- и оксидазо-положительный. С применением тест системы API 20 E по идентификации микроорганизмов фирмы bioMérieux SA установлено, что новый изолят *L. solanacearum* шт. LB1 способен разлагать субстраты: тиосульфат натрия; L-триптофан (положительный тест на триптофандеаминазу) и желатин. Клетки шт. LB1 имеют типичное для грамотрицательных бактерий строение и характеризуются наличием наружной и цитоплазматической мембран, тонкого слоя муреина и периплазматического пространства в составе оболочки. Клетки шт. LB1 способны продуцировать множественные везикулы наружной мембраны. На основании анализа нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК построено филогенетическое дерево. Установлено, что ближайшими родственниками исследуемого штамма являются *L. brunescens* и *L. hankyongensis*.

Выявлена высокая антимикробная активность шт. LB1 в отношении широкого спектра грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов.

## ОПИСАНИЕ НОВОГО КЛАСТЕРА ОДНОКЛЕТОЧНЫХ ЦИАНОБАКТЕРИЙ В РАМКАХ РЕВИЗИИ ПОЛИФИЛЕТИЧНОГО РОДА SYNECHOCYSTIS

**Полякова Е.Ю.<sup>1</sup>, Аверина С.Г.<sup>1</sup>**

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

*polyakova.e.yu@gmail.com*

В систематике прокариот используется комплексный подход, включающий генетические, физиологические, морфологические и ультраструктурные признаки для правильной постановки систематического диагноза. Существующая на данный момент бактериологическая система филы Cyanobacteria в основном строится на морфологическом критерии. Многие таксоны в ранге рода, к которым относится и р. *Synechocystis*, являются полифилетичными и требуют пересмотра с использованием современных методов.

Исследование, проведенное ранее на выборке штаммов коллекции CALU СПбГУ [1], идентифицированных как *Synechocystis* spp., еще раз показало гетерогенность рода. На основе сравнения короткого (650 п.н.) фрагмента гена 16S рРНК, наличия/отсутствия фотосинтетического пигмента фикоэритрина и морфометрического анализа были выделены три кластера уровня рода [2].

Цель нашей работы: оценка возможности описания Кластера 2, включающего 4 штамма: CALU 1077, CALU 1127, CALU 1173 и CALU 1174, в ранге нового рода. Проведенный молекулярно-филогенетический анализ последовательностей длинного



фрагмента гена 16S рРНК (1368-1389 п.н.) показал высокую степень гомологии штаммов Кластера 2 с некультивируемыми формами цианобактерий (98-97%). Среди культивируемых форм ближайшими гомологами оказались представители трихомных (р. *Pseudanabaena*, 92%; р. *Schizothrix*, 92%; р. *Leptolyngbya*, 92%). Анализ последовательностей 16S-23S внутреннего транскрибируемого спейсера (ITS) рибосомного оперона также свидетельствует об уникальности штаммов кластера. При проверке исследуемых штаммов на солеустойчивость было обнаружено, что представители Кластера 2 являются стеногалинными пресноводными формами, что согласуется с местом их выделения. Данный физиологический критерий был принят к рассмотрению на основе рекомендаций руководства Берги по систематике бактерий [3].

На основе полученных результатов можно сделать вывод о возможности описания Кластера 2 как отдельного рода одноклеточных цианобактерий.

1. <http://researchpark.spbu.ru/collection-ccem-rus/1628-ccem-kollekciya-calu-rus>
2. Карапетян М. А. Полифазный подход в систематике рода *Synechocystis* / Выпускная квалификационная работа магистра. Санкт-Петербург. 2017. 68 с.
3. Castenholz R. W. Phylum BX. Cyanobacteria. / In: Boone D.R., Castenholz R.W., Garrity G. M. (eds), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (2nd Ed.). / Springer-Verlag. New York. 2001. V. 1. P. 473–599.

## ГЕНОТИПИРОВАНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ ИЗ ГОСУДАРСТВЕННОЙ ТРЕТЬЯКОВСКОЙ ГАЛЕРЕИ, СПОСОБНЫХ ПОРАЖАТЬ ПРОИЗВЕДЕНИЯ ТЕМПЕРНОЙ ЖИВОПИСИ

**Потапов М.П.<sup>1</sup>, Авданина Д.А.<sup>2</sup>, Жгун А.А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московский политехнический университет, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФИЦ Биотехнологии РАН, Институт биоинженерии, Москва, Россия

*mrk9804@gmail.com*

Микроорганизмы являются важнейшим фактором, приводящим к разрушению произведений искусства. Темперная живопись – эффективный субстрат, на котором способны расти разнообразные микробиологические сообщества. Ранее, с разрешения главного хранителя музейных ценностей Государственной Третьяковской галереи (Москва, Лаврушинский переулок, 10) в залах Живописи Древней Руси № 56, 57, 61 отобрали 106 проб с поверхностей произведений темперной живописи 16-го века, а также, с различных внутренних коммуникаций залов; получили коллекцию культивируемых на микробиологических средах микроорганизмов, показали их эффективный рост на специально подготовленных макетах, представляющие отдельные лакокрасочные слои, используемые в темперной живописи. В данной работе повели генотипирование как исходных отобранных образцов, так и полученных на их основе культивируемых аналогов. Для генотипирования использовали V3-V4 гипервариабельный район рДНК прокариот и межгенные участки ITS1 и ITS2 рДНК эукариот. Обнаружено, что микроорганизмы, присутствующие в видимом количестве во внутренних коммуникациях здания, соотносятся по видовому разнообразию с микроорганизмами, присутствующими в невидимых количествах на темперных поверхностях Великих Православных икон «Церковь Воинствующая», «Святой Великомученик Димитрий Солунский», а также, темперном бюсте Георгия Победоносца из Кремля. При этом показано, что доминантные виды грибов и бактерий, обнаруженные в исходных пробах, также присутствуют в культивируемых образцах. В этой связи поражающая способность, продемонстрированная для культивируемых инокулятов в отношении лакокрасочных субстратов, представляет





прямую опасность для изучаемых объектов темперной живописи. При любом отклонении от строго регламентированных параметров температурно-влажностного режима, которые соблюдаются в Государственной Третьяковской галерее и подавляют рост патогенного микробиома, возможно его пробуждение, рост, развитие, сопровождающееся повреждением объектов культурного наследия. По результатам работы в GenBank депонировали 15 последовательностей доминантных мицелиальных грибов, присутствующих в пробах из Государственной Третьяковской галереи.

Работа поддержана грантом РФФИ 17-29-04349.

## МИКРОФЛОРА ЭКСТРЕМАЛЬНОЙ ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ ВОДНОЙ СИСТЕМЫ АНТРОПОГЕННОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

**Пьянков И.А.<sup>1</sup>, Кононова Л.И.<sup>2</sup>, Коробов В.П.<sup>1,2</sup>**

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

*vanuopyankov@gmail.com*

В природе, практически, все микроорганизмы существуют в сообществах, называемых биоплёнками [1], формирование и функционирование которых пагубно сказываются на устройствах, используемых человеком на производстве, в быту и медицине. Так, биоплёнки быстро возникают на медицинских имплантах, снижают качество воды на очистных сооружениях, вызывают биодеструкцию строительных материалов [2].

Целью настоящей работы явилось изучение видового состава и биологических свойств микробных пленок, образующихся на обратноосмотической установке очистки воды одного из крупных производственных предприятий г. Перми.

Пробы для исследования отобраны с пяти участков установки и из пермеата. Соответственно, было получено 17 и 1 микробных изолятов, в которых были обнаружены, грамположительные бактерии (n=12, 66.6%), являющиеся представителями рода *Bacillus*, относящиеся более чем к одному виду, а также представляющие несколько различных видов нокардиоформных актиномицетов. Среди грамположительных микроорганизмов особое место занял изолят, идентифицированный, как представитель дрожжей рода *Rhodotorula*.

Изучение биохимической активности представителей грамотрицательной микрофлоры позволило отнести их к двум видам из семейства *Enterobacteriaceae*, в то время как остальные были идентифицированы как представители семейства *Vibrionaceae*.

Важно отметить, что 76 % микробных изолятов оказались способными к образованию биоплёнок, при этом половина из них являлась сильными биоплёнокообразователями. Определено, что микробные изоляты на микроуровнях конкурируют в смешанных пленках в четырех из пяти рассмотренных вариантов, что соответствует имеющимся литературным данным о взаимоотношениях микроорганизмов в пленках, которые чаще всего носят антагонистический характер [3].

Результаты проведенных исследований экстремальной производственной водной системы выявили разнообразие состава её микрофлоры, представленной широко распространенными сапрофитными микроорганизмами, обладающими различной способностью к образованию биоплёнок.

Список литературы:



1. Flemming H., Wingender J., Szewzyk U., Steinberg P., Rice S. A. Biofilms : an emergent form of bacterial life // *Nature reviews.Microbiology*. – 2016. – Vol. 14. – № 9. – P. 563–575.
2. Шилова Е.А., Леавнчук А.В., Сазанова А.М. Методика подбора биоцидных препаратов для борьбы с биодеструкцией, вызванной сообществом микромицетов. // Интернет-журнал «Науковедение». – 2015. – Т.7. – № 2. – С. 1–11.
3. Foster K.R., Bell T. Competition, not cooperation dominates interactions among microbial species. // *Curr. Biol*. – 2012. – Vol.19. – P.1845–1850.

## ВЛИЯНИЕ ИСТОЧНИКА УГЛЕРОДА И АЗОТА НА ПРОДУКЦИЮ ГЕТЕРОАУКСИНА ШТАММОМ *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* В2

**Саенко К.Ю.<sup>1</sup>, Черная Е.Ю.<sup>1</sup>, Моисеева Е.В.<sup>1</sup>, Волченко Н.Н.<sup>1</sup>, Карасева Э.В.<sup>1</sup>,  
Самков А.А.<sup>1</sup>, Худокормов А.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

*saenkoK1997@yandex.ru*

Растительно-микробные взаимодействия в современной микробиологии и биотехнологии представляют как теоретический, так и практический интерес. С теоретической точки зрения – механизмы трофических и гормональных связей позволяют понять способы формирования симбиотических систем. С практической – они являются, в числе прочего, важной составляющей технологий биоремедиации, относящихся к фиторемедиации. В этом случае бактерии могут стимулировать рост растений как прямым, так и опосредованным образом. Перспективными для достижения этой цели являются представители рода *Rhodococcus*, как бактерии способные выделять фитостимулирующие гормоны (прямой путь) и разлагать загрязняющие вещества в почвах, снижая их токсическое воздействие на растения (опосредованный). На кафедре генетики, микробиологии и биотехнологии ФГБОУ ВО КубГУ традиционно исследуются нефтеокисляющие микроорганизмы, применяемые для очистки почв, грунтов и вод в условиях Юга России. В предшествующих работах показана возможность выделения коллекционными родококками фитогормона ауксина, который является известным стимулятором роста побегов и корней у растений, а также улучшают дифференциацию клеток.

В проведенных опытных испытаниях использовался штамм *Rhodococcus erythropolis* В2, который был ранее выделен и исследован на кафедре генетики, микробиологии и биотехнологии ФГБОУ ВО КубГУ. Целью работы был подбор оптимального источника углерода и азота, при котором выход фитогормона был бы максимальным. В качестве основного источника углерода и энергии применяли сахарозу, а дополнительным источником азота и углерода выступали аминокислоты – триптофан и пролин. Известно, что триптофан является метаболическим предшественником при синтезе микробными клетками ауксина. Индолилуксусную кислоту (ИУК) определяли стандартным колориметрическим методом с помощью реактива Сальковского.

Было обнаружено, что наибольшее содержание ИУК наблюдалось в минеральной среде с сахарозой и триптофаном (0,112 мкг/мл), когда как в среде только с триптофаном было 0,004 мкг/мл ауксина, с пролином – 0,035 мкг/мл, в среде только с сахарозой – 0,01 мкг/мл. Пролин хоть и является циклической азотсодержащей аминокислотой, но не используется *Rh. erythropolis* В2 для синтеза ИУК, а концентрация его биомассы в среде с пролином была в два раза меньше, чем на среде с триптофаном. На основе полученных



результатов можно рекомендовать среду с сахарозой и триптофаном для получения индолил-3-уксусной кислоты как целевого продукта.

## ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ХЛОРИДА НАТРИЯ НА РОСТ БАКТЕРИЙ *CUPRIAVIDUS EUTROPHUS* B-10646 И СИНТЕЗ ЗАПАСНЫХ ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТОВ

Сапожникова К.Ю.<sup>1,2</sup>, Жила Н.О.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ ФИЦ КНЦ Институт биофизики СО РАН, Красноярск, Россия; <sup>2</sup>ФГАОУ ВО  
Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия

*kristina.sap@list.ru*

Бактерии *Cupriavidus eutrophus* способны накапливать в качестве резервных молекул ПГА, используя разнообразные субстраты – от классических углеводов до отходов производств. ПГА обладают способностью к биodeградации, поэтому они могут применяться в разных сферах: от медицинской до сельскохозяйственной. Повышение содержания ПГА в клетках при одновременном сохранении высоких урожаев биомассы – одна из задач, стоящих перед исследователями ПГА. Одним из факторов, влияющих на выход полимера и урожай биомассы, является концентрация хлорида натрия.

Для определения содержания полимера использовали газовую хроматографию с масс-спектрометрией (ГХ-МС). Гель-проникающую хроматографию применяли для измерения молекулярно-массовых характеристик. Липополисахариды (ЛПС) выделяли фенольно-водной экстракцией, липиды цитоплазматической мембраны (ЛЦМ) – по методу Фолча; жирнокислотный состав определяли, используя ГХ-МС. Размеры клеток бактерий и количество гранул ПГА анализировали просвечивающей электронной микроскопией.

Исследовано влияние концентраций хлорида натрия на урожай биомассы и выход полимера. Концентрация биомассы в конце культивирования (72 ч) при отсутствии хлорида натрия в среде составила 7,8 г/л, содержание П(ЗГБ) – около 90% от сухой биомассы; в присутствии 5-10 г/л NaCl урожай биомассы не изменился, но при более высоких концентрациях NaCl (25-30 г/л) наблюдалось ингибирование роста бактерий и синтеза полимера. Отметим, что присутствие небольших концентраций хлорида натрия в среде приводило к более интенсивному накоплению полимера даже в фазу активного роста бактерий. Установлено снижение молекулярно-массовых характеристик полимера при концентрации хлорида натрия в среде свыше 10 г/л на фоне возрастания полидисперсности.

ЛЦМ представлены насыщенными, в т.ч. циклопропановыми, и ненасыщенными жирными кислотами. Отмечено увеличение содержания насыщенных и снижение ненасыщенных кислот с увеличением концентрации хлорида натрия в среде. Основная часть жирных кислот ЛПС представлена гидроксикислотами – более 70% от общей суммы.

Впервые показано, что на всех этапах роста (даже в фазу активного роста бактерий) наблюдались удлинённые клетки с нарушенным процессом деления – их доля 19 % на 72 ч. В процессе роста бактерий количество гранул П(ЗГБ) на клетку снижается вдвое, что обусловлено слиянием гранул между собой.

Таким образом, невысокие концентрации хлорида натрия стимулируют накопление полимера при сохранении высоких урожаев биомассы бактерий.



## ОСОБЕННОСТИ ФИЗИОЛОГИИ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ ГРИБОВ

Семенова М.А.<sup>1</sup>

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

*marinaapbch@mail.ru*

Тема биolumинесценции грибов в последние годы стала активно исследоваться учеными. Однако исследования, направленные на изучение физиологических особенностей биolumинесцентных грибов и особенностей их культивирования, на данный момент проведены лишь для небольшого количества штаммов.

Целью данного исследования было произвести сравнительное изучение влияния условий культивирования на рост и люминесценцию четырех штаммов светящихся грибов, относящихся к разным эволюционным линиям (Desjardin et al., 2008) (Линия *Omphalotus: Neonothopanus nambi* LE-BIN 3297, *Omphalotus olearius* LE-BIN 2082; Линия *Mycenoid: Favolaschia manipularis* LE-BIN 3272, *Panellus luminescens* LE-BIN 3351).

Культивирование грибов проводили на агаризованных лабораторных средах. Интенсивность биolumинесценции поверхностной культуры измеряли с помощью люминометра RTF.

Были подобраны наиболее благоприятные условия культивирования для роста и развития воздушного мицелия: температура 25°C, pH 4, среда мальт-экстракт агар. Показано, что различные концентрации мальтакса в среде (2°Б, 2,7°Б, 3,3°Б, 4,7°Б) влияют на люминесценцию и почти не оказывают влияния на рост исследуемых штаммов. С повышением концентрации мальтакса интенсивность биolumинесценции увеличивалась для *N. nambi* и для *O. olearius*, однако для последнего наблюдалось снижение уровня свечения при концентрации мальтакса 4,7°Б. Это было характерно и для *P. luminescens*, но ближе к завершению цикла свечения, в начале же цикла концентрация мальтакса не оказывала воздействия на люминесценцию. Культуры одного штамма, растущие на разных концентрациях мальтакса, практически не отличались по макроморфологии. Изучена динамика свечения, с максимумом световой эмиссии на 8 сутки роста для *N. nambi*, на 5 (2°Б) либо 12 сутки роста для *O. olearius*. Установлена зависимость интенсивности биolumинесценции от времени в условиях свободного доступа молекулярного кислорода.

Полученные данные по особенностям физиологии исследуемых штаммов светящихся грибов могут быть использованы при создании биolumинесцентных биотестов на загрязненность окружающей среды (Weitz et al., 2001).

1. Desjardin D.E., Oliveira A.G., Stevani C.V. Fungi bioluminescence revisited // Photochem. Photobiol. Sci. – 2008. – 7. – P. 170-182.

2. Weitz H.J., Ballard A.L., Campbell C.D., Killham K. The effect of culture conditions on the mycelial growth and luminescence of naturally bioluminescent fungi // FEMS Microbiol. Lett. – 2001. – 202. – P. 165-170.



## ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ TOR-КИНАЗЫ В РЕГУЛЯЦИИ ГЕНОВ МЕТАБОЛИЗМА МЕТАНОЛА У ДРОЖЖЕЙ *PICHLA PASTORIS*

Сидорин А.В.<sup>1</sup>, Румянцев А.М.<sup>1</sup>, Самбук Е.В.<sup>1</sup>

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

*antonsidorin@list.ru*

При использовании дрожжей *Pichia pastoris* для синтеза рекомбинантных белков применяются сильные и строго регулируемые промоторы генов метаболизма метанола (*MUT*-генов), в частности гена алкогольоксидазы I (*AOX1*). Регуляция *MUT*-генов зависит от типа источника углерода в среде. Их индукция наблюдается в средах, содержащих метанол, а при наличии в среде глюкозы или глицерина, они репрессированы.

Ранее в нашей лаборатории было показано, что добавление пролина в среду также приводит к снижению активности промотора гена *AOX1*. Было показано, что ключевую роль в осуществлении подобной регуляции играет Tor-киназа.

Основным регулятором *MUT*-генов у дрожжей *P. pastoris* является транскрипционный фактор Mxr1, индуцирующий их активность на средах с метанолом. В свою очередь активность белка Mxr1 репрессируется при связывании с ним белка, относящегося к семейству 14-3-3. Гомологи белка 14-3-3 *P. pastoris* белки Bmh1/2 дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* участвуют в регуляции, осуществляемой Tor-киназным комплексом.

Целью данной работы является изучение механизмов передачи сигнала от Tor-киназы, которые обеспечивают координированную регуляцию *MUT*-генов.

В ходе работы была получена плаزمида *pAL2-T-MXR-S215A*, содержащая последовательность гена *MXR1* дрожжей *P. pastoris*, в которую была внесена замена, приводящая к нарушению сайта фосфорилирования в положении 215. Данная замена приводит к нарушению связывания регуляторного белка 14-3-3 с белком Mxr1. Плазмидой *pAL2-T-MXR-S215A* трансформировали штамм  $\Delta$ mxr1-4-GS115 дрожжей *P. pastoris*. В результате получили штамм MXR1S215A-4-GS115, несущий ген *MXR1* с соответствующей заменой. Данный штамм также содержит репортерный ген кислой фосфатазы *RHO5* под контролем промотора гена *AOX1*.

Штамм MXR1S215A-4-GS115 выращивали в средах с метанолом в качестве источника углерода и сульфатом аммония или пролином в качестве источников азота. Измеряли удельную активность репортерной кислой фосфатазы, которая пропорциональна активности промотора гена *AOX1*. Показано, что у штамма MXR1S215A-4-GS115 сохраняется репрессия промотора *AOX1* при наличии пролина в среде. Это свидетельствует о том, что замена S215A в белке Mxr1, нарушающая сайт связывания с белком 14-3-3, не влияет на репрессию гена *AOX1* пролином, осуществляемую при участии Tor-киназы.

В ходе проводимых нами исследований продолжается поиск белков у *P. pastoris*, предающих регуляторные сигналы от Tor-киназы к промоторам *MUT*-генов. Работа поддержана грантом РФФИ №18-34-00750.



## ПОИСК И ВЫДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИЙ АССОЦИАТИВНЫХ С *SALVIA SCLAREA* L.

**Смирнова И.И.<sup>1</sup>, Каменева И.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма,  
Симферополь, Россия

*irina\_smirnova86@bk.ru*

В современном земледелии отмечается всевозрастающий интерес к микробным препаратам, как экологичного и экономичного способа оптимизации минерального питания и защиты растений. В связи с этим ведется поиск активных штаммов микроорганизмов с агрономически полезными свойствами. Источником для выделения таких штаммов могут быть почва, ризосфера, а также различные части растений (корень, листья, семена).

Цель работы – поиск активных и эффективных штаммов бактерий, ассоциативных с растением *Salvia sclarea* L.

Крым обладает благоприятными почвенно-климатическими условиями для выращивания эфиромасличных культур, среди которых наиболее перспективной является *Salvia sclarea* L. (шалфей мускатный).

Для ускорения поиска эффективных штаммов и оценки степени ассоциативности применяли методологический подход к выделению и изучению бактерий, ассоциативных с корнем растений. В качестве субстрата использовали почву (чернозем южный) после двухлетнего выращивания культуры.

В эпифитном бактериальном сообществе свободных от субстрата корней *Salvia sclarea* L. преобладали блестящие колонии округлой формы, с ровными краями, отличающиеся пигментом и диаметром. Для дальнейших исследований были изолированы колонии бактерий сходные по морфологии, обилие которых составляло 38,9%, а частота встречаемости – 40%. Микроскопические методы исследований показали, что некоторые колонии образованы ассоциациями бактерий. Далее, путем последовательных пересевов были получены идентичные культуры бактерий, и получена коллекция штаммов бактерий ассоциативных с растениями *Salvia sclarea* L.

## ВЫЯВЛЕНИЕ РАЗНООБРАЗИЯ ФАГОВ ВАГИНАЛЬНЫХ ЛАКТОБАКТЕРИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГЕНОМНЫХ И МЕТАГЕНОМНЫХ ДАННЫХ

**Старикова Е.В.<sup>1</sup>, Кошечкин С.И.<sup>2</sup>, Демкин В.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины ФМБА России, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

*hed.robin@gmail.com*

Лактобактерии являются основным компонентом здоровой микрофлоры влагалища. Они формируют защитный барьер для организма хозяина от патогенных бактерий и микроскопических грибов. С отсутствием лактобактерий связывают такие гинекологические заболевания, как бактериальный вагиноз, этиология которого на данный момент остаётся неясной. Одной из возможных причин бактериального вагиноза является снижение численности лактобактерий за счёт активности бактериофагов. На данный момент описано лишь несколько бактериофагов вагинальных видов лактобацилл, таких как *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus jensenii* и *Lactobacillus crispatus*, при этом для



*Lactobacillus iners* бактериофаги не охарактеризованы. Целью работы было выявление потенциально активных умеренных бактериофагов вагинальных видов лактобацилл на основании геномных и метагеномных данных.

Нами были идентифицированы 60 полных последовательностей профагов в 130 геномных сборках 4 видов вагинальных лактобацилл. Профаги были кластеризованы на основании сходства последовательностей, вследствие чего был получен избыточный список из 53 профагов. Большинство идентифицированных бактериофагов имели сходство в геномной структуре и схожее расположение структурных генов. Для выявления потенциально активных фагов был произведен анализ представленности выявленных последовательностей в 89 WGS метагеномах влагалища. Для оценки потенциальной активности фага учитывалось как среднее покрытие последовательности профага в сравнении со средним покрытием последовательности штамма-хозяина, так и покрытие по первой букве прочтения – данный способ позволяет также более точно идентифицировать границы профага. В результате данной работы нами был выявлен ряд профагов *Lactobacillus crispatus*, предположительно способных к активной фаговой инфекции. Полученные данные могут быть использованы при дальнейшем исследовании этиологии бактериального вагиноза.

Работа была выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 19-015-00385).

## КОНСТРУИРОВАНИЕ ШТАММА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВЕКТОРНОЙ ВАКЦИНЫ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ РИНОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Степанова Е.А.<sup>1</sup>, Меженская Д.А.<sup>1</sup>, Матюшенко В.А.<sup>1</sup>, Котомина Т.С.<sup>1</sup>, Евсина А.С.<sup>1</sup>, Исакова-Сивак И.Н.<sup>1</sup>, Руденко Л.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

*fedorova.iem@gmail.com*

Риновирусы – одна из самых распространенных причин ОРВИ у всех групп населения. С отдельными серотипами риновирусов связаны осложнения астматического характера. Многократные попытки создания вакцины против риновирусной инфекции потерпели неудачу из-за крайне высокого разнообразия серотипов риновирусов. Наиболее перспективным путем разработки вакцины для профилактики риновирусной инфекции считается направленная стимуляция клеточного звена иммунного ответа с помощью векторной доставки консервативных эпитопов белков вируса в клетки.

В качестве вектора использовался холодоадаптированный вирус гриппа – штамм живой гриппозной вакцины (ЖГВ) подтипа H7N9. В основу кассеты для встройки в векторную вакцину легла последовательность фрагмента 99-226 белка VP1 штамма риновируса 1А. VP1 имеет наибольшее количество участков, представленных на поверхности вирусной частицы, в связи с чем является одной из основных мишеней иммунного ответа. Штамм риновируса 1А относится к малой рецепторной подгруппе, в использующей рецептор липопротеина низкой плотности, что позволяет работать с данным штаммом на стандартной модели (мышь).

Выбранный для встройки в кассету фрагмент содержит исследованные на мышинной модели участки, обладающие способностью индуцировать развитие кросс-реактивного иммунного ответа. Также в данном фрагменте расположены иммунодоминантные эпитопы А1 и С3, обнаруженные Gaido и др. (2016), и иммуногенный участок, описанный Muehling и др. (2016) на модели риновируса А16. Анализ наличия теоретически предсказанных ЦТЛ-эпитопов для мышей линий СВА и BALB/с в выбранном участке



последовательности выявил ряд эпитопов, расположенных в консервативных участках последовательности.

С использованием методики обратной генетики вируса гриппа были получены экспериментальные штаммы ЖГВ подтипа H7N9, содержащие химерные генетические сегменты 6 и 8. Фрагмент риновирусного белка встроен в нейраминидазу либо неструктурный белок через сайт саморасщепления. Встройка генетического материала риновируса не оказала влияния на способность штамма к репликации в развивающихся куриных эмбрионах и культуре клеток MDCK. Фенотипические свойства вакцинного штамма (холодоадаптированность, температурочувствительность) также сохранились.

Таким образом, полученные экспериментальные штаммы векторной вакцины, позволяющие осуществить доставку в клетки фрагментов белка VP1 риновируса, сохранили свойства после встройки чужеродного генетического материала.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 17-75-20054.

## ОЦЕНКА АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ НЕКОТОРЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ГНОЙНО-СЕПТИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ В ОТДЕЛЕНИЯХ НИИ-ККБ №1 Г. КРАСНОДАРА

Сустова Я.А.<sup>1</sup>, Худокормов А.А.<sup>1</sup>, Вяткина Г.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

*ysustova@mail.ru*

Осложнения гнойно-септических инфекций (ГСИ) влекут риск возникновения обширных гнойных процессов, которые приводят к развитию сепсиса, септического шока и полиорганной недостаточности. Антибиотикотерапия становится менее эффективной в связи с увеличением уровня резистентности основных возбудителей ГСИ ко многим препаратам. Эта проблема затрагивает не только аспекты медицинской деятельности, но и социально-экономическую сферу: требуется применение резервных лекарственных средств, использование сразу нескольких видов антибиотиков. Всё это приводит к увеличению продолжительности лечения и нахождения больного в стационаре, что, в свою очередь, базируется на дополнительных материальных затратах. Также немаловажно, что миграция устойчивых генов несет угрозу возникновения эпидемий.

Цель работы заключалась в выявлении спектра резистентности возбудителей ГСИ к бета-лактамам, аминогликозидам, фторхинолонам, гликопептидам и линкозамидам в хирургическом, ожоговом и травматологическом отделениях НИИ-ККБ №1 г. Краснодара. Было проанализировано 396 проб патологического материала: раневое отделяемое, гной, содержимое брюшной полости, пунктат. Чувствительность определяли диско-диффузионным методом, системой E-тестов и анализаторами VITEK и MicroScan. Ведущую микрофлору составили *E. coli* (14%), *K. pneumonia* (13%), *A. baumannii* (12%), *S. aureus* (12%) и *E. faecalis* (9%).

Наименьшая устойчивость у кишечной палочки и клебсиеллы была к карбапенемам и аминогликозидам (до 20%), средняя и высокая – к пенициллинам, цефалоспорином и фторхинолонам (от 40% до 100%). Общий уровень антибиотикорезистентности оказался довольно высоким у ацинетобактера: от 87% до 100% ко всем группам антибиотиков, кроме одного аминогликозида (тобрамицина) – 38%.

Золотистый стафилококк в целом проявил минимальную устойчивость ко всем испытываемым группам (аминогликозиды, фторхинолоны, гликопептиды, линкозамиды): от 0% до 7%. Резистентность энтерококка варьировала в пределах 50-60%, однако





исключением стали гликопептид (ванкомицин) и пенициллин (ампициллин): ни одного устойчивого штамма.

Таким образом, грамотрицательная микрофлора и в частности *A. baumannii* нуждаются в постоянном мониторинге и разработке новых групп препаратов для успешного подавления патогенов. Из грамположительной микрофлоры *E. faecalis* представляет проблему в лечении ГСИ, а потому необходим подбор других антибиотиков и их последующее комбинирование.

## СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОТИВОМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ РАСТИТЕЛЬНЫХ И АНТИБИОТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ

Сухенко Л.Т.<sup>1</sup>, Бобков Г.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Астраханский государственный университет, Астрахань, Россия

*gleb321321@bk.ru*

В настоящее время актуальна проблема возникновения резистентности многих микроорганизмов-возбудителей к антибиотическим средствам. Известно, что химические антибиотики не всегда благоприятно влияют на организм, поэтому поиск натуральных противомикробных препаратов может помочь справиться с инфекцией и улучшить состояние организма в целом. Поэтому это направление в настоящее время является перспективным. Так, некоторые авторы (Воробьева А.О., Садирова Д.С. с соавт. и другие) описали случаи возникновения резистентности возбудителя туберкулеза к антибиотикам у больных. Исследования С. А. Вичкановой привели к выявлению растений, перспективных для создания эффективных лечебных препаратов, таких как Сангвиритрин, обладающий широким спектром антимикробной активности.

В качестве материала для исследований в данной работе были отобраны экстракты, выделенные из растений Астраханской области: Астрагал прутьевидный (*Astragalus virgeus*), Солодка гладкая (*Glycyrrhizum glabra*), Тополь черный (*Pópulus nigra*), Цмин песчаный (*Helichrýsum arenarium*) с известными антимикробными свойствами. Кроме того, для сравнительного антистафилококкового действия были выбраны следующие антибиотики: ципрофлоксацин, гентамицин, имипенем, левомецетин. Исследования проведены в отношении выделенного штамма Стафилококк сапрофитный (*Staphylococcus saprophyticus*) из воды резервуара, где содержались мальки осетровых рыб. Результаты оценены по диаметру зоны задержки роста (ДЗЗР) стафилококка.

По результатам проведенных исследований можно отметить, что действие антибиотиков наибольшее только в течение первых 2-х дней наблюдения. В последующие дни было замечено, что у выделенного нами микроорганизма выработалась резистентность к антибиотикам. В отличие от антибиотических дисков, лучше себя проявили экстракты, выделенные из растений. Их действие не только сохранялось в течение нескольких дней, но и в нескольких случаях увеличивалось, что было замечено на действии экстракта на основе корня солодки, где на третий день ДЗЗР увеличилось вдвое.



## ИНТЕНСИВНОСТЬ РОСТА RHODOCOCCLUS ERYTROPOLIS B2 ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА СРЕДЕ С ТРИПТОФАНОМ И ПРОЛИНОМ

Тавадьян Д.Э.<sup>1</sup>, Соседова К.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

*sosedovakseniya@mail.ru*

Бактерии рода *Rhodococcus* играют важную роль в процессах почвообразования, в обогащении биоценозов. На сегодняшний день необходимо использовать методы стимуляции роста через состав питательной среды. Аминокислоты являются одними из легко ассимилируемых источников питания для данных микроорганизмов, поэтому они могут являться одними из компонентов среды при культивировании *R. erythropolis* B2.

Целью нашей работы было изучение влияния двух аминокислот и углевода в составе среды на рост родококка, оцениваемый через изменение оптической плотности и концентрации биомассы в жидких культурах. В качестве объекта исследования был выбран штамм *Rhodococcus erythropolis* B2 из коллекции кафедры генетики, микробиологии и биотехнологии КубГУ. Для культивирования микроорганизмов использовалась стандартная жидкая минеральная среда с добавленными аминокислотами (пролин, триптофан) и углеводом (сахароза). Триптофан является предшественником фитогормона ауксина, а пролин имеет схожее химическое строение.

Стартовая оптическая плотность бактериальной суспензии во всех вариантах опыта находилась в диапазоне 0,021 – 0,029, что соответствовало 0,15 г/л биомассы клеток. В варианте опыта с пролином на 6-е (конечные) сутки культивирования ОП<sub>670</sub> достигала 0,271, что соответствовало 1,98 г/л сухой биомассы клеток. Необходимо отметить, что на протяжении всего времени культивирования происходило увеличение оптической плотности культуры, что связано с ростом численности бактерий в среде и не зафиксирован выход на стационарную фазу к 6 суткам, вероятно, из-за недостаточного количества углерода, оставшегося в среде, используемого микроорганизмами для питания и роста. В варианте опыта с внесением триптофана, стартовая оптическая плотность бактериальной суспензии составила 0,023 усл. ед., на последние сутки исследований – 0,183, при этом выход на стационарную фазу также не наблюдался.

Таким образом меньшим ростостимулирующим эффектом обладал триптофан – вероятно, что он расходуется клетками и как предшественник для синтеза ауксина. При наличии сахарозы в среде роста оптическая плотность жидкой культуры возрастала с 0,029 до 0,069 усл. ед. Наблюдаемая активизация роста бактерий может быть связана с ассимиляцией углевода как дополнительного источника питания.

В результате мы можем сделать вывод о том сахароза в составе минеральной среды эффективна как источник углерода. При сопоставлении влияния пролина и триптофана, наибольший ростостимулирующий эффект наблюдается в среде с пролином. Полученные сведения могут быть использованы при наработке биомассы исследуемого микроорганизма.



## ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ Cu, Co И ZnO НА РОСТ МИКРОМИЦЕТОВ

Тимуш И.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт микробиологии и биотехнологии, Кишинев, Республика Молдова

*timus\_ion@mail.ru*

Наночастицы, благодаря небольшим размерам, эквивалентным ультрадисперсным частицам, и их физическим, химическим, магнитным, оптическим и биологическим свойствам, в настоящее время находят широкое применение в медицине, биологии и технологии. С использованием наноматериалов и нанотехнологий открылись новые возможности биотехнологии, и, прежде всего, в геномной инженерии. Публикации последних лет демонстрируют влияние наночастиц на жизнеспособность, развитие и процессы биосинтеза микроорганизмов.

Цель исследования - изучение влияния наночастиц Cu, Co и ZnO на рост микромицетов.

Объект исследования - 20 штаммов микромицетов, принадлежащих к родам: *Aspergillus* (5), *Trichoderma* (5) и *Penicillium* (10) из Национальной Коллекции Непатогенных Микроорганизмов (НКНМ). Наночастицы (НЧ) Cu, Co и ZnO со следующими размерами: НЧ Cu - 2-3 нм, НЧ Co-15-20 нм, НЧ ZnO - 20-30 нм были внесены в питательную среду в концентрации (%): Cu и ZnO - 0,001; Co - 0,0001 при глубинном культивировании на агаризованной среде Чапека.

Полученные результаты после культивирования изучаемых штаммов на агаризованной среде Чапека, доказывают, что данные НЧ не влияют существенно на изменение морфо-культуральных признаков. В присутствии НЧ Cu почти у всех штаммов наблюдалось незначительное увеличение размеров колоний, а в вариантах с НЧ Co у 2 штаммов рода *Aspergillus* - уменьшение, по сравнению с контролем. В присутствии НЧ ZnO в среде культивирования, почти у всех исследуемых штаммов наблюдалось изменение цвета колоний. При глубинном культивировании стимуляция роста была достигнута в присутствии НЧ Cu и ZnO. Так, у штаммов рода *Aspergillus* накопленная биомасса значительно превышала контрольный вариант (на 15-36%), а в присутствии НЧ Co наблюдалось значительное её снижение: накопленная биомасса составляла 41-93% по сравнению с контролем. У штаммов рода *Trichoderma* в вариантах с НЧ Cu и НЧ ZnO накопление биомассы было в пределах  $\pm 10\%$  по сравнению с контролем, а в вариантах с НЧ Co этот показатель составлял 50-87% от контроля. Такая же картина наблюдалась у штаммов рода *Penicillium*: в вариантах с НЧ Cu и НЧ ZnO накопление биомассы было в пределах  $\pm 10\%$  по сравнению с контролем, а в вариантах с НЧ Co происходило снижение биомассы (30 - 77,8%).

Таким образом, исходя из полученных результатов исследований, можно сделать вывод, что НЧ Cu, Co и ZnO влияют незначительно на рост и морфокультуральные свойства исследуемых микромицетов.



## ИММУНОГЕННАЯ И ПРОТЕКТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ТРАНСАЛЬДОЛАЗЫ В *YERSINIA PESTIS*

**Трунякова А.С.<sup>1,2</sup>, Мазурина Е.М.<sup>3</sup>, Светоч Т.Э.<sup>1</sup>, Копылов П.Х.<sup>1</sup>, Шайхутдинова Р.З.<sup>1</sup>, Иванов С.А.<sup>1</sup>, Дентовская С.В.<sup>1</sup>, Анисимов А.П.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, Оболенск, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО Ивановский государственный университет, Иваново, Россия

*Sasha\_trunyakova@mail.ru*

Ранее было показано, что иммунодоминантным белком фракции V (FV) *Yersinia pestis* является трансальдолаза В (TalB). Трансальдолазы - ключевые ферменты неокислительной ветви пентозофосфатного цикла, имеющие консервативную структуру и присутствующие почти во всех живых организмах. Высказано предположение, что данный белок локализован в цитоплазме бактериальной клетки, однако пути секреции его на клеточную поверхность остаются неизвестными.

Для изучения свойств TalB ген, кодирующий белок (accession no. GenBank: YPO0463, 954 п.о.), клонировали в составе экспрессирующего вектора pET32b(+) (Novagen) в клетках *Escherichia coli* BL21(DE3). Наиболее эффективный продуцент культивировали в лабораторном ферментере New Brunswick объемом 2 л при температуре 37 °С в жидкой аэрируемой среде LB. Клетки осаждали центрифугированием, лизировали ультразвуком и надосадочную часть пропускали через колонку, упакованную 25 мл TOYOPEARL Ni<sup>++</sup>AF-Chelate-650M с последующей элюцией целевого белка буферными растворами, содержащими имидазол. Выделенный препарат TalB с концентрацией белка 1 мг/мл и чистотой около 96 % был пригоден для включения в состав иммунизирующей смеси. Антигенные и протективные свойства белка изучали на модели беспородных мышей.

Установлено, что реципрокная величина средних значений титров антител против TalB в крови мышей на 30 день после повторного подкожного введения белка составляла (51400 ± 16900). Несмотря на относительно высокие значения титра специфических антител в ответ на иммунизацию, подкожное заражение вирулентным «бескапсульным» штаммом *Y. pestis* 358/12 в дозах 10 КОЕ и выше приводило к гибели вакцинированных животных. Защитное действие TalB проявилось лишь в отношении мышей, инфицированных единичными микробными клетками штамма *Y. pestis* 358/12. В настоящее время проводятся исследования по изучению локализации трансальдолазы В в клетках *Y. pestis*.

Работа выполнена в рамках отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора на 2016-2020 гг.



## ВЛИЯНИЕ ПОЛИФЕНОЛОВ НА ПРОДУКЦИЮ СУЛЬФИДА ВОДОРОДА АЭРОБНО РАСТУЩИМИ КУЛЬТУРАМИ *ESCHERICHIA COLI*

Тюленев А.В.<sup>1</sup>, Самойлова З.Ю.<sup>1</sup>, Смирнова Г.В.<sup>1</sup>, Октябрьский О.Н.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>ФГБУН ПФИЦ УрО РАН, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО  
РАН, Пермь, Россия

*Leksey333@yandex.ru*

В настоящее время большое внимание уделяется исследованию действия полифенолов на клетки животных и бактерий. Бактерии *E. coli* входят в состав нормальной микрофлоры кишечника человека и могут подвергаться прямому контакту с полифенолами, входящих в состав экстрактов лекарственных растений и БАД. Во многих случаях обнаружена высокая антиоксидантная активность этих соединений. Так же показано, что в определенных условиях полифенолы могут участвовать в генерации АФК и действовать как прооксиданты. Известно, что у бактерий, низкомолекулярные тиоловые соединения (глутатион, цистеин и сульфид водорода  $H_2S$ ) могут участвовать в защите клеток при окислительном стрессе. В последних работах все большее внимание уделяется роли сульфида в адапционных механизмах при действии антибиотиков и АФК, в то же время, влияние полифенолов на продукцию сульфида бактериями остается малоизученным.

Объект исследования: бактерии *E. coli* BW25113 (*wild type*). Бактерии выращивали на среде М9 с глюкозой при 37°C в колбах на орбитальном шейкере (150 об/мин). Полифенолы – ресвератрол (100 мкг/мл), кверцетин (40 мкг/мл), катехин (100 мкг/мл) и галловую кислоту (50 мкг/мл) вносили в культуру в середине логарифмической фазы роста ( $OP_{600}=0,4$ ). Количество сульфида водорода ( $pS^{2-}$ ) в бактериальной культуре определяли с помощью ионоселективного сульфид-специфического электрода цифровым ионометром срХ-2 в режиме реального времени.

В бесклеточной среде *in vitro* добавление исследуемых полифенолов не оказывало влияния на базовые значения  $pS^{2-}$ , в то время как внесение этих соединений в культуру аэробно растущих бактерий *E. coli* приводило к постепенному снижению потенциала сульфид-специфического сенсора в область отрицательных значений, что указывает на накопление сульфида в среде культивирования. Дозы в 100 мкг/мл ресвератрола, катехина и 50 мкг/мл галловой кислоты стимулировали продукцию  $H_2S$  до 300 нМ, а 40 мкг/мл кверцетина – до 25 нМ. Стоит так же отметить, что все исследуемые полифенолы вызывали обратимое непродолжительное снижение удельной скорости роста бактерий.

Таким образом, полифенолы способны вызывать аккумуляцию сульфида аэробно растущими клетками *E. coli*, что в совокупности может указывать на более сложный характер модулирования адапционных механизмов при действии этих соединений.

Исследования выполнены в соответствии с государственным заданием №01201353246 и поддержаны грантом Программы УрО РАН № госрегистрации АААА-А18-118.041.890.005-1 и грантом президента РФ МК-3376.2018.4.



## ВЛИЯНИЕ ПЛЕНОЧНЫХ ПОКРЫТИЙ, СОЗДАННЫХ НА ОСНОВЕ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ, НА МИКРОФЛОРУ ОЖОГОВ У КРЫС

Урядова Г.Т.<sup>1</sup>, Фокина Н.А.<sup>1</sup>, Карпунина Л.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова, Саратов, Россия

*eni\_galina@mail.ru*

Целью работы явилось изучение влияния пленочных покрытий, созданных на основе экзополисахаридов (ЭПС), молочнокислых бактерий *Lactococcus lactis* В-1662 и *Streptococcus thermophilus*, обладающих антимикробными свойствами, на микрофлору в процессе заживления ожогов IIIа степени у самок крыс.

Для проведения эксперимента крысы были поделены на 5 групп: 1 группа – интактная (без ожога), 2 - с ожогом, 3, 4, 5 - ожог с последующим нанесением коммерческого препарата 5% декспантенола ("Пантодерм", АО "Акрихин", Россия), пленочных покрытий на основе ЭПС *L.lactis* В-1662 и *S.thermophilus* соответственно. Для установления влияния исследуемых пленочных покрытий на состав микрофлоры ожоговой поверхности у крыс всех групп были взяты смывы на 1, 3, 5, 7, 10, 14, 21 и 28 сутки эксперимента.

Было замечено, что пленочные покрытия в разной степени способствовали заживлению ожогов, но в более ранние сроки по сравнению с животными 2 и 3 групп, начиная с 3 суток. При исследовании смывов с поверхности ожоговых ран значительного изменения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) на протяжении всего эксперимента у животных большинства групп не происходило. За исключением животных 5 группы, у которых на 21 сутки КМАФАнМ было в 1,25 раза меньше по сравнению со 2 группой. Небольшое увеличение КМАФАнМ наблюдали во 2, 3, 4 и 5 группах животных с 3 по 21 сутки, возможно это объясняется разгаром инфекционного процесса. На 21 сутки происходило снижение количества микроорганизмов в 4 и 5 группах, по сравнению с остальными группами, а на 28 сутки число микроорганизмов было сопоставимо с группой 1. Кроме того, у крыс 4 и 5 групп было отмечено снижение числа бактерий группы кишечной палочки и стафилококков по сравнению с 1, 2 и 3 группами. В процессе исследований ни в одной из групп нагноения не наблюдали.

Таким образом, пленочные покрытия, созданные на основе ЭПС *L.lactis* В-1662 и *S.thermophilus* оказывают положительное влияние на заживление ожоговых ран, что может найти дальнейшее применение в экспериментальной медицине, ветеринарии. Наилучший эффект в подавлении условно-патогенной микрофлоры проявило пленочное покрытие на основе ЭПС *S.thermophilus*.



## СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ПЦР-ДИАГНОСТИКИ ЗАРАЗНОГО УЗЕЛКОВОГО ДЕРМАТИТА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Усадов Т.Р.<sup>1</sup>, Кольцов А.Ю.<sup>1</sup>, Сухер М.М.<sup>1</sup>, Моргунов Ю.П.<sup>1</sup>, Сальников Н.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии, Покров, Россия

*usadov.tr@mail.ru*

Сложности в молекулярной диагностике заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота (ЗУД) обусловлены высокой степенью идентичности нуклеотидных последовательностей геномов каприпоксвирусов. В связи с этим, существующие в настоящий момент протоколы ПЦР позволяют либо отвечать на вопрос, содержатся ли в образце фрагменты геномов каприпоксвирусов, либо позволяют идентифицировать геном вируса ЗУД только после рестрикционного анализа ампликонов или плавления с высоким разрешением.

В своих исследованиях мы поставили перед собой задачу разработать технически простую ПЦР тест-систему для выявления генома вируса ЗУД.

На основе анализа полноразмерных нуклеотидных последовательностей геномов каприпоксвирусов, доступных в базе GenBank, в качестве целевого гена для амплификации был выбран ген LSDV 129. При помощи программы Oligo 6.0 были рассчитаны последовательности праймеров и флуоресцентно-меченого зонда Taq-man для амплификации и специфической детекции фрагмента данного гена размером 113 п.о. Условия постановки ПЦР были оптимизированы с использованием образцов ДНК, выделенных из культурального материала, содержащего штамм «Neethling» вируса ЗУД.

Для определения аналитической чувствительности тест-системы были исследованы последовательные десятикратные разведения культурального материала, содержащего вирус ЗУД (изолят из Республики Северная Осетия-Алания, 2015г.) с исходной активностью  $6,0 \pm 0,15 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ . Наивысшее разведение, для которого получен положительный результат, составило  $10^{-5}$ , что соответствует титру вируса  $1,0 \pm 0,15 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ . Внутритестовая повторяемость полученных результатов, выраженная в средних стандартных отклонениях, находится в диапазоне от 0,04 до 0,37.

Аналитическая специфичность тест-системы оценивали при исследовании штаммов и изолятов вирусов ЗУД, оспы овец, оспы коз и контагиозной эктимы овец, депонированных в ГКМ ФИЦВиМ, а также образцов крови от клинически здоровых коров и интактных культур клеток. Положительные результаты получены только при исследовании образцов, содержащих вирус ЗУД, что свидетельствует о специфичности разработанной тест-системы.

Для создания положительного контроля к тест-системе, синтезируемый в ходе ПЦР фрагмент гена LSDV129, клонировали в составе плазмидного вектора pGEM-T Easy. Подобранная при исследовании последовательных десятикратных разведений оптимальная концентрация плазмидной ДНК составила  $3,0 \times 10^3 - 3,0 \times 10^2$  молекул ДНК/мкл.

Таким образом, разработанная тест-система для выявления генома вируса ЗУД методом ПЦР в режиме реального времени обладает высокой специфичностью и чувствительностью.



## ВЫДЕЛЕНИЕ БАЦИЛЛЯРНЫХ БАКТЕРИОФАГОВ И ИХ СЕЛЕКЦИЯ

Феоктистова Н.А.<sup>1</sup>, Васильев Д.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия имени П.А. Столыпина, Ульяновск, Россия

*feokna@yandex.ru*

Цель исследований - выделение и селекция бактериофагов *Bacillus cereus*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus anthracis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*. В исследованиях были использованы три метода: поиск профага в коллекции полевых штаммов без применения индуцирующего фактора, метод индукции профага в клетке с помощью митомицина С и УФО, выделение из объектов внешней среды. В исследованиях нами не было зафиксировано естественной и искусственной лизогенности выделенных нами ранее бактериальных штаммов. На наличие бактериофагов было исследовано 509 проб почвы, в 109 образцах были зафиксированы зоны лизиса при нанесении на газон выделенных нами культур *Bacillus cereus*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus anthracis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*. Выделение бактериофагов осуществляли методом прямого отбора с зон лизиса на газоне индикаторной культуры. Способ очистки бактериофага выбирался из трех вариантов – температурная обработка, взаимодействие с трихлорметаном и фильтрация. Деструктивные изменения бациллярных бактериофагов были зафиксированы при 25-35 минутном взаимодействии с трихлорметаном в соотношении 10:1. Воздействие температуры в диапазоне 64-78 °С в течение 30 минут снижает литическую активность изучаемых бактериофагов на 4-6 порядков. Установлено, что максимально эффективный метод очистки - это многоступенчатая мембранная фильтрация: применение ОС-3 (d пор = 0,8 мкм), затем МФАС-ОС-2 (d пор = 0,45 мкм), осветляющая микрофильтрация с фильтрующей насадкой фирмы «Millipore Millex-GP» на мембранах «Владипор» марки МФАС (d пор = 0,22 мкм). Очищенные бактериофаги хранились при температуре 2-4 °С. Схема селекции бактериофагов: зоны лизиса отбирали бактериологической петлей и вносили в пробирку с 4,5 мл стерильного МПБ, туда же вносили определенный объем 16-18 часовой индикаторной культуры. Время культивирования подбирали визуально в диапазоне от 4 до 7 часов с интервалом 15-30 минут при температурном оптимуме (36±1) °С. Эмпирически установлено, что 6,5-8,0 часовое культивирование посевов достаточно для пассирования выделенных фагов на вышеназванных культурах, используемых нами в качестве индикаторных. Соотношение индикаторной культуры и бактериофага колебалось в диапазоне от 1:1 до 1:10. В результате исследований на этом этапе нами выделены из объектов ветеринарно-санитарного надзора и селекционированы специфичные к бактериям *Bacillus cereus* 57 изолятов бактериофагов, 8 – к *Bacillus mycoides*, 1 – к *Bacillus anthracis*, 22 – к *Bacillus subtilis*, 22 – к *Bacillus pumilus*.





## ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ КЛАСТЕРА ГЕНОВ ДЕСТРУКЦИИ НАФТАЛИНА ШТАММА PSEUDOMONAS PUTIDA BS3701

Фролова А.А.<sup>1</sup>, Нагорных М.О.<sup>1</sup>, Пунтус И.Ф.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ ПНЦБИ РАН, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.  
Скрябина РАН, Пушкино, Россия

*zemskovam@mail.ru*

В литературе подробно описана структурная организация генов деструкции нафталина штамма *P.putida* G7 (pNAH7), которую часто называют "архетипичной" или "классической". Система деструкции организована в два оперона, один из которых участвует в конверсии нафталина в салицилат (*nah1*-оперон), а второй (*nah2*-оперон) вовлечен в трансформацию салицилата в катехол и дальнейшее его расщепление (при участии катехол 2,3 диоксигеназы) до пирувата и ацетальдегида. Экспрессия описанных выше двух оперонов находится под контролем транскрипционного регулятора NahR и индуцируется в присутствии салицилата.

Последующие сиквенсы штаммов - деструкторов и катаболических плазмид, обнаруживаемых в них, показали, что структурная организация генов деструкции нафталина не ограничивается "классической" схемой. Часто гены конверсии нафталина в салицилат располагаются единым опероном и локализованы на плазмиде. Гены, вовлеченные в трансформацию салицилата в катехол, могут не иметь общей регуляторной области с генами дальнейшей трансформации катехола, и присутствовать в нескольких копиях, которые можно назвать гомологичными (так, например, гены *nahG* и *nahU* штамма *P.putida* ND6, идентичны на 70%). Возможно одновременное присутствие генов, отвечающих за деструкция катехола и по орто- и по мета-пути расщепления.

Гены деструкции нафталина штамма *Pseudomonas putida* BS3701 не похожи на "классическую" схему организации. *nah1*-оперон имеет плазмидную локализацию. Там же, на плазмиде, расположен ген *nahG*, кодирующий "классическую" салицилатгидроксилазу. Следом за *nahG* располагается кластер генов, кодирующий мета-путь расщепления катехола. Несмотря на близкое расположение, *nahG* и гена, кодирующего катехол-2,3-диоксигеназу, их транскрибируются они независимо друг от друга. Данные, полученные методом RT-qPCR с использованием специфических праймеров, показывают, что экспрессия кластера мета-пути расщепления катехола практически не зависит от присутствия салицилата в ростовой среде, в то время как уровень мРНК *nahG* в присутствии салицилата ~ в 3 раза снижается.

На хромосоме обнаружен гомолог *nahG* - ген *nahU*. Следом за *nahU* располагается кластер генов, кодирующий орто-путь расщепления катехола. Однако транскрибируются они, по-видимому, также независимо друг от друга. Данные, полученные методом RT-qPCR, показывают, что в присутствии салицилата уровень мРНК *nahU* увеличивается в 25 раз, в то время как уровень мРНК кластера генов орто-пути расщепления катехола, в 10 раз. Помимо этого на хромосоме присутствуют еще 2 копии гена катехол 1,2 диоксигеназы. Один из которых существует в составе оперона и находится под контролем дивергентно транскрибируемого регулятора CatR1, в то время как второй расположен обособленно и окружен лишь генами, вовлеченными в транспорт бензола.

В штамме BS3701 обнаружен фермент, которые вероятно является салицилатгидроксилазой, причем негомологичной охарактеризованным в литературе. Степень идентичности составляет 30% при сравнении с NahG и NahU, однако данный фермент на 99% гомологичен продукту одного из генов в штамме *Pseudomonas putida* DOT-T1E. Способен ли данный фермент конвертировать салицилата планируется определить, создав штамм продуцент *E.coli* BL21(DE3)pET29.SH-DOTlike.



Регуляторный ген *nahR* имеет хромосомную локализацию и, что не похоже на ранее описанные схемы организации, вероятно составляет единый оперон с регуляторным геном *catR2*. С помощью биоинформатических инструментов не обнаружено промоторов в области между кодирующими последовательностями указанных генов.

Учитывая, что в регуляцию активности генов деструкции возможен вклад не только специфических транскрипционных регуляторов, но и регуляторов глобальных процессов, подобная независимая транскрипция элементов одной регуляторной цепи могла бы позволить клетке существовать в более широком диапазоне внешних факторов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-29-05071.

## РОЛЬ С-КОНЦЕВОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ МАЛОЙ СУБЪЕДИНИЦЫ HYDSL-ГИДРОГЕНАЗЫ THIOCAPSA ROSEOPERSICINA

**Хасимов М.Х.<sup>1</sup>, Хуснутдинова А.Н.<sup>1</sup>, Петушкова Е.П.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФИЦ ПНЦБИ РАН, Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино,  
Россия

*hasimov94@mail.ru*

HydSL-гидрогеназа пурпурной серной бактерии *T. roseopersicina* BBS отличается от других гидрогеназ способностью участвовать наряду с другими переносчиками электронов в восстановлении элементарной серы до сероводорода с поглощением водорода. Фермент относится к мембран-ассоциированным белкам. Механизм связывания фермента с клеточной мембраной не изучен, но известно, что в нем задействованы цитохромподобные белки Isp-1 и Isp-2. Предполагается, что с ними взаимодействует С-концевой фрагмент (48-56 а.к.) малой субъединицы гидрогеназы, подвижный относительно основной глобулы. Для проверки предположения проведено сравнительное изучение исходного штамма *T. roseopersicina* BBS и мутантных штаммов с модифицированной HydSL-гидрогеназой: BBS  $\Delta$ 54-6His (с делецией 54 аминокислот на С-конце малой субъединицы и шестью гистидинами вместо них) и BBS-6His (с 6 гистидинами на С-конце малой субъединицы). Показано, что генетические модификации не оказали влияния на скорость роста культур исследуемых штаммов бактерии, а выделенные мутантные гидрогеназы имеют практически те же характеристики, что и природный фермент, за исключением термостабильности (в случае HydSL $\Delta$ 54-6His-гидрогеназы). Подобраны условия для корректного измерения активности восстановления серы до сульфида в присутствии водорода в исследуемых культурах, росших на среде без добавления сульфида с удвоенным содержанием тиосульфата. В поздней стационарной фазе роста активность у штамма BBS-6His оказалась сопоставима с таковой у родительского штамма, а у штамма BBS  $\Delta$ 54-6His - в два раза меньше, что может быть связано с ослаблением степени связывания модифицированной HydSL $\Delta$ 54-6His-гидрогеназы с мембраной. Обсуждаются различия в локализации модифицированных ферментов в растворимой и мембранной фракциях разрушенных клеток, а также уровень синтеза природного и модифицированных ферментов в клетках фотогетеротрофных культур. Работа была выполнена под руководством д.б.н. Цыганкова А.А.



## ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОБИОТЫ КУМЫСА БАЙМАКСКОГО РАЙОНА РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН

**Цибульников С.В.<sup>1</sup>, Шестаков А.И.<sup>1</sup>, Шестакова О.О.<sup>1</sup>**

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

*ser-tsibulnikov@yandex.ru*

Молочнокислые бактерии (МКБ) играют центральную роль в процессе ферментации и имеют долгую и безопасную историю применения в производстве кисломолочных продуктов и напитков. Способность молочнокислых бактерий метаболизировать лактозу и оказывать антагонистическое действие в отношении вредных микроорганизмов делает их подходящими для домашнего и промышленного производства кисломолочной продукции. Благодаря способности подавлять рост патогенных микроорганизмов, МКБ используют в качестве пробиотиков. Помимо молочной кислоты эти микроорганизмы также синтезируют бактериостатические соединения. Было показано, что МКБ могут противодействовать росту и распространению *E. coli*, производя соответствующие метаболиты. Также благодаря ферментации при использовании определённых штаммов можно избежать непереносимости лактозы и галактозы.

Кумыс — это кисломолочный продукт, производимый из кобыльего молока. Первое его упоминание датируется 7 веком, а в 19 веке в России началось организованное кумысолечение, которое применялось как для профилактики, так и с целью излечения болезней, например, туберкулёза. Микрофлора кумыса обычно представлена следующими микроорганизмами: Лактобациллы (*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *L. acidophilus*), молочные дрожжи (*Saccharomyces* spp., *K. marxianus* var. *marxianus*), *Saccharomyces cartilagenosus*.

Целью работы было исследование микробного состава кумыса из Баймакского района республики Башкортостан микробиологическими и молекулярными методами. В ходе нашей работы было отобрано и проанализировано 13 образцов кумыса. Далее был проведен метагеномный анализ 4 образцов – наиболее распространенными оказались бактерии из родов *Lactobacillus*, *Lactococcus* и *Streptococcus*, что сходится с данными о типичной микробиоте кумыса. Также производили высев микроорганизмов из образцов методом предельных разведений на среду MRS с дальнейшим культивированием в аэробных и анаэробных условиях при  $t=32^{\circ}$ . В итоге были выделены чистые культуры, которые впоследствии были идентифицированы с помощью секвенирования гена 16S рРНК. Среди чистых культур наиболее встречаемыми были: *Lactobacillus paracasei*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluveromyces marxianus*, *Leuconostoc mesenteroides* *Lactobacillus plantarum*. Дальнейшее выделение микроорганизмов, участвующих в процессе ферментации, и оценка их биотехнологического потенциала позволит перейти к составлению искусственных консорциумов для получения смеси стартовых культур, которые смогут быть использованы как стартовые культуры для промышленного производства.



## ANCYLOBACTER CRIMEENSIS SP. NOV.-НОВЫЙ ВИД АЭРОБНЫХ МЕТИЛОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ФИЛЛОСФЕРОЙ ДУБА ПУШИСТОГО

**Чемодурова А.А.<sup>1</sup>, Капаруллина Е.Н.<sup>1</sup>, Доронина Н.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФИЦ ПНЦБИ РАН, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.  
Скрябина РАН, Пущино, Россия

*chemodurova.alina@mail.ru*

C<sub>1</sub>-соединения - естественные продукты метаболизма растений, поэтому метилотрофы являются постоянными обитателями филлосферы и ризосферы растений. В филлосфере древесных растений обнаружены представители родов *Methylobacterium* и *Methylorubrum*, однако очевидно, что биоразнообразие метилотрофов в этой эконише значительно шире.

Цель работы-физиолого-биохимическая и таксономическая характеристика нового аэробного метилотрофного изолята-штамма бх-1.

Штамм бх-1 изолирован из филлосферы дуба пушистого (*Quercus pubescens*), образец листьев отобран в поселке городского типа Никита (Крым). Методами, включающими фазово-контрастную микроскопию, определение хемотаксономических признаков, MALDI-анализ, RAPD-анализ, секвенирование гена 16S рРНК, изолят отнесен к роду *Ancylobacter*.

Изучаемый штамм является мезофилом, нейтрофилом с оптимумом роста при 28 °С и рН 7.5. По типу питания является факультативным метилотрофом, использующим наряду с C<sub>1</sub>-соединениями широкий спектр полиуглеродных соединений. Рост ингибируется 1,5 % NaCl. В фосфолипидном составе клеток доминируют фосфатидилэтаноламин, фосфатидилмонометилэтаноламин и дифосфатидилглицерин. Основной убихинон Q10.

Секвенирование гена 16S рРНК выявило высокий уровень сходства штамма бх-1 с представителями рода *Ancylobacter*-97,4 % с *A. oerskovii* DSM 18746<sup>T</sup> (AM778407) и 97,3 % с *A. rudongensis* JCM 11671<sup>T</sup> (AY056830).

Методами полифазной таксономии штамм бх-1 идентифицирован как новый вид-*Ancylobacter crimeensis* (= ВКМ В-3256= CCUG 72401).

Исследуемый штамм синтезирует фитогормоны-ауксины (19 мкг/мл) и сидерофоры, солюбилизирует нерастворимые фосфаты - Ca<sub>2</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, стимулирует рост колонизированных им растений и перспективен в качестве препарата-стимулятора роста растений.

## ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО МЕТОДА СНИЖЕНИЯ ВЯЗКОСТИ НЕФТИ

**Шакирзянова Р.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Самарский национальный исследовательский университет имени С. П.  
Королева", Самара, Россия

*r\_alf\_z@list.ru*

Характерной особенностью современной нефтедобычи является увеличение в мировой структуре сырьевых ресурсов доли трудноизвлекаемых запасов (ТИЗ), к которым относится тяжёлая нефть с вязкостью 30 мПа\*с и выше. Запасы таких видов нефти



составляют не менее 1 трлн. тонн, что более чем в пять раз превышает объём остаточных извлекаемых запасов нефти малой и средней вязкости.

В настоящее время существует много различных методов снижения вязкости, и один из самых перспективных методов это микробиологический.

Микробиологические методы повышения нефтеотдачи разрабатываются по двум направлениям: первое – получение в наземных условиях продуктов микробиологического синтеза, увеличивающих подвижность нефти, и нагнетание их в нефтяной пласт, второе – развитие микробиологических процессов непосредственно в условиях нефтяного пласта с целью получения метаболитов, способствующих вытеснению нефти из коллектора. Суть этих методов заключается в улучшении нефтевытесняющих свойств закачиваемой воды с помощью микробных метаболитов: биоПАВ, полисахаридов, растворителей и др.

Материалом для исследования микробиологического метода снижения вязкости нефти служили образцы нефти Кумкольского месторождения республики Казахстан.

Для изучения микробиоты данной пробы нефти использовали селективные среды: минеральная среда Раймонда и среда Гетчинсона. Исходя из культуральных и морфологических признаков, а также по наличию целлюлазной активности, выделенные штаммы были отнесены к группе аэробных целлюлозоразрушающих бактерий.

Исследование микробиологического метода снижения вязкости нефти проводили следующим образом: пробы нефти наливали в 3 колбы, в первые 2 колбы добавляли яблочный и свекольный жмыхи, а третья колба – контрольная. После чего их ставили в термостат на 14 суток при 30°C, затем измеряли вязкость нефти. Для сравнения был проведен аналогичный опыт, но уже со стерильным жмыхом.

Для выделения бактерий из свекольного жмыха были использованы мясопептонный бульон (МПБ) и мясопептонный агар (МПА).

Результаты показали, что вязкость при добавлении яблочного жмыха снизилась на 23%, при добавлении свекольного на 28%, а при добавлении стерильных жмыхов вязкость практически не изменилась. И при добавлении в нефть бактерий, выделенных из свекольного жмыха, вязкость не изменилась относительно контроля.

## ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ АМИНОКИСЛОТ НА РЕГУЛЯЦИЮ ГЕНОВ МЕТАБОЛИЗМА МЕТАНОЛА У ДРОЖЖЕЙ *PICHA PASTORIS*

**Шараев Н.И.<sup>1</sup>, Волков А.А.<sup>1</sup>, Румянцев А.М.<sup>1</sup>**

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

*sharaevn.i@gmail.com*

Промоторы генов метаболизма метанола (*MUT*-генов) используются для гетерологической экспрессии в дрожжах *Pichia pastoris* и поэтому их регуляция активно изучается. Ранее было показано, что активность промоторов *MUT*-генов, в частности гена алкогольоксидазы 1 (*AOX1*), зависит от наличия в среде определённых аминокислот – пролина и глутамата. Ключевую роль в обеспечении подобной регуляции играет Торкиназа. Также было обнаружено, что дрожжи *P. pastoris* могут использовать данные аминокислоты в качестве комплексных источников углерода и азота. При этом другие аминокислоты, в частности гистидин, не могут быть использованы этими дрожжами в качестве таких комплексных источников.

У дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* основным сенсором аминокислот является SPS комплекс, состоящий из трёх функциональных субъединиц: рецептора Ssy1, адаптора Ptr3



и протеазы Ssy5. Основная роль SPS комплекса – определение концентрации аминокислот в среде.

Целью данной работы является изучение влияния гистидина на активность промотора гена *AOX1* *P. pastoris* и поиск у этих дрожжей генов SPS комплекса для последующего их исследования.

Для изучения влияния гистидина на активность промотора гена *AOX1* использовали полученный ранее штамм дрожжей *P. pastoris* tr2-4-GS115 *PAOX1-PHO5 phox*. Данный штамм содержит в своём геноме репортерный ген кислой фосфатазы *PHO5* под контролем промотора гена *AOX1*, что позволяет измерять активность этого промотора в различных условиях. Штамм tr2-4-GS115 выращивали в средах с метанолом в качестве источника углерода и сульфатом аммония или смесью сульфата аммония и гистидина в качестве источников азота. Показано, что добавление гистидина в среду приводит к уменьшению активности промотора гена *AOX1*, несмотря на то, что гистидин не является комплексным источником азота и углерода для *P. pastoris*.

Далее был проведён анализ генома *P. pastoris*, в ходе которого были выявлены гены *PpSSY1*, *PpPTR3* и *PpSSY5*, гомологичные соответствующим генам *S. cerevisiae*. 5' и 3' фланкирующие последовательности данных генов были амплифицированы и клонированы в составе плазмид. Далее между ними была помещена последовательность гена устойчивости к антибиотику зеоцину (*sh ble*). Полученные плазмиды будут использованы в дальнейшей работе для получения штаммов *P. pastoris*, несущих делеции в генах *PpSSY1*, *PpPTR3* и *PpSSY5*, для дальнейшего изучения роли SPS комплекса в регуляции *MUT*-генов. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-34-00750.

## ОСОБЕННОСТИ МИКРОФЛОРЫ КИШЕЧНИКА ЖУЖЕЛИЦЫ *HARPALUS RUFIPES* (COLEOPTERA, CARABIDAE)

Швецова Н.Н.<sup>1</sup>, Трушицына О.С.<sup>1</sup>, Зацаринная Е.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Рязанский государственный университет имени С.А. Есенина, Рязань, Россия

*alla-post-555@yandex.ru*

Удобным объектом для изучения микрофлоры почвенных насекомых могут служить жужелицы (Coleoptera, Carabidae). Эти жуки встречаются преимущественно в подстилке и почве, широко распространены, характеризуются высоким видовым разнообразием и численным обилием, а также отличаются по пищевой специализации (Крыжановский, 1983).

Работа посвящена изучению микрофлоры кишечника жужелицы *Harpalus rufipes* (DeGeer, 1774), которая по пищевой специализации относится к миксофитофагам (Шарова, 1981).

Покровы умерщвленного жука обрабатывали 70% этанолом и промывали стерильным физиологическим раствором. Затем жука препарировали, извлекали кишечник и растирали его в 1 мл физиологического раствора, на базе которого были приготовлены десятикратные разведения до  $10^{-5}$  включительно. Полученные разведения в объёмах 0,2 и 1 мл засеивали на питательную среду МПА. Посевы инкубировали при температурах 21°C, 37°C в течение 24 часов (Нетрусов и др., 2005; Чечёткина, 2011). Для выделения представителей семейства *Enterobacteriaceae* использовали среду Эндо (температура инкубации 37°C и 44°C).

Рост колоний наблюдался только при разведениях  $10^{-2}$  и  $10^{-3}$  при температурах 21°C и 37°C на среде МПА. Наиболее оптимальной для инкубации оказалась температура 21°C.



Общая численность микроорганизмов в 1 г кишечника данной особи при температуре 21°C составила  $0,957 \cdot 10^7$  КОЕ/г, при 37°C -  $4,65 \cdot 10^7$  КОЕ/г. Энтеробактерии в кишечнике не обнаружены.

В ходе исследования было выделено три типа колоний: 1) белые мелкие колонии слизистой структуры и округлой формы с ровным краем, при окрашивании по Граму представленные грам(+) кокками; 2) бесцветные мелкие округлые с фестончатым краем колонии плотной структуры, образованные грам(-) палочками; 3) крупные желтые округлые с волнистым краем колонии в виде морщинистой пленки, при окрашивании определяемые как грам(-) палочками. Численность микроорганизмов, образующих 1-й тип колоний, в 1 г кишечника при температуре 21°C составило  $0,269 \cdot 10^7$  КОЕ/г; образующих 2-й тип колоний -  $1,719 \cdot 10^7$  КОЕ/г. Рост колоний 3-го типа обнаружен не был. Общая численность микроорганизмов, образующих 1-й тип колоний, в 1 г кишечника при температуре 37°C составило  $4,6 \cdot 10^7$  КОЕ/г; образующих 3-й тип колоний -  $0,05 \cdot 10^7$  КОЕ/г. Рост колоний 2-го типа обнаружен не был. В настоящее время ведется работа по видовой идентификации выделенных представителей.

## КУЛЬТИВИРОВАНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ, ОТОБРАННЫХ С ПРОИЗВЕДЕНИЙ ТЕМПЕРНОЙ ЖИВОПИСИ 16-ГО ВЕКА В ГОСУДАРСТВЕННОЙ ТРЕТЬЯКОВСКОЙ ГАЛЕРЕЕ

**Ширяев М.И.<sup>1</sup>, Потапов М.П.<sup>1</sup>, Авданина Д.А.<sup>2</sup>, Жгун А.А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московский политехнический университет, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФИЦ  
Фундаментальные основы биотехнологии, Институт биоинженерии, Москва, Россия

*misha\_Shiryayev@mail.ru*

Микроорганизмы способны использовать в качестве источников питательных веществ широчайший спектр природных соединений. В связи с этим на стандартных микробиологических средах удается культивировать по современным оценкам менее 1% обитающих в природных условиях микроорганизмов. Темперная живопись является хорошим питательным субстратом для роста микробиомов различного типа. В нашей работе использовали пробы, отобранные с поверхностей произведений темперной живописи, находившихся в 61-ом зале Живописи Древней Руси Государственной Третьяковской галереи. Также работали с пробами, отобранными с различных участков залов 56, 57 и 61. На основании 106-ти отобранных проб получили наборы культивируемых изолятов на средах Лурия-Бертани (ЛБ) и Чапека-Докса (ЧД). Исходные изоляты и их культивируемые аналоги охарактеризовали методом световой микроскопии. Выявили преобладание бактериальной микрофлоры при культивировании на среде ЛБ, и преобладание мицелиальных грибов, а также, бацилл при культивировании на среде ЧД. Для всех изучаемых экспонатов темперной живописи: Великие Православные иконы «Церковь Воинствующая» (объект I), «Святой Великомученик Димитрий Солунский» (объект III), бюст Георгия Победоносца (объект II) при отборе не было обнаружено видимых участков биопоражения; во внутренних коммуникациях залов (объект IV) были выявлены видимые глазом значительные очаги роста микроорганизмов. В результате для 20-35% проб с объектов I-III удалось получить культивируемые аналоги на среде ЧД (на среде ЛБ – для 50-60% проб). Для проб с объекта IV получили значительно более высокий процент выросших изолятов на среде ЧД – 90% (на среде ЛБ – сопоставимый рост, для 50-60% проб). Очаги биопоражения во внутренних коммуникациях зала 61 (закрытого в настоящее время на капитальный ремонт) соответствовали смешанному типу (грибы и бациллы). В результате сравнительного микроскопического анализа предварительно



показали присутствие доминантных грибных представителей, в первую очередь, родов *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, как в исходных пробах с объекта IV, так и с объектов I-III; а также – в их культивируемых аналогах. Полученными культурами инокулировали макеты, представляющие отдельные лакокрасочные материалы, используемые в темперной живописи. Для большинства материалов показали их эффективную поражающую способность изолятов.

Работа поддержана грантом РФФИ 17-29-04349.

## КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ ОБРАЗЦОВ ДОННЫХ ОСАДКОВ ЗОНЫ ЕСТЕСТВЕННЫХ ВЫСАЧИВАНИЙ УГЛЕВОДОРОДОВ ОЗЕРА БАЙКАЛ

**Щербакова П.А.<sup>1</sup>, Ламова Я.А.<sup>1</sup>, Шестаков А.И.<sup>1</sup>**

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

*shcherbakovapa@gmail.com*

По литературным данным ежегодно из разломов на дне Байкала высвобождается около 4 тонн нефти, однако озеро остается чистым от нефтяных загрязнений. Самоочищение обеспечивается в том числе сообществами микроорганизмов, способных к деградации компонентов нефти.

Целью работы стала оценка количества углеводородокисляющих микроорганизмов (УВОМ) в донных образцах зоны естественных высачиваний углеводородов озера Байкал. Для исследования были отобраны пробы донных отложений с глубины 900 метров в районе мыса Горевой Утес.

На начальном этапе исследования проводили высев полученных образцов на агаризованные питательные среды в аэробных и анаэробных условиях при различных температурах для определения содержания жизнеспособных клеток в образцах. Для работы использовали среды следующего состава для углеводородокисляющих микроорганизмов:  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 2,0;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  – 0,01;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,02;  $\text{FeSO}_4$  – 0,01;  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  – 2,0;  $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  – 0,02;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  – 3,0;  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  – 0,1; pH 7,2 (в качестве источника углерода в составе среды использовали смесь товарной нефти и дизельного топлива 1:1) и для гетеротрофных микроорганизмов: питательная среда ГРМ, разбавленная в 8 раз, в соответствии с данными из проведенных ранее исследований.

В точках, где наблюдался выход нефти на поверхность, отмечено увеличение содержания УВОМ, сравнимое с количеством гетеротрофных микроорганизмов, в то время как в образцах, при отборе которых не было обнаружено высачиваний нефти, количество УВОМ значительно снижается либо не наблюдается совсем при той же численности гетеротрофов.

Дополнительно был проведен анализ содержания нефти в исследуемых образцах методом газо-жидкостной хроматографии. В хроматографическом профиле нефти Байкала преобладают компоненты высококипящей фракции, которые не высвобождаются в толщу воды и не испаряются с поверхности озера, а создают битумные поля на дне. В исследуемых образцах замечена следующая корреляция: значительное уменьшение концентрации как n-алканов, так и нафтено-ароматических компонентов отмечено в тех пробах, где наблюдалось наибольшее содержание УВОМ.

Таким образом, данное исследование подтверждает увеличение количества УВОМ в зонах естественного высачивания нефти по сравнению с фоновыми значениями содержания данной группы микроорганизмов в естественных условиях в отсутствие





нефтепроявлений. Хроматографический анализ показал корреляцию между количественным содержанием УВОМ в образце и концентрациями компонентов нефти, отраженных в хроматографическом профиле нефтесодержащей пробы.

## АНАЛИЗ ТАКСОНОМИЧЕСКОГО СОСТАВА ЭУБАКТЕРИАЛЬНОЙ КОМПОНЕНТЫ МЕЗОФИЛЬНОГО СООБЩЕСТВА ДВУХРЕАКТОРНОЙ БИОГАЗОВОЙ СТАНЦИИ

**Яценко В.А.<sup>1</sup>, Клюева В.В.<sup>1</sup>, Ходжаев Ю.Р.<sup>1</sup>, Бояршин К.С.<sup>1</sup>, Батлущая И.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

*viktori-y-99@mail.ru*

В условиях сложившейся экологической ситуации актуальным стало производство биогаза, в основе которого лежит технология анаэробного сбраживания субстратов с помощью метаногенных микробных сообществ. Такие сообщества складываются из архейной и бактериальной компонент. Изучению таксономического состава метаногенных архей в биогазовых установках посвящено значительное количество работ. При этом, бактериальная компонента играет не менее значимую роль, обеспечивая архей субстратами для выработки метана посредством синтрофных экологических связей в сообществе.

Задачей данной работы был анализ таксономического состава эубактерий в микробном сообществе биогазовой станции «Лучки» ООО «АльтЭнерго» на севере Белгородской области. Сбраживаемая масса включала свиноводческие навозные стоки, кукурузный силос, мясные отходы, сахаросвекольный жом и др. Сбраживание велось при 39 °С.

На основании литературных данных были использованы таксон-специфические пары праймеров для детекции микроорганизмов, относящихся к типам Firmicutes, Actinobacteria, Bacteroidetes, Deferribacteres, candidatus Saccharibacteria, Verrucomicrobia, Tenericutes, и трём классам типа Proteobacteria – Beta-, Gamma- и Epsilonproteobacteria.

Биогазовая установка станции «Лучки» включает две зоны: зону первичного сбраживания и зону дображивания. Анализ таксономической структуры бактериальной компоненты сообщества в первой зоне показал следующее содержание различных таксонов: Firmicutes 60%, Bacteroidetes 14%, Gammaproteobacteria 9,1%, candidatus Saccharibacteria 0,36%, Betaproteobacteria 0,13%, Actinobacteria 0,01%, и 16% остальных. Во второй зоне, в период наиболее интенсивного метаногенеза, доминирование типа Firmicutes стало ещё более выраженным и составило 78%, тогда как содержание Bacteroidetes составило 12%, Gammaproteobacteria – 2,8%, Betaproteobacteria – 0,02% и 7,1% других. Типы candidatus Sackharibacteria и Actinobacteria в зоне дображивания не детектируются.

Таким образом, на поздней стадии сбраживания разнообразие эубактерий в биогазовой установке снижается, что отражает значительную степень истощения субстратов, перерабатываемых бактериальной микрофлорой и сужение доступных ей экологических ниш.



## СЕКЦИЯ "ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ И ФОТОБИОЛОГИЯ"

### ДЕТЕКЦИЯ ОБРАЗОВАНИЯ СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА У ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ С ПОМОЩЬЮ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ ЛОВУШЕК

Ашихмин А.А.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино,  
Россия

*AshikhminAA@gmail.com*

Ранее было показано, что каротиноиды под действием света могут инициировать окисление бактериохлорофилла (БХл) в мембранах и периферийных светособирающих комплексах фотосинтезирующих бактерий. Было установлено, что некоторые каротиноиды при облучении сине-зеленым светом могут образовывать активные формы кислорода (синглетный кислород). Представляло интерес провести поиск ловушек для удобного и быстрого обнаружения синглетного кислорода в бактериальной мембране.

Целью данной работы было проведение оценки выделения синглетного кислорода в мембранах серных и несерных бактерий при их освещении в область поглощения каротиноидов. В качестве объектов исследования были использованы мембраны пурпурной серной бактерии *Alc. vinosum* штамм МГУ (преобладает родопин, >60%) и мембраны двух штаммов несерной бактерии *Rhodobacter (Rba.) sphaeroides*: штамм 2.4.1 (основной каротиноид – сфероиден, >95%) и мутантный штамм G1C (нейроспорин, 100%). В качестве ловушки синглетного кислорода был использован SingletOxygenSensorGreen (SOSG), который связывая синглетный кислород, переходит во флуоресцирующую форму с испусканием в области 510-550 нм, которую можно зарегистрировать с помощью стандартного спектрофлуориметра.

Было показано, что при освещении мембран *Alc. vinosum* штамм МГУ сине-зеленым светом в течение 30 мин Qu-полоса БХл с максимумом при 853 нм выцветает на 55%. Одновременно с этим процессом отмечено появление полосы поглощения окисленного продукта БХл при 698 нм, который был идентифицирован как 3-ацетил-хлорофилл. В мембранах обоих штаммов *Rba. sphaeroides* при аналогичных условиях освещения БХл практически не выцветает, а видимые продукты окисления БХл не зарегистрированы. Измерение спектров флуоресценции SOSG во всех препаратах мембран, облученных сине-зеленым светом, показало присутствие там синглетного кислорода, максимальное содержание которого отмечено после 30 минут облучения. Интенсивность флуоресценции SOSG в препаратах мембран составила: 147 усл. ед. для *Alc. vinosum* штамм МГУ, 191 усл. ед. для *Rba. sphaeroides* штамм 2.4.1 и 345 усл. ед. для *Rba. sphaeroides* штамм G1C, соответственно. Предполагается, что эффективность образования синглетного кислорода каротиноидами может зависеть от их структурных особенностей (количество сопряженных двойных связей, боковых заместителей), что требует дальнейших исследований.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (проекты 18-04-00684\_a; 18-34-00416\_мол\_a; 17-04-00929\_a).



## ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ РЕКОМБИНАНТНЫХ ГЕНОВ *GSI/LAC* В РАСТЕНИЯХ БЕРЕЗЫ И ОСИНЫ

**Белова Е.Н.<sup>1</sup>, Лебедев В.Г.<sup>2</sup>, Шестибратов К.А.<sup>2</sup>, Амосова А.В.<sup>3</sup>, Зошук С.А.<sup>3</sup>,  
Муравенко О.В.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пушкино, Россия; <sup>3</sup>ФГБУН Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

*belova.biotech@gmail.com*

Удовлетворить возрастающий спрос на древесину и сохранить природные леса возможно путем создания плантаций лесных древесных культур с ценными хозяйственными признаками. Селекция древесных видов в лесном хозяйстве классическими методами очень длительна, ее можно ускорить с помощью достижений биотехнологии. Основными направлениями в лесной селекции являются ускорение роста и модификация состава древесины. Для создания новых генотипов, в основные лесобразующие лиственные породы России, березу и осину, путем агробактериальной трансформации перенесены гены глутаминсинтетазы и лакказы.

С целью ускорения роста растения березы (*Betula pubescens*) трансформировали геном *GSI* из *Pinus sylvestris*, кодирующим цитозольную форму глутаминсинтетазы – основной фермент метаболизма азота. Растения гибридной осины (*Populus tremula* × *P. tremuloides*) трансформировали геном *lac* из гриба *Trametes hirsute*, кодирующим фермент лакказу, участвующий в деградации древесины. Экспрессия генов *GSI* и *lac* в трансгенных растениях подтверждена методами ОТ-ПЦР и ПЦР в реальном времени. Для изучения фенотипического проявления перенесенных генов растения выращивали в полунатуральных условиях в течение трех (береза) или двух (осина) лет и оценивали биометрические показатели и параметры листовой пластинки с помощью программы LAMINA. Растения березы удобряли растворами с 0,1 и 10 мМ азота. Растения линии F14GS8b имели вытянутую форму листьев, а в условиях недостатка азота по высоте, массе и объему ствола превышали контроль на 15, 32 и 30%, соответственно. Растения линии F14GS2b имели карликовый фенотип и искривленные побеги. Эффективность использования азота (NUE) у растений березы линии F14GS8b при выращивании в условиях его недостатка была выше, чем у контроля, на 39%, тогда как в условиях избытка – ниже на 23%. Растения осины линий 47XVIII<sub>Lac</sub>7, 47XVIII<sub>Lac</sub>12 были выше контроля на 9 и 13%, соответственно, а линии 47XVIII<sub>Lac</sub>5 - ниже контроля на 5%. Площадь листьев линии 47XVIII<sub>Lac</sub>23 уменьшилась на 36%, а линий 47XVIII<sub>Lac</sub>7 и 47XVIII<sub>Lac</sub>8 возросла на 15 и 17%, соответственно. Кроме того, листья линии 47XVIII<sub>Lac</sub>8 имели вытянутую форму. Эти изменения не были связаны с возможным изменением ploидности вследствие гибридизации, так как кариологический анализ показал, что все линии содержат 38 хромосом.

Полученные данные позволяют оценить эффекты экспрессии генов глутаминсинтетазы и лакказы на фенотип трансгенных деревьев, а также отобрать генотипы, перспективные для плантационного лесовыращивания.



## РОЛЬ МЕМБРАННЫХ ФЕРМЕНТОВ, АЛЬФА-КАРБОАНГИДРАЗЫ 2 И STN7 КИНАЗЫ, В АДАПТАЦИОННОМ ОТВЕТЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ ПРИ ДЕЙСТВИИ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ

**Ветошкина Д.В., Журикова Е.М., Иванов Б.Н., Борисова-Мубаракшина М.М.**

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино,  
Россия

*vetoshkina\_d@mail.ru*

В ходе своей жизнедеятельности растения постоянно сталкиваются с изменениями в условиях окружающей среды, что привело к формированию в фотосинтетическом аппарате большого числа адаптационных механизмов. В частности, появились различные коротко- и долговременные ответы на изменение условий освещения. Одним из адаптационных механизмов является процесс *statetransitions*, который заключается в миграции части антенны фотосистемы 2 (ФС2) между фотосистемами, что приводит к перераспределению световой энергии между двумя фотосистемами. При увеличении освещенности на длительное время (более трех дней) происходит уменьшение размера антенны ФС2, за счет подавления биосинтеза периферических белков Lhcb 1, Lhcb 2, Lhcb 3 и Lhcb6. В данной работе обнаружено, что мутантные растения, с заблокированным синтезом STN7 киназы не способны к уменьшению размера антенны ФС2 при долговременном освещении растений светом повышенной интенсивности. Таким образом, показано, что фермент STN7 киназа, который является ключевым ферментом для протекания процесса *statetransitions*, является необходимым для адаптации фотосинтетического аппарата к длительному действию повышенной освещенности.

Кроме того, в работе показано, что в отсутствие альфа-КА2 у мутантов нарушена регуляция размера антенны – при низкой интенсивности света содержание белков антенны было ниже, чем у растений дикого типа. Видимо, в отсутствие альфа-КА2 в люмене происходит большее накопление протонов, что является сигналом для уменьшения синтеза белков антенны.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №18-34-00978 мол\_а

## АНАЛИЗ БИОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ СТРЕСС-УСТОЙЧИВОСТИ У СОРТОВ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ РАЗЛИЧНОГО ГЕОГРАФИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА ПРИМЕРЕ КАДМИЯ

**Дикарев А.В., Дикарев В.Г., Дикарева Н.С.**

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии

*ar.djuna@yandex.ru*

Кадмий является одним из наиболее опасных загрязнителей окружающей среды. Однако до настоящего времени остаются неясными многие детали механизмов его воздействия на организм растений. Удобным тест объектом для изучения механизмов устойчивости к действию тяжелых металлов на разных уровнях организации растения является яровая ячмень - одна из важнейших сельскохозяйственных культур, генетическая структура которого хорошо изучена.



Цель исследования – исследование изоферментного полиморфизма контрастных по устойчивости к действию кадмия сортов ячменя и поиск биохимических маркеров устойчивости сельскохозяйственных растений к техногенному стрессу.

Для исследования изозимного полиморфизма ярового двурядного ячменя были взяты 14 контрастных по устойчивости к кадмию сортов, отобранных на основе анализа морфологических критериев. В ходе работы были рассмотрены следующие ферментные системы – супероксиддисмутаза, пероксидаза, глутаматдегидрогеназа, алкогольдегидрогеназа, малатдегидрогеназа, глутатионредуктаза, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, каталаза. Готовились белковые экстракты зародышей семян, которые вносились в карманы полиакриламидного геля и разгонялись электрофорезом. После окончания процесса производились гистохимические реакции для выявления зон активности ферментов. На проявленных гелях подсчитывались частоты встречаемости всех изозимов и определялись те, которые встречаются не в каждом рассмотренном варианте. Частоты встречаемости таковых сравнивались для групп устойчивых и чувствительных сортов. В случае, если различия имели значимый характер, данный изофермент можно было рассматривать в качестве маркера устойчивости или чувствительности организма.

Выявлены изозимы, с большей вероятностью встречающиеся в группах контрастных сортов. Полученные данные сравнивали с таковыми, собранными для контрастных по устойчивости к свинцу сортов, выявленных в предшествующих исследованиях. Сделаны выводы о причинах формирования устойчивости растений к токсическому стрессу и ее связи с биохимическими особенностями. Сравнены результаты для двух тяжелых металлов, сделаны предположения о сходствах и различиях в ответе в обоих случаях. Полученные данные свидетельствуют о сложности формирования ответа живых организмов на средовой стресс. Эти результаты имеют значение для понимания механизмов формирования адаптации к различным факторам среды. Данные, собранные в процессе работы, могут быть полезны для нужд земледелия в условиях техногенного загрязнения и задач селекции сортов основных культур, обладающих высокой устойчивостью к тяжелым металлам и дающим безопасную продукцию.

#### УЧАСТИЕ DELLA-БЕЛКОВ В КОНТРОЛЕ РАЗВИТИЯ СИМБИОЗА ГОРОХА *PISUM SATIVUM* L. С РИЗОБИЯМИ

**Долгих А.В., Долгих Е.А.**

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Санкт-Петербург, Россия

*sqshadol@gmail.com*

При бобово-ризобиальном симбиозе на корнях растений формируются азотфиксирующие клубеньки, для образования которых требуется ряд последовательных стадий, включающих развитие инфекции и непосредственно органогенез клубенька. Оба процесса находятся под строгим контролем фитогормонов, таких как гиббереллины, цитокинины, ауксины, стриголактоны и брассиностероиды. В настоящее время накапливается все больше данных о том, что события, развивающиеся в коре корня при образовании клубенька и в эпидермисе при проникновении инфекционной нити, требуют различного фитогормонального окружения. Для подобной регуляции необходимо наличие в растительном организме своеобразных интеграторов, своевременно реагирующих на любые колебания в уровне фитогормонов и сигнальных молекул. Кандидатом на эту роль являются DELLA-белки, являющиеся компонентом гиббереллинового сигналинга и деградирующие при повышении уровня активных гиббереллинов. Целью нашей работы



стал поиск мишеней DELLA-белков - транскрипционных факторов, способных регулировать уровень фитогормонов посредством влияния на гены, контролирующие их биосинтез и деградацию. Кандидатами на эту роль стали KNOX и BELL транскрипционные факторы. Для транскрипционных факторов семейства KNOX показано связывание с промоторами генов *GA20ox* и *GA2ox*, ответственных за биосинтез и деградацию активных форм гиббереллинов. Вместе с тем, KNOX активируют экспрессию генов биосинтеза цитокининов, таких как LOG и IPT. BELL в свою очередь являются кофакторами KNOX во многих процессах органогенеза. При клубенькообразовании индуцируется экспрессия нескольких *KNOX* и *BELL* генов и нами была проверена возможность взаимодействия белковых продуктов этих генов с белком DELLA1 в дрожжевой дигибридной системе. Из-за отсутствия сильного взаимодействия был предложен иной механизм регуляции этих транскрипционных факторов DELLA-белками. В процессе развития симбиоза DELLA1 взаимодействует с несколькими транскрипционными факторами, а именно IPD3, NSP2 и NF-YA1. Изучение взаимодействия DELLA1 с белками IPD3, имеющими нарушения, характерные для двух мутантов по гену *ipd3*, в дрожжевой дигибридной системе показало отсутствие связывания. Фенотипы мутантов по DELLA и IPD3 были схожими. Так, фенотипически, у обоих мутантов значительно уменьшается количество закладываемых клубеньков, а на уровне экспрессии генов наблюдается значительное снижение в экспрессии *KNOX3*, *KNOX9*, *BELL1*, *GA20ox* и *LOG1*. Таким образом, взаимодействие DELLA1 с IPD3 видимо является необходимым именно для процесса закладки клубеньков и регуляции генов биосинтеза ГК и ЦК.

#### ИНТЕНСИВНОСТЬ РОСТА И РАЗВИТИЯ КАРТОФЕЛЯ СОРТА «НОВИНКА» ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СПЕКТРАХ ОСВЕЩЕНИЯ

**Корсун И.С.<sup>1</sup>, Маслова Е.В.<sup>1</sup>, Батлуцкая И.В.<sup>1</sup>, Яценко В.М.<sup>1</sup>, Кушнарченко С.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>НИУ «Белгородский государственный университет»; <sup>2</sup>РГП «Институт биологии и биотехнологии растений» КН МОН РК, Алматы, Казахстан

*irinakorsyn@list.ru*

Физиологические и морфологические реакции растений на применение света с преобладанием различных участков спектра представляют интерес с точки зрения, как оптимизации лабораторных методик, так и разработки технологий промышленного культивирования сельскохозяйственных видов. Выращивание растений в контролируемых условиях, когда можно задавать и регулировать с планом эксперимента световые параметры, существенно повышает эффективность культивирования растений. Нами было использовано освещение с различными характеристиками спектра во время прорастания черенков картофеля (*Solanumtuberosum L.*) сорта «Новинка».

Двухнедельные растения картофеля черенковали на черенки, длина которых составляла 0,5-1 см. Культивирование проводилось на модифицированной агаризированной питательной среде Мурасиге-Скуга (1962) при pH 5,7. Выращивание проводили на различных спектрах освещения: 1 вариант -590-750 нм, 2 - 490-590 нм, 3 - 380-490 нм, в качестве контроля выступали растения, выращенные за тот же период на люминисцентных лампах.

Средние скорости увеличения общей длины побега составили 8,2 см/сутки при доминировании длин волн 590-750 нм, 6,7 см/сутки при повышенной интенсивности волн длиной 490-590 нм и 4,9 см/сутки при повышении интенсивности освещения с длинами волн 380-490 нм. Таким образом, растения сорта «Новинка» демонстрируют наилучшие показатели роста при максимальном доминировании длинноволновой части спектра. При



повышении интенсивности коротковолнового излучения развитие растений сорта «Новинка» существенно замедляется.

Экстракция суммарного хлорофилла из побегов с последующей фотометрической оценкой его количества при длине волны 649 нм показала максимальное поглощение в экстрактах из растений, выращенных при максимальном доминировании длинноволновой части спектра (590-750 нм), с его понижением на 43% и 37% при смене спектра в пользу средних (490-590 нм) и коротких (380-490 нм) длин волн.

Из полученных результатов можно сделать вывод о том, что для культивирования проростков картофеля сорта «Новинка» при искусственном освещении оптимальным является свет с преобладанием длинноволновой части спектра. Однако максимальное содержание хлорофилла наблюдается при культивировании растений на освещении с преобладанием длин волн – 490-590 нм.

## РОЛЬ ПЕПТИДОВ CLE В РАЗВИТИИ ЗАПАСАЮЩИХ ОРГАНОВ У СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

**Кузнецова К.А., Ганчева М.С., Додуева И.Е., Лутова Л.А**

ФГБУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*kskuz95@mail.ru*

Данная работа посвящена изучению роли пептидов CLE в развитии запасующих органов сельскохозяйственных растений. В качестве объектов исследования выбраны сорта растений видов *Brassicarapa*, *Brassicinapus*, *Betavulgaris*, *Raphanussativusu* *Raphanusraphanistrum*, контрастные по способности к образованию корнеплодов. По данным гистологического анализа, повышенная активность камбия, ведущая к увеличению числа камбиальных клеток и элементов ксилемы, определяет основные различия между корнеплодобразующими и бескорнеплодными сортами. Показано, что главную роль в формировании корнеплода играют гены *CLE19* и *CLE41*, уровни экспрессии которых возрастают в процессе его развития и ограничены определенными типами клеток корня. Сверхэкспрессия *CLE41* у диких предков растений, не образующих запасующего корня (например, *Raphanusraphanistrum*), способствовала появлению признаков, характерных для культурных сортов: увеличение диаметра корня и нижней части стебля, а также снижение числа одревесневающих элементов ксилемы. Мы предполагаем, что отбор форм с высоким уровнем экспрессии *CLE41* сыграл роль в доместикации этих культур и появлении продуктивных сортов.

Работа поддержана грантам РФФ 16-16-10011 и РФФИ 18-04-01017.



## ОЗОНИРОВАНИЕ СЕМЯН ЗЛАКОВ

**Лазукин А.В.<sup>1,2</sup>, Сердюков Ю.А.<sup>1,2</sup>, Грабельных О.И.<sup>3,4</sup>, Кривов С.А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУВО Национальный исследовательский университет «Московский энергетический институт», Москва, Россия; <sup>3</sup>Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия; <sup>4</sup>ФГБОУВО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

*lazukin\_av@mail.ru*

В работе приведены результаты экспериментального исследования воздействия озона синтезируемого в низкотемпературной плазме поверхностного диэлектрического барьерного разряда на прорастание семян зерновых культур (яровая пшеница «Новосибирская-29», озимая пшеница «Иркутская», озимое тритикале сортообразец 430-6002 и озимая рожь «Чулпан») при различной концентрации озона в протоке влажного воздуха (до 12 г/м<sup>3</sup>) или влажного кислорода (до 30 г/м<sup>3</sup>). В качестве контрольных показателей выбраны морфологические характеристики темновых трехсуточных проростков (длины побега и индивидуальных корней), трехсуточная всхожесть и степень заражения фитопатогенами. Показано, что озимая пшеница наиболее отзывчива к обработке. Установлено, что эффект (увеличение длин побегов и увеличение корневой системы) от воздействия озона проявляется более ярко при не высоких степенях заражения зерна.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 18-76-10019).

## СРАВНИТЕЛЬНОЕ СОДЕРЖАНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В НАДЗЕМНОЙ МАССЕ НЕКОТОРЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ КУЛЬТУР, ВЫРАЩЕННЫХ В УСЛОВИЯХ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

**Молчанова А.В., Суминова Н.Б.**

ФГБНУ Федеральный научный центр овощеводства, Одинцовский район, пос. ВНИИССОК, Россия

*vovka\_ks@rambler.ru*

В последние десятилетия большое внимание уделяется также изучению макро- и микроэлементного состава лекарственных растений, так как действие основных биологически активных веществ часто проявляется в комплексе с природным минеральным составом растения.

Объектом исследования была надземная масса шалфея мускатного (*Salviasclarea* L.), шалфея лекарственного (*Salviaofficinalis* L.), лофанта анисового (*Lophanthusanisathus* Benth.) сортов Снежок и Франт, иссопа синего (*Hyssopusofficinalis* L.) и иссопа розового, мяты перечной (*Menthapiperita* L.), Melissa лимонной (*Melissaofficinalis* L.), чабера огородного (*Saturejahortensis* L.).

Растения выращивались в городе Саратов, изучение микроэлементного состава было проведено в Лабораторно-аналитическом центре ФГБНУ ФНЦО.

Проведённые исследования показали, что максимальное содержание практически всех изученных нами микроэлементов было отмечено в надземной массе чабера огородного (табл. 1). Кроме того, надземная масса этой культуры характеризовалась и





наибольшим содержанием золы. Помимо чабера огородного, в надземной массе шалфея мускатного и шалфея лекарственного был отмечен максимум таких микроэлементов, как марганец, железо, медь и высокий процент золы. необходимо отметить, что в надземной массе обеих культур было выявлено и наибольшее содержание свинца  $8,28 \pm 0,60$  мг/кг и  $6,35 \pm 0,13$  мг/кг сухой массы соответственно, что превышало ПДК по этому элементу (5 мг/кг с.м.).

В надземной массе лофанта анисового сортов Франт и Снежок было выявлено максимальное содержание меди и цинка, а у растений сорта Франт - ещё и марганца ( $27,86 \pm 2,77$  мг/кг).

Таблица 1. Сравнительное содержание микроэлементов в надземной массе культур

Культура	зола, %	Cu, мг/кг	Fe, мг/кг	Pb, мг/кг
Шалфей мускатный 1	$13,09 \pm 0,9$	$5,76 \pm 0,53$	153,07	$8,28 \pm 0,60$
Шалфей лекарственный 4	$11,21 \pm 0,0$	$4,15 \pm 0,75$	187,04	$6,35 \pm 0,13$
Лофант анисовый сорт Снежок	$9,51 \pm 1,14$	$5,94 \pm 1,43$	165,90	$5,44 \pm 0,90$
Лофант анисовый сорт Франт 8	$10,74 \pm 0,3$	$7,29 \pm 1,27$	148,79	$4,31 \pm 0,18$
Иссоп розовый 3	$11,06 \pm 1,7$	$4,15 \pm 1,02$	121,24	$5,50 \pm 0,90$
Иссоп синий 1	$11,12 \pm 1,9$	$4,84 \pm 1,13$	120,43	$5,38 \pm 1,31$
Чабер огородный 0	$15,52 \pm 1,9$	$5,70 \pm 1,13$	210,84	$6,10 \pm 0,67$

Также, в результате проведённых нами исследований была изучена надземная масса вышеназванных культур по определению таких микроэлементов, как ртуть и кадмий. Данных микроэлементов в надземной массе всех изученных культур выявлено не было, что позволяет использовать выращиваемое сырьё для использования в медицинских, парфюмерных и пищевых целях.

#### ИССЛЕДОВАНИЕ УЧАСТИЯ ДВУХ ТИЛАКОИДНЫХ КАРБОАНГИДРАЗ АЛЬФА-СЕМЕЙСТВА В МЕХАНИЗМАХ КРАТКОВРЕМЕННОЙ АДАПТАЦИИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ВЫСШЕГО РАСТЕНИЯ *ARABIDOPSIS THALIANA* К СВЕТУ ВЫСОКОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ

**Найдов И. А., Ветошкина Д.В., Журикова Е.М., Игнатова Л.К., Иванов Б.Н.**

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино, Россия

Карбоангидраза (КА)– фермент, осуществляющий обратимую гидратацию углекислого газа:  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$ .

В хлоропластах *Arabidopsisthaliana* обнаружено несколько карбоангидраз, одной из которых, по нашим данным, является альфа-КА2.

Для исследования возможной функции альфа-КА2 в адаптации фотосинтетического аппарата к действию света высокой интенсивности растения *A. thaliana* экотипа Columbia (ДТ) и растения, нокаутированные по гену *At2g28210*, кодирующему альфа-КА2, на 10 дней помещали в условия повышенной освещенности - 400 мкмоль квантов/м<sup>2</sup>с.



При выращивании растений при низкой освещенности 50 мкмоль квантов/м<sup>2</sup>с у мутанта отношение хлорофилла а к хлорофиллу в и нефотохимическое тушение флуоресценции (НФТ) хлорофилла а были выше, в то время как эффективный квантовый выход и количество крахмала в листьях были ниже по сравнению с растениями дикого типа. После переноса обоих типов растений на повышенную интенсивность, 400 мкмоль квантов м<sup>2</sup>/с после 10 дней, первые характеристики увеличились в гораздо меньшей степени у мутантных растений, чем у растений дикого типа, и стали меньше, чем у растений дикого типа. С другой стороны, в этих условиях эффективный квантовый выход и количество крахмала стали выше у мутантных растений.

Интересно, что уже при низкой интенсивности света, у мутанта содержание белков светособирающей антенны было ниже, чем у ДТ.

Увеличение концентрации протонов в люмене в отсутствие альфа-КА2 при низкой интенсивности света, когда перенос электронов по цепи и, соответственно, протонов в люмен в значительной степени ограничен интенсивностью света, свидетельствует, что эта КА каким-то образом обеспечивает выход протонов из люмена. В ее отсутствие выход протонов через связанный с ней канал отсутствует.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №18-34-00978 мол\_а

## ИЗУЧЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ СОРТООБРАЗЦОВ ПШЕНИЦЫ К БУРОЙ РЖАВЧИНЕ В ПОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ (*PUCCINIA TRITICINA* DIETEL)

**Обухова М.В.**

ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

*obuhowa.mar@yandex.ua*

Проведена полевая оценка 40 сортообразцов пшеницы на устойчивость к возбудителю бурой ржавчины пшеницы селекции ФГБНУ «НЦЗ им. П.П. Лукьяненко», ФГБНУ «АНЦ Донской».

*Ключевые слова:* пшеница, сорт, бурая ржавчина, *Pucciniatriticina*.

Бурая ржавчина (возбудитель – *Pucciniatriticina* Dietel) - одна из самых распространенных и вредоносных болезней пшеницы. Потери урожая при сильном развитии патогена может достигать 30-40 % (Власенко, 2000). Для защиты посевов используют химические, агротехнические и биологические методы, но главный метод борьбы с патогеном - использование устойчивых сортов (Батов, 1996). Успех селекции в этом направлении заключается в изучении закономерности изменчивости популяции возбудителя бурой ржавчины и генофонда устойчивости пшеницы. Поэтому исследования устойчивости сортов в поле всегда считаются актуальными (Генетические основы селекции 1973).

Целью данной работы явилась оценка устойчивости сортообразцов пшеницы отечественной селекции к возбудителю бурой ржавчины в полевых условиях на искусственном инфекционном фоне.

Для изучения устойчивости растения-хозяина к возбудителю бурой ржавчины было высеяно 40 сортообразцов озимой пшеницы на делянках в 6 рядков длиной 1 м. Расстояние между делянками составляло 0,5 м. В каждой делянке находилось 50-60 растений. Заражение проводили природной популяцией гриба. Степень поражения и тип реакции были учтены, когда чувствительность сорта-контроля по восприимчивости к бурой ржавчине Краснодарская 99 достигала 70-90 %. Основными фитопатологическими параметрами оценки сортов на устойчивость к патогену являлись степень поражения растения (в процентах), которую определяли по шкале Peterson et al. (Бабаянц, 1988)



Высокую устойчивую реакцию к данному патогену, со степенью поражения 5%, в сложившихся условиях проявили такие сорта, как Лауреат, Диона, Тейя, Корнет и др. Устойчивость – степень развития болезни от 10 до 15 % проявили сортообразцы: Адель, Табор, Уруп, Антонина, Анка и др. Слабую восприимчивость-степень развития болезни до 25% проявили сортообразцы: К-64084, Lingxing 99, Аргонавт, Золушка и др. Восприимчивость-степень поражения от 40% до 65% проявили сортообразцы: 1120/13, Донна.

Полученные данные указывают на необходимость продолжения поиска источников устойчивости к *P. triticina* среди районированных сортов пшеницы на территории юга России.

## ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ КОМПЛЕКСА ФАКТОРОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ НА СТРУКТУРУ КАРОТИНОИДОВ ЛИСТЬЕВ *CERATOFILLUM DEMERSUM* L. И *BETULA PENDULA* ROTH.

**Порочкин А.В., Макурина О.Н.**

ФГАОУ ВО Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева, Самара, Россия

*avporochkin@ya.ru*

Для проведения исследования и сравнительного анализа конформации каротиноидов листьев двудольных растений были выбраны *Ceratofillum demersum* L. и *Betula pendula* Roth. различных сред произрастания. Факторы воздействия на растения химические (превышающие ПДК в три раза) и физические (длина светового дня и пониженная  $t^{\circ}$  воды). Воздействие на объекты исследования вызывает изменения соотношения величины пиков полос спектров комбинационного рассеяния света, которые регистрируются через трое суток спектрометром Renishaw in Via Basis.

Воздействие на опытные группы тяжелыми металлами приводило к переходу конформации каротиноидов в плоское состояние: изменения в величине соотношения  $960 \text{ см}^{-1}/1004 \text{ см}^{-1}$ . Изменения соотношения  $1004 \text{ см}^{-1}/1153 \text{ см}^{-1}$  в опытных группах растений свидетельствует об усилении колебания метильной группировки относительно  $-C=C-$  связи.

Было установлено: под действием экспозиции с тяжелыми металлами и их смесями происходит изменение структуры, не влияющее на строение каротиноидов. Соотношение  $1520 \text{ см}^{-1}/1153 \text{ см}^{-1}$ , показывающее изменение длины молекулы и конформационные изменения связей  $-C=C-$ , не изменилось ни в одной из опытных групп. Так же оставались постоянными соотношения  $1004 \text{ см}^{-1}/1153 \text{ см}^{-1}$  и  $1004 \text{ см}^{-1}/1520 \text{ см}^{-1}$ , характеризующие колебания метила в молекуле каротиноидов. При анализе изменений, лишь в некоторых опытных группах есть тенденция к уменьшению соотношений, а значит - переходу молекулы каротиноида из плоской конформации, вероятно из-за изменения микроокружения (белков или липидов).

При сочетанном воздействии факторов на *Ceratophyllum demersum* L. и *Betula pendula* Roth. зафиксированы изменения длины цепи каротиноидов, более значительные колебания метильных группировок и увеличение вязкости микроокружения каротиноидов.

Как физические, так и химические факторы повлияли на конфигурацию и конформацию молекул каротиноидов. Сильнее изменения у молекул каротиноидов, подвергшихся воздействию химических веществ. Особенно при воздействии фосфо-агентами. У данных групп наиболее выраженный вклад метильного радикала в колебания



углеродной цепи: молекула более сжата и имеет более плоскую конформацию. Возможно, это связано с более сильным воздействием фосфатов на гидробионты, а изменение конфигурации и конформации молекул каротиноидов является следствием, ответной физиологической реакцией растения на стрессорные факторы. В целом, химические вещества повлияли на изменения конфигурации молекул каротиноидов сильнее, чем физические.

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ И АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ *СЕР* U КАРТОФЕЛЯ

**Рутковская Е.А.<sup>1</sup>, Ганчева М.С.<sup>1,2</sup>, Додуева И.Е.<sup>1</sup>, Лутова Л.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

*rutkovskaya-ea@yandex.ru*

Картофель – одна из самых распространенных культур, которая возделывается практически во всем мире. Клубни картофеля являются видоизмененными укороченными побегами, образующимися в результате деятельности различных меристем. Одним из факторов, влияющих на развитие клубней, является содержание азота в среде, высокая концентрация которого задерживает клубнеобразование. Пептиды группы СЕР (C-TERMINALLY ENCODED PEPTIDES) отвечают за развитие и рост различных частей растения. Известно, что у *A. thaliana* это семейство пептидов регулирует экспрессию нитратных транспортеров (таких как *NRT2.1*) в ответ на изменение концентрации азота в среде, влияя на развитие корней. В настоящий момент у *A. thaliana* выявлено 15 генов *СЕР*, в то время как у *Solanum tuberosum* ранее эти гены не были идентифицированы. В результате проделанной нами работы были обнаружены 5 генов *СЕР* у *Solanum tuberosum* (*StСЕР*): *StСЕР1*, *StСЕР3.1*, *StСЕР3.2*, *StСЕР14* и *StСЕР15*. На основании филогенетического анализа было выявлено, что гомологами этих пептидов являются *AtСЕР1*, *AtСЕР3*, *AtСЕР14* и *AtСЕР15*, соответственно. Нами был проведен анализ генов *StСЕР 3.1*, *StСЕР 3.2*, *StСЕР 14* и *StСЕР15*, высокая экспрессия которых наблюдается в корнях и клубнях картофеля, что может свидетельствовать о влиянии данного пептида на клубнеобразование картофеля и развитие его корневой системы. Также были идентифицированы гены, кодирующие рецепторы пептидов СЕР (СЕР Receptor - СЕРР), а также мишени действия сигнального модуля СЕР-СЕРР, СЕРД (СЕР DOWNSTREAM), которые регулируют экспрессию нитратных транспортеров.

В развитии растений также участвует группа пептидов СЛЕ (CLAVATA1/EMBRYO SURROUNDING REGION), которые регулируют работу меристем в различных частях растения. Также известно, что СЛЕ пептиды участвуют в формировании ответных реакций на изменение факторов окружающей среды, в частности – изменение концентрации азота в почве, что влияет на образование клубней у картофеля. В результате этого можно предположить, что экспрессия генов *СЛЕ* также, как и СЕР связана с реакциями клубнеобразования. Из 22 идентифицированных генов *СЛЕ* были отобраны три гена – *StСЛЕ10*, *StСЛЕ11* и *StСЛЕ24*, которые, предположительно, отвечают за ответ на содержание азота в среде.

Данная работа была выполнена при поддержке грантов РФФИ 19-016-00177 и 18-34-00020.



## ВЫЯВЛЕНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СТИМУЛЯТОРОВ РОСТА НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА

**Самарская В.О.**

ФГАОУ ВО Волгоградский государственный университет, Волгоград, Россия

*viktoriya.samarskaya2012@yandex.ru*

Неблагоприятные факторы подавляют продуктивность, рост и развитие растений в сельском хозяйстве. Вот почему изучение влияния химических препаратов на устойчивость растений как основы урожайности становится одной из фундаментальных проблем для разных областей биологии, химии и практики сельского хозяйства.

Цель работы – оптимизация физиолого-биохимических показателей устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды.

Инкрустация заключалась в обработке семенного материала рабочими растворами группы №1, 2 и 3 в трех концентрациях: 20, 25 и 30 г/л и контрольный образец. Экспозиция обработки семян - 24 часа. На каждую концентрацию рабочих растворов отводилось по 20 семян отдельного вида растений. Рабочие растворы для обработки семян в разбавление 1:1000. Растворы группы №1 (хя) – хитозан + янтарная кислота (соотношение 1:1); растворы группы №2 (хяо) – хитозан + янтарная кислота + ОК; растворы группы №3 (хяог) – хитозан + янтарная кислота + ОК + гуминовая вытяжка.

Результаты: предельная температура для требовательных к теплу растений –кабачка – составляет +35-40 °С. Повышение ее приводит к нарушению жизнедеятельности и гибели растений. Обработанные растения группы 1 и 3 выдержали температуру более 50°С, что говорит о их жаростойкости.

Высокая пролинообразующая способность - показатель засухоустойчивости растений. Относительно контрольного образца увеличилось количество пролина во всех образцах, кроме раствора группы 2 концентрации. У укропа количество пролина возросло. Количество аскорбиновой кислоты в укропе и кабачке во время пятидневной засухи определяли по калибровочному графику. Содержание аскорбиновой кислоты в укропе и кабачке во всех концентрациях во время засухи выше, чем у контрольного образца. Можно говорить о том, что овощные культуры приобрели засухоустойчивость.

В результате проведенной работы хорошо заметно, что препараты на основе хитозана различной концентрации веществ показывают ускоряющие действие на рост кабачка и укропа. При этом изменения можно обнаружить экспериментальным путем. Экспериментально было показано, что обработанные растения были адаптированы к засухе и лучше переносили условия жары. Мы видим дальнейшую перспективу применения препарата и улучшения его качеств.

## РАЗВИТИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ПРОРОСТКАХ РЖИ ПОСЕВНОЙ (*SECALE CEREALE L.*) ПРИ ЗАГРЯЗНЕНИИ ПОЧВЫ НЕФТЬЮ

**Скрыпник Л.Н., Токупова Э.В.**

ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет им. И. Канта», Калининград,  
Россия

*ISHtrants@kantiana.ru*

В последние десятилетия среди современных проблем человечества, особое внимание уделяется состоянию окружающей среды. Значительную роль в загрязнении



биосферы играют нефть и нефтепродукты, поэтому изучению различных аспектов проблемы нефтяного загрязнения уделяется большое внимание. Загрязнение почв нефтью вызывает нарушения динамического равновесия в экосистеме вследствие изменения структуры почвенного покрова, а также токсического ее действия на живые организмы.

Целью данной работы было исследование развития окислительного стресса в проростках ржи посевной (*Secale cereale* L.) в условиях загрязнения почвы нефтью.

В качестве тест-объекта использовали 14-дневные проростки ржи посевной сорта Пуховчанка. Растения выращивали в вегетационных сосудах на несменяемой почве (1 кг). В почву вносили сырую нефть в концентрациях из расчета 1,5; 3,0; 6,0; 12,0 г нефти на кг почвы и тщательно перемешивали, после чего высаживали растения. В качестве контроля использовали растения, выращенные на почве без добавления нефти. Через 14 дней после появления всходов определяли биомассу проростков, содержание в них хлорофиллов *a* и *b*, а также уровень малонового диальдегида - продукта перекисного окисления липидов.

В результате исследования было установлено, что даже незначительное загрязнение почвы нефтью вызывает ингибирование ростовых процессов. Так, при содержании нефти в почве 1,5 г/кг накопление биомассы снизилось на 22% по сравнению с контролем. При более сильном загрязнении потери в биомассе составили около 70%.

Реакция растений на загрязнение почвы нефтью наблюдалась и на физиологическом, и биохимическом уровне. Уровень хлорофилла *a* в экспериментальных растениях был ниже на 11-56% и хлорофилла *b* на 4,5-45% по сравнению с контрольными растениями.

При увеличении содержания нефти в почве наблюдалось достоверное увеличение концентрации малонового диальдегида в проростках ржи. Если в контрольных растениях его уровень был около 37 нмоль/г, при содержании нефти в почве 12,0 г/кг – практически в два раза выше – более 70 нмоль/г.

Таким образом, полученные данные позволяют сделать вывод, что интенсификация в клетках окислительных процессов является одним из возможных механизмов токсического действия нефти на растительные организмы.

#### СВОЙСТВА РЕАКЦИОННЫХ ЦЕНТРОВ *RHODOBACTER SPHAEROIDES* С АМИНОКИСЛОТНЫМИ ЗАМЕЩЕНИЯМИ ILE НА TYR В ПОЗИЦИЯХ L177 И M206.

**Фуфина Т.Ю.<sup>1</sup>, Третчикова О.А.<sup>2</sup>, Тихобаева Ю.С.<sup>3</sup>, Селиханов Г.К.<sup>4</sup>, Шувалов В.А.<sup>1</sup>, Васильева Л.Г.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт фундаментальных проблем биологии РАН, ФИЦ ПНЦБИ РАН, г. Пущино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Ивановский государственный университет», г. Иваново, Россия; <sup>3</sup>ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия; <sup>4</sup>Институт белка РАН, г. Пущино, Россия

*olyatretchikova@yandex.ru*

Фотосинтез – сложный многоэтапный процесс, который играет важную роль в существовании жизни на Земле. Ключевыми этапами, в ходе которых энергия света трансформируется в энергию химических связей, являются первичные фотопроцессы, обеспечиваемые фотосинтетическими реакционными центрами (РЦ). РЦ пурпурной бактерии *Rhodobacter (Rba.) sphaeroides* состоит из трех субъединиц (L, M и H) и десяти кофакторов и является пигмент-белковым комплексом, локализованным в клеточной мембране. Для фотохимической функции комплекса и понимая механизмов трансформации энергии при фотосинтезе важны пигмент-белковые взаимодействия, которые являются объектом изучения в настоящее время. РЦ *Rba. sphaeroides* утврдили



себя в качестве хорошей модели для подобных исследований, так как они наиболее просто устроены и хорошо изучены. Поэтому именно на них проводилось аминокислотное замещение  $\text{Pe}$  на  $\text{Tyr}$  в позициях L177 и M206.

Установлено, что удельный выход при очистке РЦ дикого типа и полученных мутантных РЦ составил 4-5  $\text{ODV}_{800}$  на литр культуры. Показано, что спектральные свойства РЦ I(L177)Y и I(M206)Y после заморозки и последующего оттаивания не изменились, как и у РЦ дикого типа. Из этого был сделан вывод о стабильности РЦ I(L177)Y и I(M206)Y.

Выявлено, что мутации I(L177)Y и I(M206)Y вызывают сходные смещения полосы  $\text{Q}_Y\text{P}$ , но приводят к разным изменениям в области поглощения мономерных БХл. РЦ I(L177)Y и I(M206)Y были фотохимически активны. Показано, что пигментный состав в РЦ I(L177)Y и I(M206)Y не изменился. Благодаря интересным спектральным характеристикам, представляют собой перспективные объекты для исследования роли белка в обеспечении функциональной активности А-цепи и неактивности В-цепи.

Работа выполнена в рамках госзадания № АААА-А17-117030110140-5 при частичной поддержке РФФИ, проекты 17-00-0207 (К).

## ВЛИЯНИЕ ИОНОВ МЕДИ НА РОСТ И ФОРМИРОВАНИЕ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ У РАСТЕНИЙ *ZINNIA ELEGANS* JACQ.

**Тугбаева А.С.<sup>1</sup>, Ермошин А.А.<sup>1</sup>, Киселева И.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

*anastasia.tugbaeva@gmail.com*

Медь – микроэлемент, задействованный во многих процессах в жизни растений, однако её избыток высоко токсичен. Ионы меди поглощаются клетками эпидермиса корня, переносятся в центральный цилиндр и загружаются в ксилему. В транспорте ионов в клетку, стенка выполняет барьерную функцию. В ответ на действие тяжелых металлов может меняться толщина и состав клеточной стенки. Один из компонентов вторичной клеточной стенки является лигнин. В полимеризации монолигнолов задействованы лакказы – медьсодержащие белки и пероксидазы.

Цель исследования – определить влияние ионов меди на образование клеточной стенки и рост растений *Zinniaelegans* Jacq.

Объект исследования – *Zinniaelegans*, модельное растение, на котором изучают процесс лигнификации.

Растения культивировали в горшках с серой лесной почвой в течение 50 дней. Контрольные растения с 1 по 25 день поливали раствором Кнопа, опытные - раствором Кнопа с добавлением  $\text{Cu}^{2+}$  в концентрации 100 и 200  $\mu\text{M}/\text{l}$ . Выборка составила 30 растений для каждой группы.

Высота растений при действии ионов меди в концентрации 100 и 200  $\mu\text{M}/\text{l}$  снижается по сравнению с контролем на 6,8-9,1 % и составляет 36,8 и 35,9 см (в контроле 39,5 см). Толщина стебля на уровне гипокотила и в первом междоузлии уменьшается на 14,9-25,0% и 6,5-15,0%. Толщина клеточной стенки в сосудах ксилемы при действии 100  $\mu\text{M}/\text{l}$  снижается на 5,9% в гипокотиле и 8,4% в первом междоузлии и составила 2,91 и 2,82  $\mu\text{m}$  соответственно (в контроле 3,1 и 3,08  $\mu\text{m}$ ). При действии 200  $\mu\text{M}/\text{l}$  не наблюдается изменений в толщине клеточной стенки сосудов ксилемы. Так же характерно уменьшение доли проводящих элементов в стебле при действии исследуемых концентраций: соотношение толщина проводящего пучка/диаметр стебля в контроле



составляет 0,17 в гипокотиле и 0,12 в первом междоузлии, при действии 100 мкМ/л – 0,12 и 0,11 соответственно, при действии 200 мкМ/л – 0,15 и 0,10.

Анализ содержания лигнина в тканях стебля *Z. elegans* серноокислотным методом показал увеличение содержания общего лигнина на 3,5-9,7% за счет увеличения лигнина Класона и снижения количества кислоторастворимого лигнина при действии ионов меди в концентрации 100 и 200 мкМ/л.

Таким образом, исследуемые концентрации меди оказывают ингибирующее действие на процессы роста растений, что сопровождается увеличением содержания лигнина.

## СРАВНЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ ИСКУССТВЕННОГО И ЕСТЕСТВЕННОГО ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ И ЛИПИДОВ В ПРОРОСТКАХ ПШЕНИЦЫ И РИСА.

**Шиков А.Е., Ласточкин В.В., Чиркова Т.В., Емельянов В.В.**

ФГБОУ ВО, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург,  
Россия

*shik-999@inbox.ru*

Особенно интересно и актуально проводить сравнительное исследование смоделированного искусственными генераторами активных форм кислорода окислительного стресса с повреждениями при пост-аноксии. В работе изучено влияние аноксии и пост-аноксии и действие окислителей (перекись водорода, метилвиологен, менадион, смесь меди с аскорбиновой кислотой) на окисление липидов и белков пшеницы и риса. При этом рис был выбран в качестве устойчивого растения, а пшеница в качестве неустойчивого. О повреждении липидов судили по накоплению ТБК-реактивных продуктов, а окисление белков оценивали по уровню карбонилированных форм.

Действие различных окислительных агентов существенно интенсифицировали перекисное окисление липидов ПОЛ в проростках пшеницы, оказывая менее сильный эффект на растение риса. При этом важно отметить, что на длительных сроках реэрации уровень малонового диальдегида (МДА) был выше по сравнению с воздействием генераторов активных форм кислорода. Таким образом, индуцируемый пост-аноксией окислительный стресс привел к более существенному окислению липидов по сравнению с окислительными агентами.

На уровень карбонилирования белков в побегах и корнях пшеницы окислительные агенты воздействовали примерно одинаково, тогда как у риса соответствующие повреждения обнаруживали главным образом в корнях.

Реэрация увеличивала содержание карбонилированных форм белков в тканях обоих растений, тем не менее, в проростках риса по прошествии 24 реэрации было отмечено возвращение к уровню контроля, тогда как у пшеницы уровень карбонилирования оставался неизменно высоким. При этом влияние окислительных агентов и постаноксии на уровень окисления белков было сопоставимым.

Таким образом, можно заключить, что как в случае индуцируемого генераторами, так и в случае постаноксического окислительного стресса рис более успешно справлялся с окислительными модификациями липидов и белков, что может свидетельствовать в пользу его устойчивости к окислительному стрессу.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-04-00157.





## СЕКЦИЯ "ФИЗИОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ И ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ БИМЕДИЦИНА"

### ВЛИЯНИЕ АКТИВАЦИИ РИАНОДИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА СПОНТАННУЮ СЕКРЕЦИЮ АЦЕТИЛХОЛИНА В НЕРВНО-МЫШЕЧНЫХ СИНАПСАХ МЫШИ.

Миронова Д. С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московский Государственный Университет им. М. В. Ломоносова

*aleksashina.sonya@list.ru*

Уровень внутриклеточного кальция играет важную роль в регуляции выброса медиатора в моторных синапсах млекопитающих. В нервных терминалах  $Ca^{2+}$  депонируется в цистернах ЭПС и может поступать в цитоплазму через каналы рианодинных рецепторов (РиР) при их активации. Известными модуляторами активности РиР являются растительные алкалоиды кофеин и рианодин. Целью данной работы было изучить влияние рианодина в концентрации, активирующей РиР, и нарастающих доз кофеина на спонтанный выброс ацетилхолина (АХ) в моторных синапсах мышцы.

Эксперименты проводили на нервно-мышечном препарате диафрагмы мыши. При помощи стандартной микроэлектродной техники отведения биопотенциалов регистрировали спонтанные миниатюрные потенциалы концевой пластинки (МПКП) в контроле и на фоне действия активаторов РиР. Значимость отличий полученных выборок проверяли с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни.

Активация РиР субмикромольной концентрацией рианодина (0,1 мкМ) приводила к достоверному увеличению амплитуды МПКП на 22% по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ;  $n=44$ ) и сдвигу гистограммы амплитудных распределений в сторону более высоких значений. Частота и временные характеристики МПКП при этом оставались неизменными.

Кофеин в физиологической концентрации, соответствующей приему нескольких чашек кофе (0,02 мМ) также приводил к увеличению средней амплитуды МПКП на 25% ( $p < 0,05$ ;  $n=30$ ), но временные характеристики и частота не изменялись по сравнению с контролем. Таким образом, наблюдаемый эффект был похож на действие рианодина (0,1 мкМ).

При действии кофеина в концентрациях 0,05 мМ и 1 мМ, увеличение амплитуды МПКП оказалось ещё более выраженным и составило 29% ( $p < 0,05$ ;  $n=32$ ) и 48% ( $p < 0,05$ ;  $n=36$ ) по сравнению с контролем, соответственно. При этом достоверно возрастала также и частота МПКП - на 78% и 130%, соответственно, что может быть связано с активацией  $Ca^{2+}$ -зависимых  $K^+$  каналов нервной терминали при повышенном выходе  $Ca^{2+}$  из депо.

Таким образом, активация выброса  $Ca^{2+}$  из депо через РиР различными по химической природе алкалоидами - рианодином и кофеином – приводила к усилению спонтанной секреции АХ в моторных синапсах мышцы. Исходя из отсутствия изменений в параметрах временного хода МПКП, можно предположить пресинаптическую природу наблюдаемого эффекта. Повышенное высвобождение депонированного  $Ca^{2+}$  при воздействии модуляторов РиР может поддерживать нервно-мышечную передачу при длительной работе синапсов.



## РОЛЬ HSP70 В ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНОМ ПЕРЕХОДЕ КЛЕТОК КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА ПРИ СТИМУЛЯЦИИ ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ ГЛЮКОЗЫ

**Алексеев Д.А.<sup>1</sup>, Никотина А.Д.<sup>1</sup>, Маргулис Б.А.<sup>1</sup>, Гужова И.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии РАН, Москва

*dm\_aleksee@mail.ru*

Семейство цитопротекторных белков HSP70 играет важную роль в поддержании жизнеспособности нормальных и раковых клеток, что стало причиной активного изучения их функций. Открытым остаётся вопрос о влиянии HSP70 на процесс эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) и миграционной активности клеток. Результаты, полученные на линии нормальных нетрансформированных клеток, не согласуются с таковыми, полученными на линии раковых клеток. В первом случае HSP70 блокировал процесс ЭМП на раннем этапе переноса транскрипционных факторов Smad2/3 и Smad4 в ядро. Во втором случае HSP70 поддерживал миграционную активность, стабилизируя актиновый цитоскелет.

Целью данной работы стало изучение влияния HSP70 на прохождение ЭМП под действием высокой концентрации глюкозы в клетках колоректального рака.

В первую очередь необходимо было разработать модель ЭМП для линии клеток колоректального рака DLD1. Клетки вводили в ЭМП обработкой средой с повышенной концентрацией глюкозы 80mM в течение 7 дней. Такая модель представляется наиболее приближенной к условиям *in vivo*, так как высокое содержание глюкозы часто служит причиной метастазирования колоректального рака при прогрессирующем диабете.

ЭМП подтверждался несколькими способами. В тестах на застание царапины клетки, обработанные высокой концентрацией глюкозы, мигрировали лучше контроля. Одновременно в тестах на колониеобразование клетки, вводимые в ЭМП, дают колонии, меньшие по численности и размеру, по сравнению с контролем. Сниженная пролиферация и повышенная миграция так же наблюдалась при анализе клеток, обработанных высокой концентрацией глюкозы, на приборе xCelligence. Вестерн блоттинг показал увеличение экспрессии Snail, одного из основных факторов запуска ЭМП, в клетках, обработанных высокой концентрацией глюкозы.

Для оценки влияния HSP70 на процесс ЭМП в работе использовалась клеточная линия DLD1 с нокдауном белка HSP70 (shHSP70). В тестах застания царапины клетки DLD1 shHSP70, вводимые в ЭМП, мигрируют хуже, чем клетки DLD1 в аналогичной ситуации. Размер и количество колоний не отличаются для клеток DLD1 shHSP70 в нормальной среде и с повышенным содержанием глюкозы. Также при обработке высокой концентрацией глюкозы не влияет на пролиферацию и миграцию клеток DLD1 shHSP70 в тестах xCelligence. Всё это косвенно свидетельствует о положительном влиянии HSP70 на процесс ЭМП и миграции клеток колоректального рака. В дальнейшем планируется изучение влияния HSP70 на главные транскрипционные факторы ЭМП Twist, Slug, Snail.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00973.



## ВЛИЯНИЕ ЭПИГАЛЛОКАТЕХИН ГАЛЛАТА НА УВЕЛИЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ АНГИОТЕНЗИН ПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА В АОРТЕ КРЫС

**Аникина В.А.<sup>1</sup>, Корыстов Ю.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН

*viktoriya.anikina@list.ru*

Зеленый чай содержит в своем составе катехины, количество которых достигает 30% от веса сухого листа. Эпигаллокатехин галлат (ЭГКГ) – количественно основной катехин зеленого чая. Потребление зеленого чая и ЭГКГ снижает риск развития сердечнососудистых заболеваний (ССЗ), атеросклероза и гипертрофии сердца. Показан ряд эффектов ЭГКГ на клетки эндотелия и сосуды, которые могут быть связаны с профилактическим и терапевтическим действием ЭГКГ: вазодилатация, ингибирование экспрессии факторов адгезии к лейкоцитам клетками эндотелия, ингибирование экспрессии NADH оксидазы и индуцибельной NO-синтазы.

Одним из основных факторов инициации и прогресса атеросклероза и ССЗ является увеличение активности ангиотензин превращающего фермента (АПФ), образующего вазопрессорный пептид – ангиотензин II (А II). А II вызывает увеличение артериального давления, способствует распаду брадикинина, влияет на почечные канальцы и стимулирует выход альдостерона из надпочечников. Данный пептид не только вызывает гипертонию, но и способствует развитию сердечной гипертрофии, сердечной недостаточности, утолщений сосудов и атеросклероза.

Влияние ЭГКГ на активность АПФ изучалось только на ферменте *in vitro*. При этом использовались его концентрации существенно большие, чем регистрируемые в плазме крови при потреблении зеленого чая. На клетках и организме влияние ЭГКГ на активность АПФ ранее не изучалось.

В лаборатории окислительного стресса был разработан метод определения активности АПФ в сегментах аорты крыс, свободный от артефактов, характерных при определении АПФ в гомогенатах сосудов. Активность АПФ была определена путем измерения гидролиза Гип-Гис-Лей.

Через 3 часа после внутрибрюшинного введения ЭГКГ с увеличением дозы с 0,03 мкг/кг до 3 мкг/кг, показано возрастание активности АПФ в аорте крыс в 1,5 раза. С дальнейшим увеличением концентрации активность АПФ сохранялась на высоком уровне. Исследовали также кинетику изменения активности АПФ при дозе 3 мкг/кг в диапазоне до 6 часов. Обнаружено, активность АПФ достигает максимума к 3 ч после введения, а к 6 ч активность фермента начала незначительно снижаться (на 6%). Дальнейшее изучение кинетики данной реакции позволит выяснить максимальное время действия ЭГКГ на сосуды.



## ОЦЕНКА ИНФОРМАТИВНОСТИ МОЧЕВОЙ ЭКСКРЕЦИИ NGAL И CysC У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ ПРИ НОРМАЛЬБУМИУРИИ

**Анпилова А.О.<sup>1</sup>, Богданова Е.О.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ПСПБГМУ им. ак. И.П. Павлова

*anastasy.95@mail.ru*

**Введение.** Сахарный диабет (СД) – это распространенное хроническое заболевание, его наиболее частое микрососудистое осложнение – диабетическая нефропатия (ДН), которая является одной из главных причин госпитализации и смертности пациентов с СД, а при тяжелом течении на поздних стадиях требуется дорогостоящая заместительная почечная терапия (гемодиализ). В настоящее время критерием диагностики ДН является наличие альбуминурии (АУ) и снижение расчетной скорости клубочковой фильтрации (рСКФ). Однако альбуминурия не является специфичным маркером СД. Несмотря на то, что общепринятыми маркерами ренальной дисфункции являются белки цистатин С (CysC) и липокалин-2 (NGAL), роль их мочевой экскреции при СД изучена недостаточно.

**Цель.** Оценить информативность мочевой экскреции CysC и NGAL у пациентов с сахарным диабетом 2 типа (СД2) и начальными стадиями хронической болезни почек (с ДН) и выявить маркеры раннего повреждения почек при нормальбуминурии.

**Материалы и методы.** Были исследованы биообразцы 47 пациентов с СД2 и начальными стадиями хронической болезни почек (С1-3а) и 26 условно здоровых добровольцев. У всех определены концентрации общего белка, альбумина (Alb), NGAL, CysC в утренней порции мочи.

**Основные результаты.** Группа пациентов с ДН была разделена на подгруппы по уровню альбуминурии в соответствии с рекомендациями KDIGO [Levey AS, 2010 (The definition, classification and prognosis of CKD, KDIGO)]: A0 (<10 мг/г), A1 (10-29 мг/г), A2 (30-299 мг/г), A3 (300-1999 мг/г), A4 ( $\geq 2000$  мг/г). У пациентов по сравнению с контрольной группой по мере выраженности альбуминурии был выявлен достоверный тренд роста концентрации белков, отражающих канальцевые повреждения – NGAL и CysC. Повышенные уровни NGAL и CysC в моче пациентов с СД2 были выявлены даже в подгруппах с условно нормальными значениями альбуминурии (менее 30 мг/г): оптимальной альбуминурией (подгруппа A0) и повышенной альбуминурией (подгруппа A1). Исследования, проведенные на общей выборке, показали отсутствие корреляции между экскрецией белков с полом и возрастом пациентов, что позволяет говорить о независимости и универсальности маркеров для определения раннего почечного повреждения.

**Заключение.** Для диагностики диабетического повреждения почек на доальбуминурической стадии у пациентов с СД2 могут быть предложены мочевые белки NGAL и CysC. Повышенный уровень маркеров в моче может свидетельствовать о ранних стадиях ДН и тубулоинтерстициальном повреждении.



## ВЛИЯНИЕ ОМЕКАМТИВ МЕКАРБИЛА НА ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ СЕРДЕЧНОГО И СКЕЛЕТНОГО МИОЗИНА С ТОНКИМ ФИЛАМЕНТОМ

**Берг В. Ю.<sup>1</sup>, Кошечева О. И.<sup>1,2</sup>, Шаронова М. А.<sup>1,2</sup>, Щепкин Д. В.<sup>1</sup>, Копылова Г. В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия; <sup>2</sup>УрФУ имени Первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

*valeoupi@gmail.ru*

Омекамтив мекарбил (omesantiv mecarbیل, СК-1827452; ОМ) был разработан для модулирования функции миозина желудочков при сердечной недостаточности [Morgan *et al.*, *ACS Med Chem Lett.* 2010]. В скелетных мышцах экспрессируется медленная изоформа I тяжелых цепей миозина (ТЦМ) аналогичная  $\beta$ -изоформе ТЦМ сердечного миозина. Caremani *et al.* [Caremani *et al.*, *Biophys J.* 2018] обнаружили, что ОМ влияет на механизм генерации силы волокон из *m. soleus*. Мы сравнили влияние ОМ на  $\text{Ca}^{2+}$  регуляцию взаимодействия изоформ сердечного и скелетного миозина с тонким филаментом, используя *in vitro* подвижную систему [Matyushenko *et al.*, *Biochemistry* 2017].

Используя *in vitro* подвижную систему мы проанализировали  $\text{Ca}^{2+}$  зависимость скорости скольжения тонких филаментов, реконструированных из актина, тропомиозина и тропонина, по миозину с помощью уравнения Хилла:  $V = V_{max} \times (1 + 10^{h(pCa - pCa_{50})})^{-1}$ , где  $V$  и  $V_{max}$  – скорость скольжения филаментов и их максимальная скорость при насыщающей концентрации  $\text{Ca}^{2+}$ ;  $pCa_{50}$  – значение  $pCa$ , при котором достигается половина  $V_{max}$ ;  $h$  – коэффициент Хилла. Миозин выделяли из миокарда желудочков и предсердий свиньи, а также из *m. psoas* кроликов. Миозин из желудочков и предсердий содержал преимущественно  $\beta$ - и  $\alpha$ -изоформу ТЦМ, соответственно. Миозин из *m. psoas* содержал быстрые изоформы IIx и IIb ТЦМ и 2% изоформы I ТЦМ.

Обнаружено, что ОМ уменьшает  $V_{max}$  и  $h$  зависимости  $pCa$ -скорость всех исследованных изоформ миозина, увеличивает  $\text{Ca}^{2+}$  чувствительность ( $pCa_{50}$ ) зависимости  $pCa$ -скорость сердечных миозинов, но не влияет на  $pCa_{50}$  зависимости  $pCa$ -скорость миозина из *m. psoas*. Таким образом, ОМ влияет на кальциевую регуляцию актин-миозинового взаимодействия и в миокарде, и в скелетных мышцах, и эффект ОМ зависит от изоформ миозина.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант №18-015-00252) и Программы АААА-А18-118020590135-3 с использованием оборудования ЦКП ИИФ УрО РАН.

## ВЛИЯНИЕ ЭТОЛОГИЧЕСКИ ЗНАЧИМОГО ЗАПАХА НА УРОВЕНЬ ТРЕВОЖНОСТИ У САМЦОВ КРЫС ВИСТАР

**Березина Е.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет

*herionnee@gmail.com*

Запах хищника вызывает у жертвы аверсивную реакцию, избегание, страх и повышение уровня тревожности. Воздействие запаха хищника на грызунов может приводить к долговременному стрессу, вызывает такие реакции, как рассасывание беременности и повышение агрессии. Предполагается, что запах кота содержит феромон-подобное вещество и воздействует на вомероназальный орган [3].



Задачей данного исследования было изучение влияния запаха хищника на уровень тревожности и двигательной активности у самцов крыс через разные интервалы времени после экспозиции запаха.

Эксперимент состоял из трех серий опытов. Животные были разделены на контрольные и опытные группы, опытной группе предъявляли запах мочи кота на час. Крыс тестировали через 15 минут, 4 часа и 24 часа после предъявления запаха в приподнятом крестообразном лабиринте для определения уровня тревожности.

После 15 минут у животных увеличивался уровень тревожности, определяемый по времени нахождения в открытых рукавах. Наблюдалось статистически значимое изменение двигательной активности, оцениваемое по времени неподвижности крысы. Не было выявлено отличие по количеству пройденных квадратов, по времени груминга, по количеству стоек. Через 4 часа увеличилось количество крыс, которые все время эксперимента провели в открытых рукавах, хотя общее время пребывания крыс в открытых рукавах статистически значимо не отличалось у контрольных и опытных групп. Двигательная активность возросла у опытной группы. Через 24 часа все изменения в поведении нивелируются, животное приходит в норму.

Через 15 минут после предъявления запаха хищника крысам происходит увеличение их тревожности, что видно по преимущественному нахождению крыс опытной группы в закрытых рукавах, а также увеличению двигательной активности. Через 4 часа после предъявления запаха происходит дезадаптация в поведении у крыс, вследствие снижения тревожности и двигательной активности. Через 24 часа исчезают отличия от опытной группы, так как, вероятно, пропадает целесообразность реакции. Можно предположить, что выявленные реакции крыс на мочу кота основаны на действии специфических феромонов, воздействующих на дополнительную обонятельную систему [1, 2], индуцирующих специфическую реакцию у крыс.

Список литературы:

1. Dielenberg R.A., Hunt G.E., McGregor I.S. *Neuroscience*. 2001. Vol. 104, № 4. P. 1085–1097.
2. Staples L.G. et al. *Neuroscience*. Pergamon, 2005. Vol. 29, № 8. P. 1265–1277.
3. Staples L.G. et al. *Neuroscience*. Pergamon, 2008. Vol. 151, № 4. P. 937–947.

## ВЛИЯНИЕ ГЕНДЕРНОГО ФАКТОРА НА СОДЕРЖАНИЕ ЛАМИНА А В ДЕРМАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТАХ ПРИ СТАРЕНИИ

**Богданов А.В., Николаев Е.Е.**

ФГБОУ ВО Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова,  
Чебоксары, Россия

*alexevld@mail.ru*

Ламин А является основным компонентом ядерной пластинки(ламина) и структурным каркасом ядерной оболочки, которая определяет механохимические свойства ядра и участвует в организации хроматина и эпигенетической регуляции. Ламин А также присутствует во внутренней оболочке ядерной мембраны, где выполняет функцию передачи внутриклеточных сигналов и регуляции генов. У пациентов с синдромом Хатчинсона-Гилфорда, имеющих мутацию гена LMNA E145K и у пожилых людей в ядрах накапливается прогерин, в сравнении с молодыми людьми, что указывает на участие ламина А в процессе старения. Синтез прогерина приводит к нарушению



организации хроматина и стабильности генома, экспрессии дефектного матрикса и преждевременному старению клеток.

#### *Цель исследования*

Изучить локализацию ламина А в коже в норме и изменение его содержания у разных возрастов отдельно у мужчин и женщин.

#### *Материалы и методы*

Ламин А выявляли непрямым иммуногистохимическим методом, для этого было использовано 112 кусочков кожи 48 женщин и 64 мужчин: 1-я группа — 19 образцов кожи, 2-я — 24, 3-я — 18, 4-я — 23, 5-я — 28. По каждой группе данных рассчитывали средние арифметические величины (M) и их стандартные ошибки (m). Достоверность влияния возраста и пола на исследуемые параметры кожи оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа. Взаимосвязи пола и параметров кожи оценивали с применением непараметрического рангового корреляционного анализа Спирмена.

#### *Результаты исследования*

Количество фибробластов иммунопозитивных к ламину А уменьшается от 80,1% до 70,04 % у мужчин и от 88,5 % до 80,1 % у женщин от 20 нед беременности до 85 лет. Однофакторный дисперсионный анализ выявил влияние ( $p < 0,01$ ) возраста на изменение количества фибробластов позитивных к ламину А независимо от пола.

#### *Выводы*

Известно, что кожа в процессе старения меняет свои фенотипические признаки: становится тоньше, снижается эластичность, что связано со снижением синтеза коллагена I и уменьшением количества фибробластов и сосудов дермы. Результаты работы позволяют предположить участие ламина А в возраст-зависимом снижении количества фибробластов в равной степени у обоих полов.

## ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ РАЗВИТИЯ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИИ НА IN VIVO МОДЕЛЯХ

**Бороздина Н.А.<sup>1,2</sup>, Несмеянова Е.Н.<sup>1,2</sup>, Паликова Ю.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Филиал института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук; <sup>2</sup>Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный университет»

*natalia.borozdina2016@yandex.ru*

Оксалиплатин – это химиотерапевтический препарат, который является ключевым при лечении распространенного метастатического колоректального рака. Несмотря на его активное действие, наиболее распространенным побочным эффектом лечения оксалиплатином является развитие нейропатии. Хронический неврологический синдром и когнитивные нарушения сохраняются во время и после лечения, отрицательно влияя на качество жизни пациента.

Целью настоящей работы являлась отработка адекватной биомодели и рационализация использования действующих методов оценки периферической нейропатии у мышей, вызванной введением оксалиплатина.

Исследование было проведено на самцах мышей ICR массой ~35 г. Животных содержали в стандартных условиях, одобренных AAALAC International. Формировались экспериментальная и интактная группы, в первой разрабатывалась модель развития периферической нейропатии, вызванной внутрибрюшинным введением оксалиплатина



(доза 2,4 мг/кг вводилась в течение 3 недель пять дней подряд с двухдневным перерывом), второй группе аналогично вводился стерильный физиологический раствор. Проводились тесты, позволяющие судить о состоянии периферической нервной системы у животных: комплекс функциональных тестов, включающий в себя развернутый клинический осмотр животного в клетке, в руках, наблюдения на открытой площадке, сенсорный нейромышечные, физиологические наблюдения; тест сдавливания лапы (альгезиметр), на термальную холодовую гиперчувствительность, механическую аллодинию (филаменты Фон-Фрея). Тесты применяли после серий введения оксалиплатина, начиная с 21 дня эксперимента. Контроль потребления корма и воды и тест на измерение силы передних и задних конечностей (Grip Strength) проводились каждую неделю до конца эксперимента.

У животных, получавших оксалиплатин внутривенно, развились значительные сенсорные изменения: на 21 день после введения оксалиплатина наблюдалось достоверное повышение чувствительности к холоду по сравнению с контрольной группой. В то время как в тесте Grip Strength наблюдалось значительное снижение силы передних конечностей на 7 день во время введения оксалиплатина. Болевые ощущения присутствовали во всех исследуемых группах, но достоверных отличий между группами не обнаружено.

В результате проведенного исследования был сформирован комплекс функциональных тестов, позволяющий максимально охарактеризовать динамику развития периферической нейропатии при ее моделировании *in vivo*. Данная модель может быть применена для изучения фармакологической активности новых соединений и разработки терапевтических стратегий для лечения периферической нейропатии.

## ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ ОБРАТНОЙ СВЯЗИ НА КОРТИКОСПИНАЛЬНУЮ ВОЗБУДИМОСТЬ В ИМК-R300 ПАРАДИГМЕ

**Бредихин Д.О.<sup>1</sup>, Сыров Н.В.<sup>1</sup>, Каплан А.Я.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова

*mr.br1@ya.ru*

Увеличение возбудимости моторной коры человека при работе в определенных парадигмах интерфейса мозг-компьютер позволяет использовать ИМК для реабилитации пациентов с нарушенной двигательной активностью. Традиционно, для обратной связи в ИМК используется зрительный канал связи. Однако, вибротактильная стимуляция также может успешно использоваться в этой роли. Однако, также показано, что неизбирательная стимуляция пальцев приводит к понижению кортикоспинальной возбудимости. Данное исследование было проведено с целью сравнения влияния визуальной, вибротактильной и гибридной обратной связи на кортикоспинальную возбудимость человека.

В течение эксперимента, добровольцы, принимающие участие в исследовании, намеревались согнуть пальцы фантомной кисти с помощью ИМК, основанного на волне R300. В качестве визуальных стимулов выступала подсветка светодиодов, помещенных на каждый из пальцев фантомной кисти. Во время эксперимента испытуемые воспринимали визуальную обратную связь, наблюдая за сгибанием целевого пальца фантомной кисти; вибротактильную обратную связь в виде вибрации пальца, соответствующую целевому фантомной кисти; а также гибридный вариант обратной связи, объединяющий перечисленные выше.

В исследование было вовлечено 19 здоровых испытуемых. Амплитуды вызванных моторных потенциалов (МВП), вызываемых методом транскраниальной магнитной стимуляции, были измерены при помощи электромиограммы и проанализированы. Для





статистического анализа изменений амплитуд МВП использовался тест Вилкоксона. Контрольными значениями были приняты амплитуды МВП, записанные в состоянии покоя испытуемых. Для сравнения значений нормированных амплитуд МВП, зарегистрированных при восприятии различных типов обратной связи, использовался тест Фридмана.

В результате, было показано, что амплитуды МВП статистически значимо возрастали по сравнению с контрольными значениями при восприятии каждого из исследованных типов обратной связи. Кроме того, значимость возрастания амплитуд увеличивается в ряду от вибротактильной до визуальной обратной связи, с промежуточным значением для гибридного типа.

Наиболее вероятно, что меньшее увеличение амплитуд МВП при восприятии вибротактильной обратной связи связано с подключением к передаче сенсорной информации нервных путей, связанных с кратколлатентным афферентным ингибированием (КАИ).

## МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ТУЧНЫХ КЛЕТОК ОРГАНОВ, АКТИВНО НАКАПЛИВАЮЩИХ ЖЕЛЕЗОУГЛЕРОДНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ ПРИ ИХ ВВЕДЕНИИ

**Власова А.А.<sup>1,2</sup>, Храмцова Ю.С.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

*vlasova.9@mail.ru*

На сегодняшний день наночастицы (НЧ) являются одним из широко используемых материалов в фармакологии и медицине и имеют большой спектр применения. Однако появление НЧ в организме может вызывать активный ответ иммунной системы, важным компонентом которой являются тучные клетки (ТК). ТК первыми реагируют на чужеродный объект и выступают в качестве ключевых эффекторов при аллергических и воспалительных процессах. В связи с этим стоит вопрос о возможности использования морфофункциональных показателей ТК в качестве индикатора биосовместимости различных наноматериалов.

Целью исследования является изучение влияния железоуглеродных НЧ на ТК органов, активно их накапливающих.

Работа была выполнена на 4х месячных крысах линии Вистар, которые были разделены на 4 группы: интактные животные и животные, выведенные из эксперимента на 1, 7 и 30 сутки после введения НЧ. Животным однократно в хвостовую вену вводили 0,7 мл суспензии НЧ в модификации FeC (со структурой «ядро-(Fe)-углеродная оболочка»), их концентрация в растворе составляла 5 мг/мл. Затем производили забор органов (селезенка, печень, легкие) и приготовление гистологических препаратов с использованием окраски на толуидиновый синий по стандартным методикам. Концентрацию НЧ в тканях определяли с помощью магнитных измерений на весах Фарадея. На препаратах определяли число ТК, степень их грануляции, средний гистохимический коэффициент и индекс дегрануляции. Сравнение групп выполняли с помощью критерия Манна-Уитни. Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

Анализ данных по биораспределению НЧ показал, что наибольшее содержание НЧ наблюдается в селезенке. Печень и легкие накапливают НЧ в меньшем количестве. С увеличением срока эксперимента количество НЧ снижается во всех органах. Первыми на



введение НЧ реагируют ТК печени, где на 1 сутки происходит снижение их числа. На 7 сутки происходит резкое увеличение функциональной активности ТК, а на 30 сутки все показатели ТК снижаются. ТК легких активируются на 7 сутки эксперимента: происходит снижение их синтетической и увеличение функциональной активности. Данные показатели фиксируются до конца эксперимента. ТК селезенки располагаются в соединительнотканной капсуле, и, не смотря на большое содержание НЧ в этом органе, об их влиянии на ТК мы говорить не можем, поскольку ТК в самом органе не присутствуют.

Наибольшее количество железоуглеродных НЧ фиксируется в селезенке, печени и легких. Реакция ТК на введение НЧ происходит разнонаправлено в исследуемых органах. На ранних сроках после введения НЧ первыми реагируют ТК печени. На 7 сутки происходит активация ТК легких.

## ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ РАЗНЫХ РЕЖИМОВ ПИТАНИЯ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЖИРОВОЙ ТКАНИ МЫШЕЙ ПРИ АНАЭРОБНОЙ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКЕ

**Голованова Л. А.<sup>1</sup>, Ключева Ю. Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», Институт естественных наук и математики, Екатеринбург, Россия

*lyubacheer@gmail.com*

В современном мире ожирение является одним из самых распространенных хронических заболеваний и имеет статус эпидемии практически во всех странах. На сегодняшний день поиск методов, направленных на снижение излишней массы жировой ткани, остается актуальным и востребованным. Целью работы являлось изучение влияния разных режимов питания на морфофункциональное состояние подкожной (ПЖ) и висцеральной (ВЖ) жировой тканей мышц в сочетании с анаэробной физической нагрузкой.

Эксперимент проведен на 15 беспородных мышах. Экспериментальные животные были поделены на три группы: контрольная и первая опытная группы находились на высококалорийном рационе и имели неограниченный доступ к корму, вторая опытная группа получала питание дробными порциями, которые были сбалансированы по КБЖУ. При этом экспериментальные животные двух последних групп выполняли в качестве анаэробной физической нагрузки вис на горизонтальной перекладине за передние конечности до утомления (Гаркави Л. Х.1990). Полученный секционный материал ВЖ и ПЖ был зафиксирован, и с помощью электронно-светового микроскопа были исследованы его морфометрические показатели: площадь адипоцитов, их ядер и количество жировых вакуолей.

Известно, что именно избыток висцерального жира может привести к заболеваниям, ассоциированным с ожирением. В ходе работы было обнаружено, что сочетание физической нагрузки с любым типом режима питания приводит к уменьшению объема жировой массы. Однако сбалансированное питание способствует эффективному уменьшению жировой ткани, причем в большей степени висцеральной. Преимущественно это проявляется в уменьшении объемов самих адипоцитов (в среднем на 11,32% и 73,52% соответственно для ПЖ ткани и ВЖ в сравнении с контролем), тем самым предохраняя организм от воспаления жировой ткани и инсулинорезистентности. Параллельно в этой же группе с уменьшением площадей адипоцитов ВЖ и их жировых вакуолей происходит уменьшение площади ядер самих адипоцитов (на 33,83% и 30,16% в сравнении с контролем и опытной группой без тренировок соответственно), возможно, в результате



повышения чувствительности клеток к проапоптотическим факторам. Вдобавок при физической нагрузке возможен переход подкожной белой жировой ткани в бежевый жир, как один из механизмов предохранения от ожирения и осуществления более интенсивного энергообеспечения.

Таким образом, именно физические упражнения, преимущественно анаэробного характера, и сбалансированный рацион должны составлять основу профилактики и комплексной терапии ожирения.

## ЭФФЕКТ PRO-GLY-PRO НА КАЛЬЦИЕВЫЙ ГОМЕОСТАЗ НЕЙРОНОВ В УСЛОВИЯХ ГЛУТАМАТНОЙ ЭКСАЙТОТОКСИЧНОСТИ ПОСЛЕ МЕХАНИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ IN VITRO

**Гончаров М.М.<sup>1</sup>, Бакаева З.В.<sup>2</sup>, Згодова А.Е.<sup>2,3</sup>, Фролов Д.А.<sup>4</sup>, Лисина О.Ю.<sup>4,5</sup>, Сурин А.М.<sup>2,5</sup>**

<sup>1</sup>Биологический факультет МГУ им. М. В. Ломоносова, г. Москва, Россия;

<sup>2</sup>Лаборатория нейробиологии и фундаментальных основ развития мозга НМИЦ здоровья детей Минздрава России, г. Москва; <sup>3</sup>Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия; <sup>4</sup>Специализированная учебно-научная межвузовская лаборатория «Когерентная фазовая микроскопия» РТУ МИРЭА;

<sup>5</sup>Лаборатория фундаментальных и прикладных проблем боли НИИ общей патологии и патофизиологии, г.Москва, Россия

*misha121097@gmail.com*

Нанесение механических повреждений первичным нейро-глиальным культурам и последующее исследование механизмов гибели клеток в поврежденных участках успешно применяют в качестве *in vitro* модели при изучении процессов, связанных с нейротравмой. При этом показано участие NMDA-рецепторов в процессах, вызывающих последовательное увеличение  $[Ca^{2+}]_i$ , снижение  $\Delta\Psi_m$  и гибель нейронов. Pro-Gly-Pro (PGP) – регуляторный пептид, обладающий нейропротекторными и противовоспалительными свойствами. В настоящей работе исследовано влияние PGP на кальциевый гомеостаз нейронов в условиях глутаматной эксайтотоксичности после механического нарушения целостности первичной нейроглиальной культуры.

Первичные нейроглиальные культуры получали из кортекса 1-2 дневных крысят линии Wistar. Клетки ( $2,5 \times 10^5$ /лунку) выращивали в чашках Петри со стеклянным дном (Eppendorf, Germany), предварительно покрытым полиэтиленгликолем, в стандартных условиях. На четвертый день после посадки (4 DIV) клеточную культуру травмировали путем нанесения прямой царапины вдоль диаметра лунки одноразовым наконечником (Eppendorf, 200  $\mu$ l). PGP (10  $\mu$ M) добавляли сразу после нанесения царапины, затем каждые 24 часа в течение 6-ти дней.

Измерения (10 DIV) внутриклеточной концентрации свободного кальция  $[Ca^{2+}]_i$  и митохондриального потенциала ( $\Delta\Psi_m$ ) выполняли с помощью флуоресцентных зондов (соответственно Fura-FF и Rh123) с использованием системы анализа изображений на базе инвертированного микроскопа и мультиволнового возбуждения и регистрации флуоресценции.

Под воздействием токсической дозы глутамата (Glu, 100  $\mu$ M) изменения  $[Ca^{2+}]_i$  и  $\Delta\Psi_m$  были выражены сильнее в клетках нейроглиальных культур, которые ранее были подвергнуты механическому травмированию, по сравнению с контрольными. Уменьшилась доля клеток, восстановивших исходный  $\Delta\Psi_m$  ( $p < 0,05$ ), менее выраженным стал процесс восстановления  $\Delta\Psi_m$  ( $p < 0,01$ ) после отмены Glu. Предварительная инкубация



травмированных культур с PGP приводила к снижению  $[Ca^{2+}]_i$  на 11,6% ( $p < 0,01$ ) и  $\Psi_m$  на 26,3% ( $p < 0,0001$ ) на фоне токсической дозы Glu, а также увеличению lag-периода развития отложенной кальциевой дизрегуляции (на 31,2%,  $p < 0,0001$ ). В постглутаматный период эти клетки эффективнее восстанавливали  $[Ca^{2+}]_i$  (на 17,6%,  $p < 0,001$ ) и  $\Psi_m$  (на 33,8%,  $p < 0,0001$ ).

Таким образом, пептид PGP (10 мкМ) может ослаблять эксайтотоксическое действие Glu (100 мкМ) на клетки первичной нейроглиальной культуры после механической травмы.

Исследование поддержано грантами РФФИ 17-15-01487 и КОМФИ 17-00-00106

## РОЛЬ ГЛИИ В ПАТОГЕНЕЗЕ НЕЙРОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА

**Горякина Т.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина

*tanyagoryakina@mail.ru*

Глиальные клетки составляют большую часть клеток головного мозга, отвечают за развитие нервной системы и ее функционирование. Длительное и сильное воздействие повреждающих факторов на центральную нервную систему приводит к нейровоспалению. При этом происходит активация микроглии и астроцитов, продукция воспалительных медиаторов в головном мозге, приводящих к повреждению гематоэнцефалического барьера и гибели клеток [3].

При умеренном уровне стресса нейровоспаление имеет адаптивное значение [1]. В патогенезе нейровоспаления и нейродегенерации активированная глия оказывает как деструктивные (цитотоксические повреждения нейронов, их гибель), так и защитные эффекты (цитотоксические молекулы убивают инфекционные агенты, мутировавшие или инфицированные вирусом нейроны) для организма [4]. При нейродегенерации имеют место митохондриальная дисфункция, окислительный стресс с накоплением продуктов окисления липидов, нарушение взаимодействий нейронов и глии, изменение проницаемости гематоэнцефалического барьера; результатом чего является клеточная гибель [3].

Микроглиоциты и астроциты продуцируют воспалительные медиаторы и цитотоксические молекулы, такие как активные формы кислорода и азота в ответ на активацию НАДФН-оксидазы; участвуют в активации протеаз, в процессе фагоцитоза [2]. На поверхности клеток микроглии усиливается экспрессия молекул главного комплекса гистосовместимости 2 класса и провоспалительных гликопротеинов (СБ40, СБ80, СБ86), которые привлекают иммунокомпетентные клетки извне. При длительном сохранении нейровоспаления фагоцитирующие микроглиальные клетки могут образовывать кластеры вокруг нейронов, вызывая их повреждение и последующую гибель [3].

1. Piskunov A., Stepanichev M., Tishkina A., et al. Chronic combined stress induces selective and long-lasting inflammatory response evoked by changes in corticosterone accumulation and signaling in rat hippocampus // *Metabolic Brain Disease*. 2016. V. 31. N 2. p. 445–454.

2. Григорьев Е. В. и соавт. Нейровоспаление в критических состояниях: механизмы и протективная роль гипотермии // *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2016. №3. С. 88-96

3. Малиновская Н. А. и соавт. Молекулы-маркеры активации глии при нейровоспалении: новые возможности для фармакотерапии нейродегенерации // *Сибирское медицинское обозрение*. 2014. №5 (89). С. 5-15



4. Малиновская Н. А. и соавт. Про- и противовоспалительный фенотип клеток микроглии и астроглии при нейродегенерации // Цитокины и воспаление. 2016. Т. 16. № 1–2. С. 20–26

## ИЗМЕНЕНИЕ АФК-ГЕНЕРИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ МАКРОФАГОВ ЗДОРОВЫХ ЖИВОТНЫХ И ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЕЙ В СРЕДЕ, ОБРАБОТАННОЙ НИЗКОЧАСТОТНЫМ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫМ ИЗЛУЧЕНИЕМ.

**Даабуль К.С.<sup>1</sup>, Наумов А.А.<sup>2</sup>, Поцелуева М.М.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Кафедра профпатологии и производственной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Москва; <sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН (ИТЭБ РАН), Пущино

*dr\_kinda@mail.ru*

В настоящее время в научной литературе активно обсуждается роль клеток неспецифического иммунитета в динамике развития опухолевого процесса в организме животного. Клеточную составляющую данного типа иммунитета представляют полиморфноядерные лейкоциты (в основном нейтрофилы) и тканевые макрофаги. Основным оружием этих клеток является продукция активных форм кислорода (АФК). Недостаточно ясным остается вопрос, в какой степени цитотоксическое действие АФК проявляется по отношению к асцитным опухолям. В связи с этим на модельной системе опухолевого роста, которая представлена ростом асцитной карциномы Эрлиха в брюшной полости мышей линии CD, была исследована хемилюминесцентным методом динамика АФК-генерирующей активности макрофагов. Клетки были выделены в градиенте плотности Percoll/NaCl из асцитической жидкости опухоленосителя. Установлено, что с ростом опухоли АФК-генерирующая активность макрофагов резко падает, и они перестают выполнять свою функцию. Особое внимание в экспериментальных и теоретических работах уделяется поиску веществ и физико-химических воздействий, модулирующих активность клеток, участвующих в противостоянии с опухолью. Предметом дискуссий является действие ЭМИ на активность иммунокомпетентных клеток. Как правило, исследуется действие СВЧ ЭМИ на водную фазу, в которой образуется пероксид водорода, активирующий фагоцитирующие клетки. Целью данной работы было исследование действия воды, обработанной низкочастотным ЭМИ (патент №RU2317820), на АФК-генерирующую активность перитонеальных макрофагов здоровых животных и опухоленосителей с растущей асцитной карциномой Эрлиха. Исследования проводили методом люминолзависимой хемилюминесценции. Активация макрофагов проводилась с помощью двух стимулов: – форбол-1,2 миристан-1,3 ацетата (РМА) и липополисахарида (LPS). В опытах *in vitro* установлено, что обработанная вода достоверно увеличивала продукцию АФК перитонеальных макрофагов опухоленосителей в ответ на стимуляцию LPS, что свидетельствует о влиянии активированной воды на сигнальную систему фагоцитов. Повышение АФК-генерирующей активности перитонеальных макрофагов не является результатом действия экзогенного пероксида водорода, т.к. его концентрация в обработанной воде ( $4,8 \pm 3,4 \times 10^{-9}$  моль/л) была на два порядка меньше, чем в дистиллированной воде ( $4,8 \pm 1,6 \times 10^{-7}$  моль/л).

Таким образом, снижающийся цитотоксический потенциал перитонеальных макрофагов, находящихся непосредственно в зоне роста асцитной опухоли, возможно увеличить, если водная фаза будет оптимизирована.



## СОСТОЯНИЕ СОСУДОВ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА КОЖИ В УСЛОВИЯХ ЗАЖИВЛЕНИЯ ЛИНЕЙНОЙ РАНЫ

**Жданова А.В.<sup>1</sup>, Петрова И.М.<sup>1</sup>, Высокова О.А.<sup>1</sup>, Хацко С.Л.<sup>1</sup>, Жданов А.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина  
Институт естественных наук и математики Екатеринбург, Российская Федерация

*alena.zhdanova.1996@mail.ru*

Известно, что система микроциркуляторного русла играет важную роль в процессах регенерации тканей. Нами было изучено состояние микроциркуляторного русла (МЦР) кожи в условиях заживления линейной раны. В качестве экспериментальных животных использовали лабораторных крыс, самцов, которым моделировали линейную кожную рану, объединенных по 6 голов в 3 группы: контроль, воздействие вазелина, воздействие 1,2,3-триазоло-1,3,4-тиадиазина накожно по 0,5г, у которого ранее был обнаружен ранозаживляющий эффект. Животных выводили из эксперимента на 7-е и 14-е сутки. Для гистологического исследования кожи использовали стандартные методики с изготовлением срезов 3 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Оценку проводили с помощью светового микроскопа при увеличении в 400 раз. Параметры сосудов микроциркуляторного русла рассчитывали на поле зрения с помощью программы TopView. Статистическую обработку результатов проводили в программах «Microsoft Excel» и «Статистика 6.0», используя критерий Манна – Уитни.

На 7-е сутки моделирования линейной раны во всех группах наблюдается выраженная воспалительная реакция с вовлечением сосудов МЦР. В дерме увеличивается доля сосудов, составляющая  $17,2 \pm 0,5\%$ ,  $13,3 \pm 1,2\%$ ,  $18,9 \pm 2,9\%$  для групп «контроль», «вазелин» и «триазол» соответственно. Данный показатель достоверно выше нормального физиологического, варьирующего в пределах 8-10%. Это явление связано со значительным увеличением площади сосудов МЦР в зоне повреждения, что можно рассматривать как компенсаторно-приспособительную реакцию, направленную на интенсификацию миграции клеток, обладающих защитными свойствами. Действительно, это подтверждается наличием в дерме полнокровных сосудов, а также сосудов с явлениями стаза и диапедеза, число которых в группах «контроль», «вазелин» и «триазол» составило  $6,6 \pm 0,8$ ,  $6,6 \pm 0,2$  и  $6,4 \pm 0,3$  соответственно.

На 14-е сутки в репаративном процессе наблюдается смена фазы воспаления фазой пролиферации. Воспалительные реакции носят умеренный характер, что отражается на состоянии МЦР. Удельная доля сосудов уменьшается  $5,9 \pm 0,4$  (контроль),  $7,4 \pm 0,5$  (вазелин),  $4,5 \pm 0,4$  (триазол) в связи с уменьшением площади сосудов, а также уменьшением общего числа сосудов МЦР. Отмечалось существенное уменьшение числа полнокровных сосудов и сосудов с явлениями стаза и диапедеза до следующих значений:  $5,8 \pm 0,8$ ,  $6,2 \pm 1,1$  и  $5,6 \pm 0,6$  соответственно.

Таким образом, при использовании триазолтиадиазина наблюдается более умеренная воспалительная реакция даже на начальных фазах регенераторного процесса, что отражается на состоянии сосудов МЦР кожи очага повреждения.



## ВЛИЯНИЕ МУТАЦИИ LETHAL YELLOW ГЕНА AGOUTI ( $A^Y$ ) И НОКАУТА ГЕНА $Zbtb33$ НА НЕРВНУЮ СИСТЕМУ И ПОВЕДЕНИЕ МЫШЕЙ

**Изьюров А.Е.**

ФГБОУ ВПО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет»

*a.iziurov@g.nsu.ru*

Депрессивные расстройства и ожирение являются одними из наиболее распространённых проблем в современном обществе. Они способствуют возникновению и развитию других заболеваний. Большинство исследователей считают одной из причин депрессии дисфункцию серотониновой (5-НТ) системы мозга, поскольку она является мишенью для типичных антидепрессантов. Было установлено, что нокаут гена  $Zbtb33$ , локализованного в X-хромосоме, снижает депрессивно-подобное поведение мышей. Мутация *lethal yellow* в гене *Agouti* ( $A^Y$ ) приводит к его эктопической экспрессии. Белок *agouti* ингибирует MCR4 рецептор меланокортина, что вызывает ожирение. Было показано, что мутация  $A^Y$  усиливает депрессивно-подобное поведение.

Целью работы было изучение взаимодействия мутации  $A^Y$  и нокаута гена  $Zbtb33$ - на выраженность физиологических признаков и поведение мышей.

Самки  $a/a Zbtb33+/-$  были скрещены с самцами  $A^Y/a$ . Было получено потомство, в котором были представлены четыре генотипа самцов:  $a/a Zbtb33+$  (wt),  $a/a Zbtb33-$ ,  $A^Y/a Zbtb33+$ ,  $A^Y/a Zbtb33-$ . Частота генотипов не различались по критерию  $\chi^2$ . В возрасте 12 недель поведение самцов всех генотипов исследовали в тестах «открытое поле», «приподнятый крестообразный лабиринт», «принудительное плавание». Затем у них определяли жировую массу в томографе EchoMRI-100H и в их головном мозге определяли уровень 5-НТ и его метаболита 5-НТМ с помощью высоко эффективной жидкостной хроматографии. Было выявлено влияние взаимодействия между  $A^Y$  и  $Zbtb33$ - на жировую массу. Нокаут гена  $Zbtb33$  еще сильнее её увеличивал у мышей  $A^Y/a Zbtb33-$ : Мыши  $A^Y/a Zbtb33-$  характеризовались повышенной исследовательской активностью по сравнению с животными других генотипов. Мутация  $A^Y$  увеличивала депрессивно-подобное поведение и уровень 5-НТ в коре. Однако нокаут гена  $Zbtb33$  не влиял на эти показатели.

Таким образом, впервые показано участие гена  $Zbtb33$  в регуляции веса и жировой массы у мышей. Исследование поддержано проектом № 0324-2019-0041.

## РАДИОПРОТЕКТОРНЫЕ И РАДИОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА НАНОЧАСТИЦ ФТОРИДА ЦЕРИЯ НА ПРИМЕРЕ КУЛЬТУР КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

**Каменских К.А.<sup>1</sup>, Попов А.Л.<sup>1</sup>, Ермаков А.М.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

*ao\_ermakovy@rambler.ru*

В настоящее время показано, что нанокристаллический фторид церия (наноцерий) обладает биологической активностью, обусловленной его уникальной окислительно-восстановительной активностью в биологических средах. Это свойство наноцерия связано с высоким уровнем нестехиометрии его поверхности в нанокристаллическом состоянии за счет вакансий в кристаллической решетке и переходной валентностью атомов церия. Причем в зависимости от условий внешней среды он может проявлять восстановительные



(антиоксидантные) и окислительные свойства (прооксидантные). Эти особенности позволяют в одних случаях наночерию инактивировать, а в других случаях генерировать широкий спектр АФК ингибируя или вызывая состояние окислительного стресса в клетке. Можно предположить, что наночерий в случае воздействия на клетки ионизирующего излучения будет выступать как радиопротектор или радиосенсибилизатор свойств в зависимости от окружающей среды. Уникальная биологическая активность, низкая токсичность и высокая степень биосовместимости позволяет рассматривать его как один из наиболее перспективных неорганических материалов для биомедицинских целей. Цель данной работы – исследовать возможные радиопротекторные свойства наночастиц фторида церия на примере культивируемых клеток. В работе были использованы культуры мезенхимальных стволовых клеток (МСК) пульпы зуба человека и трансформированные клетки остеосаркомы MNNG/hos. Клетки облучали рентгеном в дозе 15 Гр в присутствии наночастиц фторида церия. Далее наблюдали динамику роста клеток и метаболическую активность методом МТТ теста. В результате исследования было обнаружено, что наночерий в концентрации  $10^{-3}$ М способен стимулировать рост МСК и при облучении рентгеном способствует защите клеток – они сохраняют нормальную скорость пролиферации и метаболическую активность. В случае трансформированных клеток воздействие рентгеновского излучения в присутствии наночерия напротив, приводило к более значительному замедлению скорости роста культуры. Таким образом, нами установлено, что на уровне МСК наночастицы фторида церия выступали в роли радиопротектора, тогда как в случае с трансформированными клетками наночерий проявлял радиосенсибилизирующие свойства.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-34-00820 мол\_а.

#### СВОБОДНОРАДИКАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ КРОВИ КРЫС МОЛОДОГО И ЗРЕЛОГО РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА С ХОЛАНГИОЦЕЛЛЮЛЯРНЫМ РАКОМ РС-1

**Кашина А.Ю.<sup>1</sup>, Плеханова Е.С.<sup>1</sup>, Потапов А.Л.<sup>1</sup>, Щербатюк Т.Г.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО "Приволжский исследовательский медицинский университет"  
Минздрава России

*kasanyutka@yandex.ru*

Известно, что течение свободнорадикальных процессов изменяется по мере развития организма. Также показано, что неоплазия вносит дисбаланс между про- и антиоксидантной системами. Однако остается открытым вопрос о степени влияния опухолевого роста на динамику свободнорадикальных процессов в зависимости от возраста. Эти данные необходимо учитывать как при планировании экспериментальных работ, так и при назначении противоопухолевой терапии.

Целью работы стало выявление особенности влияния канцерогенеза на активность про- и антиоксидантной систем крови крыс разных возрастных групп репродуктивного периода.

Исследование выполнено на белых нелинейных крысах, самках молодого (5-10 месяцев) и зрелого (11-18 месяцев) репродуктивного возраста с подкожно перевитым холангиоцеллюлярным раком, штамм РС-1 (РОНЦ им. Н.Н.Блохина, г.Москва), с разным сроком развития неоплазии (N=31). Стоит отметить, что наблюдение за ростом РС-1 осуществлялось на протяжении 2 лет. Для интегральной оценки состояния свободнорадикальных процессов в организме определялась общая активность про- и антиоксидантных систем ( $I_{\text{max}}$  и  $\text{АОА}=1/S$ ) в плазме крови методом индуцированной хемилюминесценции (Кузьмина Е.И. с соавт., 1983).





В ходе исследования отмечена неоднородность развития перевивной опухоли у самок молодого (1) и зрелого (2) репродуктивного возраста. Для большинства крыс был характерен средний темп развития РС-1: у первой группы животных с 28 по 64 сутки после перевивки масса опухоли увеличивалась с 18 до 63,5г, а у второй с 21 по 54 сутки – с 22 до 60г. Однако выделялись животные с более медленным ( $m_{\text{tumor}1}=20\text{г}$  за 51 сутки и  $m_{\text{tumor}2}=27-56\text{г}$  за 56-77 суток) и более интенсивным развитием ( $m_{\text{tumor}1}=74-100\text{г}$  за 48-52 суток и  $m_{\text{tumor}2}=73-120\text{г}$  за 48-66 суток) неоплазии. При сравнении параметров хемилюминесценции плазмы крови молодых и зрелых самок со средним темпом роста опухоли наблюдались расхождения в изменении свободнорадикальной активности по мере прогрессирования РС-1. Если при небольших размерах опухоли ( $m_{\text{tumor}}$  до 37г) различия между возрастными группами не были выявлены, то при массе неоплазии более 42г у зрелых крыс наблюдались на 20% выше  $I_{\text{max}}$  ( $p=0,046$ ) и на 34% ниже АОА ( $p=0,010$ ) по сравнению с молодыми.

Таким образом, выявлены индивидуальные особенности интенсивности развития перевивной опухоли РС-1. При средней скорости роста неоплазии показаны различия в изменении активности про- и антиоксидантной систем организма крыс с опухолью на более поздних стадиях в зависимости от возраста в рамках репродуктивного периода.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 19-02-00667/19.

#### СЕЗОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ И ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ЛИМФОЦИТАХ КРОВИ У СУСЛИКОВ.

**Королева М.А.<sup>1</sup>, Захарова Н.М.<sup>1</sup>, Ячкула Т.В.<sup>1</sup>, Хундерякова Н.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия; <sup>2</sup> ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

*nkhunderyakova@gmail.com*

Для современного изучения адаптации и функциональных резервов организма актуально исследование биоэнергетики и особенностей функционирования митохондрий в теплое и холодное время года. Мы применили модельную систему зимоспящих (гибернирующих) якутских сусликов для измерения активности ключевого фермента митохондрий сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и цитозольного фермента гликолиза лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в теплое время года (летом) -период бодрствования и в холодное время (зима) – глубокой спячки. Для измерения активности СДГ и ЛДГ мы использовали Цито-биохимический метод измерения при восстановлении нитро-синего тетразолия при окислении 5мМ Сукцината активность СДГ и 5мМ Лактата активность ЛДГ в лимфоцитах крови иммобилизованных на стекле. Соотношение активности ЛДГ/СДГ мы рассматривали как интегральный показатель общего энергообмена в иммунных клетках крови.

В нашей работе было показано увеличение активности СДГ в митохондриях и ЛДГ в цитозоле в лимфоцитах крови у сусликов в летнее время, в период физиологической активности  $n=7$ , при температуре тела  $+38^{\circ}\text{C}$  и сильное снижение активности обоих дегидрогеназ в период глубокой спячки - физиологического покоя  $n=5$  при снижении температуры тела до  $+4^{\circ}\text{C}$ . Особенно четко видны различия между активными и спящими сусликами по соотношению ЛДГ/СДГ. Так при активном состоянии в летний период ЛДГ/СДГ в диапазоне от 4 до 12у.е., а в период спячки сильно снижен от 0,2 до 1,0 у.е. Активности митохондрий и гликолиза в лимфоцитах крови в период физиологической активности очень высокая, а в период спячки снижаются до



минимальных величин. Поэтому активности СДГ и ЛДГ могут быть чувствительными маркерами адаптации физиологического состояния организма у животных.

## КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПЕРИНЕЙРОНАЛЬНЫХ СЕТЕЙ В РАЗВИТИИ И ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОМ СОСТОЯНИИ

**Кочнева А.А.<sup>1</sup>, Мельникова А.А.<sup>1</sup>, Липачев Н.С.<sup>2</sup>, Арнст Н.И.<sup>1</sup>, Двоглазова А.С.<sup>1</sup>, Жигалов А.<sup>2</sup>, Яаалиноя Х.<sup>3</sup>, Кулесская Н.<sup>2</sup>, Мавликеев М.О.<sup>1</sup>, Раувала Х.<sup>2</sup>, Киясов А.П.<sup>1</sup>, Павельев М.Н.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Институт Фундаментальной Медицины и Биологии КФУ, Казань; <sup>2</sup>Центр Нейронаук, Университет Хельсинки, Финляндия; <sup>3</sup>Институт биотехнологии, Университет Хельсинки, Финляндия

*kochneva.a.a@yandex.ru*

Перинейрональная сеть (PNN) – это высоко структурированная часть внеклеточного матрикса ЦНС, регулирующая синаптическую пластичность и широкий спектр патологических состояний, в том числе посттравматическая регенерация и эпилепсия.

В нашей работе мы изучили гистологические срезы, окрашенные агглютинином *Wisteria floribunda* для количественной оценки размера PNN и обогащенность хондроитин сульфатами (ХС) в головном и спинном мозге мыши. Срезы соматосенсорной коры исследованы во время периода образования PNN в 14, 21 и 28 постнатальные дни. Размер PNN одной клетки и насыщенность хондроитин сульфатами были количественно оценены для всех слоев коры и, особенно, для IV коркового слоя, который имеет самую высокую плотность PNN-позитивных нейронов. Мы показываем, что интенсивность окрашивания хондроитин сульфат протеогликанов (ХСПГ) возрастает между 14 и 28 постнатальными днями, в то время как размер PNN остается неизменным. Незрелые PNN демонстрируют узкий пик распределения интенсивности окрашивания ХСПГ, тогда как созревание PNN сопровождается крупным расширением гистограммы распределения интенсивности ХСПГ для PNN единичной клетки в сторону более высоких значений.

Также мы рассмотрели посттравматические изменения экспрессии PNN в 6 и 7 ламинах шейного отдела СМ после гемисекции. Мы показываем повышение содержания ХС на расстоянии 1,6-1,8 мм роstralно от места травмы и повышение плотности PNN-содержащих клеток на расстоянии 0,4-1,2 мм каудально от места травмы. Более того, мы показываем снижение площади PNN единичной клетки на расстоянии 200 мкм каудально от места травмы, предполагая, что внеклеточный матрикс перинейрональных сетей принимает участие в перестройке ткани после травмы в СМ. Таким образом, наши результаты демонстрируют новые представления о динамике структуры PNN в развивающейся и посттравматической ЦНС.



## ВЛИЯНИЕ МИОПАТИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ ТРОПОМИОЗИНА НА КАЛЬЦИЕВУЮ РЕГУЛЯЦИЮ АКТИН-МИОЗИНОВОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ

**Кочурова А.М.<sup>1,2</sup>, Берг В.Ю.<sup>2</sup>, Кулаков Т.<sup>1,2</sup>, Копылова Г.В.<sup>2</sup>, Щепкин Д.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>УрФУ имени Первого Президента России Б.Н. Ельцина; <sup>2</sup>Институт иммунологии и физиологии УрО РАН

*kochurova.a.m@mail.ru*

Тропомиозин (Трм) – актин-связывающий белок, вместе с тропонином участвующий в  $Ca^{2+}$  регуляции сокращения поперечнополосатых мышц. В быстрых скелетных мышцах экспрессируются две изоформы Трм:  $\alpha$  (Трм1.1) и  $\beta$  (Трм2.2), которые могут образовывать  $\alpha\alpha$ - и  $\beta\beta$ -гомодимеры, а также  $\alpha\beta$ -гетеродимеры Трм. В мышцах присутствуют  $\alpha\alpha$ -Трм и  $\alpha\beta$ -Трм, так как  $\beta\beta$ -Трм нестабилен и не существует в физиологических условиях [Lehrer *et al.*, 1987]. Мы сравнили влияние миопатических мутаций Q147P и K49del (делеция Lys49) в  $\alpha\beta$ -Трм и  $\beta\beta$ -Трм на  $Ca^{2+}$  регуляцию актин-миозинового взаимодействия.

Используя *in vitro* подвижную систему, мы проанализировали  $Ca^{2+}$  зависимость скорости скольжения тонких филаментов, реконструированных из актина, тропомиозина и тропонина, по миозину с помощью уравнения Хилла:  $V = V_{max} \times (1 + 10^{h(pCa - pCa_{50})})^{-1}$ , где  $V$  и  $V_{max}$  – скорость скольжения тонких филаментов и их максимальная скорость при насыщающей концентрации  $Ca^{2+}$ ;  $pCa_{50}$  – значение  $pCa$ , при котором достигается половина  $V_{max}$ ;  $h$  – коэффициент Хилла. Миозин, актин и тропонин выделяли из *m. psoas* кролика. Трм экспрессировали в *E. coli* [Bershitsky *et al.*, 2019].

Обнаружено, что K49del уменьшает  $Ca^{2+}$  чувствительность ( $pCa_{50}$ ) и не влияет на  $V_{max}$  филаментов с  $\beta\beta$ -Трм, но не влияет на  $Ca^{2+}$  чувствительность филаментов и увеличивает  $V_{max}$   $\alpha\beta$ -Трм. Q147P мутация уменьшает  $V_{max}$  и увеличивает кальциевую чувствительность филаментов с  $\beta\beta$ -Трм, но не влияет на характеристики зависимости  $pCa$ -скорость  $\alpha\beta$ -Трм. Таким образом, результаты указывают на то, что  $\alpha\beta$ -гетеродимер является более подходящей моделью для изучения эффектов миопатических мутаций в  $\beta$ -цепи Трм, чем  $\beta\beta$ -гомодимер, который практически не существует в скелетных мышцах человека.

Работа выполнена при поддержке Программы АААА-А18-118020590135-3 с использованием оборудования ЦКП ИИФ УрО РАН.

## МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ТРОМБОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ВЫСОКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ

**Макаров М.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ГБУЗ НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗ г. Москвы

*mcsimmc@yandex.ru*

Аскорбиновая кислота (АсК) широко используется в качестве антиоксиданта при неотложных состояниях, сопровождающихся системной воспалительной реакцией, нарушением работы сосудов, на фоне развития злокачественных опухолей. Введение АсК в кровь снижает агрегационную активность тромбоцитов как *in vitro*, так и *in vivo*. С другой стороны, высокие концентрации АсК вызывают смещение редокс-потенциала среды в отрицательную область, при которой возможна спонтанная активация тромбоцитов. Проведенный нами морфофункциональный анализ показал, что



концентрации АсК от 0,1 до 0,5 мМ не вызывали видимых изменений в структуре тромбоцитов и не влияли на их адгезивную активность, *in vitro* наблюдалось резкое снижение агрегационной активности тромбоцитов. Однако если при 0,1-0,3 мМ АсК все тромбоциты с гранулами формировали ламеллу в процессе адгезии, то при 0,5 мМ АсК только у 10% адгезирующих клеток отмечен интенсивный рост ламеллы. При концентрации АсК 1мМ и выше адгезирующие тромбоциты с гранулами формировали только отдельные тонкие псевдоподии. В условиях 1-3 мМ АсК в течение 10-20 мин при 37°C отмечено образование в плазме мелких тромбоцитарных агрегатов диаметром до 10 мкм, которые затем дезагрегировали, через 30 мин содержание тромбоцитов с гранулами при 1 мМ АсК снижалось на 20-30%, при 2-3 мМ АсК – на 30-50%. При дальнейшей экспозиции с 2-3 мМ АсК тромбоциты продолжали дегранулировать и полностью теряли гранулы через 30-40 мин. При 5мМ АсК уже через 10 мин тромбоциты образовывали многочисленные псевдоподии, характерные для стадии необратимой активации, не содержали гранул и не проявляли адгезивной активности. Таким образом, 2-5 мМ АсК вызывали спонтанную и необратимую активацию тромбоцитов, при 1 мМ АсК активация была частичной. С другой стороны, в присутствии 1 мМ АсК отмечен эффект стабилизации гранул в неактивированных тромбоцитах – такие клетки при нанесении на высоко адгезивный субстрат не образовывали тесных конгломератов и не формировали ламеллу, при этом даже через 2 часа экспозиции адгезирующие тромбоциты сохраняли часть гранул в своем составе. При адгезии на стекле сохранность общего объема гранул в тромбоцитах составила 86% через 1 час экспозиции и 74% через 2 часа; при адгезии на коллагене 1-го типа сохранность гранул составила 45% и 31% соответственно. Таким образом, в присутствии высоких доз АсК морфофункциональный статус тромбоцитов претерпевает определенные изменения, которые могут как подавлять, так и стимулировать секрецию гранул тромбоцитами.

## УРОВЕНЬ BDNF И GDNF В КРОВИ И ЦНС КРЫС С ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМОЙ

**Михайлов Н.Д.<sup>1</sup>, Ивлева И.С.<sup>2</sup>, Муружева З.М.<sup>2</sup>, Пестерева Н.С.<sup>2</sup>, Карпенко М.Н.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого (СПбПУ);

<sup>2</sup>ФГБНУ "Институт экспериментальной медицины"

*Nikitosina2008@mail.ru*

Оценка тяжести последствий черепно-мозговой травмы (ЧМТ) является важнейшей проблемой современного здравоохранения. Обсуждается, что прогностической ценностью при ЧМТ умеренной выраженности обладают нейротрофический и глиальный ростовые факторы (BDNF и GDNF). Однако данных о сопряжении содержания BDNF и GDNF в области повреждения (ЦНС) и в крови недостаточно. Изучение этого вопроса стало целью данной работы.

Исследование выполнено на 10 самцах крыс Вистар (питомник Рапполово, масса тела 220±25 г), разделённых на две группы: 1 группа – контрольные крысы; 2 группа – крысы с закрытой ЧМТ умеренной выраженности, нанесённой путем падения груза массой 80 г с высоты 80 см на боёк площадью 4 мм<sup>2</sup>, установленный в левой теменной области. Через 10 дней после нанесения ЧМТ из хвостовой вены собирали кровь, отделяли плазму. Затем животных подвергали эвтаназии, извлекали мозг, иссекали теменную кору из области повреждения. Ткань гомогенизировали в буфере 20 мМ трис, 150 мМ NaCl, 0,1% тритон X-100, 5 мМ ЭДТА, 1мМ ФМСФ, рН 7,6, центрифугировали 20 минут при



4°C, 5000g и отбирали надосадок. Образцы хранили при -70°C. Концентрацию BDNF/GDNF в плазме крови и гомогенате клеток ЦНС определяли методом ИФА с использованием коммерческого набора реактивов Rat BDNF/GDNF ELISA Kit (ab213899, ab 213901); процедуру проводили в полном соответствии с инструкцией производителя.

Оказалось, что уровень GDNF в ЦНС у 1 группы составил  $(122,3 \pm 4,8)$  пг/мг белка и не отличался от 2 группы –  $(126,8 \pm 3,0)$  пг/мг белка,  $p=0,42$ ; аналогично, содержание GDNF в крови не отличалось у 1 и 2 группы –  $(86,3 \pm 0,9)$  пг/мл и  $(95,0 \pm 7,6)$  пг/мл соответственно,  $p=0,38$ ; отношения содержания GDNF в ЦНС к крови также не различались в группе 1 –  $1,42 \pm 0,04$  и в группе 2 –  $1,37 \pm 0,13$ ,  $p=0,757$ . Уровень BDNF в ЦНС у 1 группы составил  $(8,2 \pm 0,5)$  пг/мг белка против  $(17 \pm 2,3)$  пг/мг белка во 2 группе,  $p=0,02$ , следовательно, нанесение ЧМТ привело к 2-х кратному увеличению содержания BDNF в области повреждения; уровень BDNF в крови у 1 группы составил  $(33,2 \pm 0,3)$  пг/мл и не отличался от 2 группы  $(36,5 \pm 2,9)$  пг/мл,  $p=0,38$ ; отношение содержания BDNF в ЦНС к крови в 1 группе составило  $0,25 \pm 0,02$  против  $0,51 \pm 0,09$  во 2 группе,  $p=0,067$ . Отношение содержания GDNF к BDNF в ЦНС животных с ЧМТ было снижено: у 1 группы составило  $15,09 \pm 0,97$  против  $7,62 \pm 1,29$  у 2 группы,  $p=0,008$ . Данное изменение было обусловлено повышением уровня BDNF в области повреждения. Отношение содержания GDNF к BDNF в крови у двух групп было одинаково и составило 2,6.

## ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОГО СОЕДИНЕНИЯ 6ND НА МОДЕЛЯХ ВОСПАЛЕНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

**Несмеянова Е.Н.<sup>1,2</sup>, Бороздина Н.А.<sup>1,2</sup>, Кудрявцев Д.С.<sup>3</sup>, Цетлин В.И.<sup>3</sup>, Иванов И.А.<sup>3</sup>, Паликов В.А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Волгоградский государственный университет; <sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Филиал института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук; <sup>3</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук

*elena.nesmeyanova.97@mail.ru*

Воспаление и боль являются частыми неспецифическими проявлениями многих заболеваний. В последнее время направлено много усилий на разработку альтернативных и более селективных противовоспалительных методов лечения.

Целью настоящей работы являлось изучение влияния низкомолекулярного соединения 6ND на моделях воспаления с разной этиологией.

Исследование проводилось на самцах мышей ICR. Животные находились в стандартных условиях, одобренных AAALAC International. В эксперименте применялись модели локального воспаления с помощью интраплаттарного введения смеси CFA с физраствором (1:1) и 1% каррагинина (20 мкл и 30 мкл соответственно). В модели CFA формировались группы животных: интактные; контрольные (CFA и физраствор) и 3 группы с введением соединения 6ND в дозах 1 мг/кг, 0,5 мг/кг и 0,1 мг/кг. Через сутки измеряли диаметр лапы, далее вводилось соединение 6ND. Через 2, 6, 12, 24 и 48 часов измеряли диаметр подушечки задней лапы животного (противовоспалительный эффект) и тест на оценку болевой чувствительности с помощью «Hot Plate».

При воспалении с каррагином формировались группы: интактная и с исследуемым веществом (внутримышечное введение 0,5 мг/кг). Проводилось измерение диаметра задних правых лап животных, и последующее введение каррагинина. Через 1



час вводилось соединение 6ND. Выраженность воспаления оценивали спустя 3 часа повторным измерением диаметра лапы и тестами сдавливания лапы (альгезиметр) и тестом на аллодинию (филаменты Фон-Фрея).

В модели CFA противовоспалительный эффект наблюдался при введении исследуемого соединения в дозе 0,5 мг/кг. Через 48 часов диаметр воспаленной лапы у контрольной группы был на 59% больше, чем у группы, получающей соединение 6ND в дозе 0,5 мг/кг. Анальгезирующая активность группы с дозой соединения 0,1 мг/кг проявилась в 2 раза сильнее, чем у контроля. Латентное время отдергивания лапы от термостатируемой поверхности у группы животных, получающей соединение 6ND в дозе 0,1 мг/кг, было в 2 раза больше, чем у контрольной группы, что свидетельствует о выраженной анальгетической активности.

В модели с каррагенином наблюдалось увеличение диаметра задних лап у контрольных животных по сравнению с животными, которым вводилось исследуемое вещество. В тестах на аллодинию и анальгезию реакция животных экспериментальной группы была ниже, чем у контроля на 44% и 36% соответственно.

С помощью моделей воспаления разной этиологии был изучен эффект низкомолекулярного соединения 6ND. В дозе 0,5 мг/кг соединение лучше проявляет противовоспалительный эффект, а в дозе 0,1 мг/кг больше выражена анальгетическая активность.

## ХАРАКТЕРИСТИКА КЛЕТОЧНОЙ МОДЕЛИ СПИНАЛЬНОЙ МЫШЕЧНОЙ АТРОФИИ

**Овечкина В.С.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Новосибирский государственный университет; <sup>2</sup>ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН

*Vs\_ovechkina@mail.ru*

Спинальная мышечная атрофия (СМА) – группа тяжёлых наследственных заболеваний, характеризующихся дегенерацией двигательных нейронов спинного мозга с последующей атрофией поперечнополосатой мышечной ткани. Причина СМА – делеция гена *SMN1*, который кодирует белок SMN, участвующий в сплайсинге пре-мРНК. Данный белок кодируется также геном-паралогом *SMN2*, с которого в 85% случаев считывается дефектные молекулы белка, не способные выполнять свои функции. В отсутствие *SMN1*, ген *SMN2* является основным геном-модификатором СМА. Несмотря на то, что генетические основы патогенеза СМА хорошо изучены, точные молекулярные механизмы развития заболевания до сих пор остаются невыясненными. Изучение патологических процессов, происходящих в дефектных нейронах, затруднительно по причине невозможности их получения безопасным и неинвазивным способом из организма пациента, а постмортальные нейроны дают представление только о терминальной стадии заболевания. Для преодоления таких проблем при изучении заболеваний в настоящее время применяется метод создания клеточных моделей, основанный на использовании индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) пациента.

В нашей работе была выполнена сравнительная характеристика ранее полученных в нашей лаборатории клеточных моделей, демонстрирующих фенотипы СМА I и II типов, на разных стадиях нейральной дифференцировки. С помощью вестерн-блот анализа мы показали уменьшение количества белка SMN в культуре ИПСК и предшественников моторных нейронов, полученных от пациентов со СМА обоих типов, по сравнению с клетками, полученными от условно здоровых пациентов. Выявлено снижение уровня



экспрессии полноразмерного транскрипта SMN на всех стадиях нейральной дифференцировки в клетках с фенотипом СМА I и II типов относительно нормы. Также обнаружено увеличение уровня неполноразмерного транскрипта SMN $\Delta$ 7, связанное с делецией гена SMN1 и наличием SMN2. Показано изменение уровня транскрипции генов-модификаторов: при СМА I типа в зрелых моторных нейронах увеличивается количество транскриптов генов DNCH1 и RPL6, а также уменьшается уровень экспрессии PLS3, NCLD, CDK2AP1 относительно нормы.

## ЭФФЕКТЫ 25-ГИДРОКСИХОЛЕСТЕРИНА НА СОКРАТИТЕЛЬНУЮ ФУНКЦИЮ ПРЕДСЕРДИЙ МЫШИ ПРИ АКТИВАЦИИ БЕТА-АДРЕНорецепТОРОВ

**Одношивкина Ю.Г.<sup>1</sup>, Хакимов И.Р.<sup>1</sup>, Петров А.М.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России; <sup>2</sup>Казанский институт биохимии и биофизики, Федеральный исследовательский центр "Казанский научный центр Российской академии наук"

*Odnoshivkina\_Y@mail.ru*

Активация бета-адренорецепторов (Бета-АР) – основной механизм увеличения сократимости миокарда. Бета-АР сопряжены с сигнальным путем Gs-белок/аденилатциклаза/цАМФ/протеинкиназа А, но способны стимулировать дополнительные сигнальные пути. При развитии ряда метаболических и сердечно-сосудистых патологий отмечается накопление повышенного уровня окисленных производных холестерина (оксистеринов) в тканях и плазме. Практически во всех тканях происходит образование 25-гидроксихолестерина (25-ГХ) под действием холестерин 25-гидроксилазы (ХС25Г). Экспрессия 25-ГХС значительно усиливается макрофагами и дендритными клетками в ответ на стимуляцию липополисахаридом или интерфероном, а также повышается *in vivo* при индукции врожденного иммунитета. Образующийся 25-ГХ оказывает противовирусный эффект и способствует этерификации холестерина. Концентрация 25-ГХ в плазме повышается при сосудистых заболеваниях, сопряженных с воспалительными реакциями. Нарушения деятельности предсердий имеют очень широкое распространение и являются одной из лидирующих причин смертности. Предсердия обогащены липидными рафтами, что создает предпосылки для высокой чувствительности к оксистеринам.

Целью работы было исследовать эффекты 25-ГХ (0,1 и 1 мкМ) на инотропную реакцию предсердий при активации бета-адренорецепторов с помощью неселективного агониста – изопротеренола, 10-100нМ (ИЗО). Регистрацию сократимости (Tissue Bath System), детекцию Ca<sup>2+</sup>-транзиента (Fluo-4AM) и продукции оксида азота (DAF-FM) проводили на изолированных предсердиях мышей.

Сам 25-ГХ достоверно не изменяет амплитуду сокращений предсердий, повышает величину Ca<sup>2+</sup>-транзиента до 119±4%, и снижает флуоресценцию DAF-FM, отражающую изменение продукции оксида азота до 90±4%. Агонист бета-АР доза-зависимо увеличивал сократимость предсердий до 237±6%. Опосредованная ИЗО активация бета-АР приводила к увеличению амплитуды Ca<sup>2+</sup>-транзиента до 170±6%, и незначительному снижению флуоресценции DAF-FM. Эти два фактора регулируют инотропный ответ предсердий. Предварительная обработка 25-ГХ ослабляла опосредованную ИЗО положительную инотропную реакцию и увеличение Ca<sup>2+</sup>-транзиента. Динамика флуоресценции DAF-FM в ответ на ИЗО снижалась в большей степени в предсердиях, обработанных 25ГХ. Таким образом, снижение инотропного ответа, вызванного ИЗО, может быть связано с пониженной амплитудой Ca<sup>2+</sup>-транзиента после предварительного воздействия 25-ГХ.



Механизм собственного эффекта 25ГХ и модуляции им бета-адренергического ответа предстоит выяснить.

Работа поддержана грантом РФФИ 17-04-00058.

## ВЫЯВЛЕНИЕ МАРКЕРОВ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В КЛИНИКО- ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ ГБУЗ "НИИ-ККБ№1"

**Оковатая Е.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет

*elena6669@mail.ru*

Аутоиммунные заболевания представляют собой третью ведущую причину хронических заболеваний в развитых странах после сердечно-сосудистых и онкологических. Они поражают практически все органы и системы организма. В настоящее время известно более 140 различных аутоиммунных заболеваний.

В развитии аутоиммунных заболеваний огромное значение играют как гуморальные, так и клеточные механизмы иммунной системы.

При постановке диагноза врачи основываются на совокупности как клинических проявлений заболевания, так и данных лабораторно-инструментального обследования больного. Помимо этого, анализы крови, рентгенологическое исследование анализов мочи, ультразвуковое, и некоторые другие помогают определить характер повреждения внутренних органов, а так же степени активности заболевания.

Основными методами лабораторной диагностики аутоиммунных заболеваний являются: непрямая иммунофлуоресценция, иммуноферментный анализ и иммуноблоттинг. На практике при диагностике данных заболеваний чаще всего используют метод непрямой иммунофлуоресценции.

Наиболее часто выделяемыми аутоиммунными заболеваниями являлись : Системная красная волчанка, Гранулематоз с полиангитом, Ревматоидный артрит, Болезнь Шегрена. Данные за 6 месяцев (май-декабрь 2018г.)

Положительные результаты на Гранулематоз с полиангитом у мужчин и женщин представлены в равных пропорциях, наибольшее количество положительных результатов обнаружено в категории 31-50 лет (30 человек).

Количество положительных результатов на Болезнь Шегрена у женщин в 3 раза больше чем у мужчин. Частота выявления положительных результатов у женщин выше, чем у мужчин на 27,4%, наибольшее число положительных проб было представлено в возрастной категории 51 – 60 лет (17 человек).

Наибольшее число больных Системной красной волчанкой, как мужчин так и женщин, находились в возрастной категории 21–40 лет. Среди мужчин не было выявлено больных младше 20 лет.

Аутоиммунный гепатит поражает не только молодых женщин – 40-50 лет, также часто диагноз устанавливается после 50 лет.

Таким образом, с углублением наших знаний о характере нарушений при аутоиммунных заболеваниях и расширением возможностей влияния на иммунологический статус больного могут найти применение и другие, пока менее изученные терапевтические подходы.





## ВЛИЯНИЕ ГАММА-ОБЛУЧЕНИЯ САМЦОВ КРЫС НА СПОСОБНОСТЬ К ОБУЧЕНИЮ ИХ ПОТОМСТВА

**Панфилова В.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф.Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава РФ, Обнинск

*whiskas04@yandex.ru*

На территориях, загрязненных в результате Чернобыльской аварии, проживает значительное количество населения; у них, а также у ликвидаторов, получивших относительно небольшие дозы облучения, рождаются дети, и есть данные, говорящие об отставании их психофизиологического развития по сравнению с детьми других регионов. Корректному проведению анализа физиологической полноценности внешне нормальных потомков облученных родителей мешает трудность учета социальных факторов, влияние которых также может сказываться на полноценном развитии ЦНС. С учетом этих обстоятельств явным научным преимуществом обладают эксперименты на животных, позволяющих получить ценную научную информацию и сделать адекватные выводы. Одним из важных показателей физиологической полноценности или неполноценности потомства могут являться изменения в когнитивных функциях мозга, однако до настоящего времени наблюдается недостаток научной информации в этой области знаний.

Целью работы стало экспериментальное изучение психофизиологического развития потомства первого и второго поколений самцов крыс, которые подверглись гамма облучению в нестерилизующих дозах на разных стадиях сперматогенеза.

Самцов крыс линии Вистар (F0) облучали на гамма-установке "Луч" при мощности дозы 20,0 Гр/ч, в дозах 0.5, 1.0 и 1.5 Гр. Для получения потомства первого поколения их спаривали с интактными самками через разные интервалы времени после облучения (чтобы в оплодотворении участвовали половые клетки, облученные на разных стадиях сперматогенеза). Соответственно, потомство первого поколения было поделено на 4 подопытные группы (с условными названиями «сперматозоиды», «сперматиды», «сперматоциты», «сперматогонии»). В группы для дальнейшего тестирования в месячном возрасте отбирали внешне здоровых детенышей и дорастивали их до трехмесячного возраста. Контрольную группу составляли интактные самцы и самки, которые находились в идентичных с подопытными крысами условиях содержания. Для получения второго поколения (F2) от облученных самцов (F0) потомство из первого поколения (F1) спаривали друг с другом или с интактными животными. Тестирование проводилось отдельно для групп самок и самцов.

Когнитивные (памятные) функции мозга оценивали по способности к выработке и воспроизведению условного рефлекса избегания (УРИ). В экспериментах использовали стандартную методику обучения крыс в челночной камере Шаттл-бокс. Для обработки результатов использовалась специальная компьютерная программа, разработанная в нашей лаборатории.

Установлено, что острое гамма-облучение в нестерилизующих дозах (0.5, 1.0, 1.5 Гр) оказывает негативное влияние на психофизиологическое развитие потомства первого поколения облученных крыс-самцов, что выражается в нарушении выработки, закрепления и последующего воспроизведения условного рефлекса избегания. Причем, для проявления наследственных эффектов радиационных воздействий на самцов наряду с поглощенной дозой облучения принципиальное значение имеет стадия сперматогенеза в момент радиационного воздействия. По нашим данным, доза острого однократного гамма-облучения 0.5 Гр близка к минимально эффективной по влиянию на высшие функции ЦНС у потомков облученных животных.



Обнаружены признаки негативных эффектов облучения на потомство второго поколения от облученных самцов, менее выраженные, чем у потомства первого поколения.

Полученные данные позволяют говорить о наличии суммации негативных эффектов облучения во втором поколении, в случае, если оба родителя являются потомками облученных самцов.

## МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ ПРИ ОСТРОМ МИОКАРДИТЕ И ЕЁ КОРРЕКЦИЯ УРИДИНОМ

**Радаева А.А.<sup>1,2</sup>, Мосенцов А.А.<sup>1</sup>, Белослудцева Н.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук; <sup>2</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

*nast.9714@mail.ru, natago\_imagination@rambler.ru*

Сердечно-сосудистые заболевания занимают первое место по смертности в мире. Одной из наиболее распространённых причин внезапных смертей является острый миокардит. Известно, что структурно-функциональное повреждение митохондрий в кардиомиоцитах при данном заболевании является ключевым патогенетическим фактором. В связи с этим, разработка новых путей кардиопротекции, основанных на коррекции митохондриальной дисфункции, является актуальной задачей. Недавно было обнаружено, что фармакологические активаторы АТФ-чувствительных калиевых каналов (митоK<sub>АТФ</sub>), расположенных на внутренней мембране митохондрий, обладают защитным действием при сердечных патологиях. Целью данной работы было исследование связанных с митохондриями механизмов патологических изменений миокарда при остром миокардите крыс, а также возможности коррекции этой патологии с помощью метаболического соединения – уридина, являющегося предшественником активатора митоK<sub>АТФ</sub> в клетке. Для этого была воспроизведена модель острого миокардита у крыс путем подкожного введения изопrenalина в дозе 150 мг/кг веса. С помощью электронной микроскопии было выявлено развитие ультраструктурных нарушений митохондрий сердца крыс при остром миокардите. С помощью полярографического метода были измерены скорости дыхания и параметры окислительного фосфорилирования изолированных митохондрий сердца крыс. Показано, что экспериментальный миокардит сопровождается значительным снижением скорости фосфорилирования (V<sub>3</sub>), показателя дыхательного контроля (ДК), параметра АДФ/О, а также удлинением времени фосфорилирования (Тф), по сравнению с контрольными показателями, при использовании как субстратов комплекса I (малата+глутамата), так и комплекса II (сукцината) дыхательной цепи. Это говорит о снижении эффективности окислительного фосфорилирования митохондрий сердца крысы при развитии острого миокардита. Превентивное введение животным уридина (30 мкг/кг) за 1ч до инъекции изопrenalина приводило к статистически значимому увеличению показателей ДК, АДФ/О, а также уменьшению Тф, по сравнению с показателями, полученными при моделировании острого миокардита. Обнаруженный положительный эффект уридина может быть связан с активацией митоK<sub>АТФ</sub>, а также с ускорением гликолиза в миокарде через синтез УДФ-глюкозы, и указывает на возможность его использования в целях коррекции исследуемой патологии. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №18-034-00297\_мол-а.



ВОЗДЕЙСТВИЕ ГИПЕРОКСИИ НА ЧАСТОТУ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ДВИЖЕНИЙ И ПОКАЗАТЕЛИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА У БАЙКАЛЬСКИХ ЭНДЕМИЧНЫХ АМФИПОД *EULIMNOGAMMARUS CYANEUS* (DYBOWSKY, 1874)

**Ржечицкий Я.А.<sup>1</sup>, Гурков А.Н.<sup>1</sup>, Шатилина Ж.М.<sup>1</sup>, Емшанова В.А.<sup>1</sup>, Бобкова В.А.<sup>1</sup>, Ларина О.А.<sup>1</sup>, Тимофеев М.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», 664025, ул. Ленина 3, г. Иркутск, Россия

*rzhechitskiy.yar@gmail.com*

Видоспецифичное воздействие такого экологического фактора как повышенное содержание кислорода на различных гидробионтов является слабо изученным. Известно, что обычно гипероксия вызывает снижение частоты дыхательных движений и усиление продукции активных форм кислорода. В то же время, для озера Байкал характерно постоянно высокое содержание кислорода с сезонными максимумами вплоть до 100% насыщаемости и выше. Соответственно, эндемичные обитатели Байкала, такие как амфиподы, длительное время эволюционировали в данных условиях и могут обладать специфическими реакциями на этот экологический фактор.

Целью исследования являлась оценка влияния повышенного содержания кислорода на частоту дыхательных движений и биохимические маркеры развития окислительного у эндемичного вида амфипод *Eulimnogammarus cyaneus* (Dybowsky, 1874), распространённого обитателя литорали Байкала.

После предварительной акклимации к лабораторным условиям амфипод экспонировали в течение десяти суток при трёх уровнях концентрации кислорода: 12 мг/л (аналогично условиям акклимации, норма для литорали Байкала), 20 мг/л (примерно соответствует пиковой концентрации в естественных условиях) и 40 мг/л (максимально достижимая в лабораторных условиях). Для биохимических анализов животных фиксировали в жидком азоте через 1 ч, 5 ч, 1 сутки, 5 и 10 суток после создания гипероксических условий. Для оценки продукции активных форм кислорода оценивали содержание продуктов перекисного окисления липидов (диеновых и триеновых конъюгатов, оснований Шиффа) и активность антиоксидантных ферментов (пероксидазы, каталазы и глутатион-S-трансферазы).

В результате исследования показано отсутствие изменений в частоте дыхательных движений при повышенном содержании кислорода в течение 10 суток, что не совпадает с литературными данными. Также не было выявлено каких-либо изменений в активности ферментов антиоксидантной системы и содержании продуктов перекисного окисления липидов по сравнению с контрольной группой. Обнаруженное отсутствие реакции может быть связано с эволюционной адаптацией байкальских амфипод к повышенному содержанию кислорода.

Настоящее исследование проведено при поддержке гранта Российского научного фонда (№ 17-14-01063).



## ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ ФЕНОЛОКСИДАЗНОЙ СИСТЕМЫ ЛИЧИНКИ *CALLIPHORA VICINA* В ОНТОГЕНЕЗЕ

**Савва А. К.<sup>1</sup>, Тулин Д.В.<sup>1</sup>**

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

*fyuche.am@gmail.com*

Меланизация – иммунная реакция беспозвоночных, в ходе которой образуется большое количество метаболитов с высокой окислительной активностью, нарушающих целостность патогенов. У насекомых этот процесс осуществляется фенолоксидазной (ФО) системой. При высокой эффективности, система характеризуется неизбирательностью, что требует наличия сложной регуляции. Типичный способ организации ФО системы включает в себя инактивированную проФО, регуляция активности которой опосредуется протеолитическим каскадом, распознающим патоген-ассоциированные молекулы. При достаточной исследованности компонентов ФО системы, особенности ее организации в ходе онтогенеза остаются мало изучены. Для изучения морфологии гемоцитов гемолимфу собирали в фиксатор 4% параформальдегид. Для отделения плазмы от клеток гемолимфу с помощью шприца пропускали через наконечник с фильтром, исключая возможность клеточной активации. Для идентификации ФО активности в плазме и клетках использовали методику Ling et al., 2004, где при наличии ФО образуются темные полимеры меланина. Для активации проФО использовали методику Leonard et al, 1985. Особенности организации ФО системы изучали у питающихся личинок *Calliphora vicina* с 3-го дня развития и у более поздних «белых» личинок. Было показано, что ФО активность на ранних стадиях развития отсутствует в плазме и сосредоточена в высоко реактивных клетках с включениями в виде кристаллов кубической формы. При активации этих клеток идет растворение кристаллов и вследствие этого ФО активность выявляется в плазме. ФО-активности была отмечена уже в интактных клетках, т.е. фермент исходно находится в них в активном состоянии. По-видимому, кристаллизация ФО в клетках является способом инактивации фермента. На стадии «белой» личинки кристаллические клетки отсутствуют, ФО активность сосредоточена только в плазме и ФО представлена в виде проФО. Таким образом, у ранних личинок кристаллические клетки, по-видимому, заменяют собой распознающий и активирующий каскад и содержат в себе уже активную ФО. Возможно, такой способ организации ФО системы связан с быстрым ростом личинки, постоянно меняющимся объемом гемолимфы и сложностью поддержания удельной активности ФО.

Список литературы:

Leonard C., Ratcliffe N. A., Rowley A. F. The role of prophenoloxidase activation in non-self recognition and phagocytosis by insect blood cells. *J INSECT PHYSIOL* V. 31(10), pp. 789-799, 1985

Ling E., Shirai K., Kanehatsu R., Kiguchi K. Reexamination of phenoloxidase in larval circulating hemocytes of the silkworm, *Bombyx mori*. *Tissue Cell* V. 37, pp. 101–107, 2004



## ВЫЗВАННЫЕ ГИПОКСИЕЙ НАРУШЕНИЯ СОПРОВОЖДАЮТСЯ ИЗМЕНЕНИЕМ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ГЛУТАМАТЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В ГИППОКАМПЕ КРЫСЫ

**Стратилов В.А.<sup>1</sup>, Ветровой О.В.<sup>1,2</sup>, Тюлькова Е.И.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*stratilov.v@infran.ru*

Пренатальная гипоксия является одной из наиболее общих причин развития патологий мозга. Целью исследования являлся анализ глутаматергической системы мозга и поведения в ранний (2-недельный) и взрослый (3-месячный) периоды постнатального онтогенеза, а также в процессе старения (18 месяцев) у крыс, переживших гипоксический стресс (5% O<sub>2</sub>, 3 часа) на 14-16 сутки пренатального развития. Было продемонстрировано прогрессирующее с возрастом снижение количества глутамата в гиппокампе крыс, перенесших пренатальную гипоксию. В сравнении с контролем, это сопровождалось более ускоренным снижением количества NeuN+ позитивных клеток. В навигационном тесте Морриса наблюдалось ослабление долговременной памяти и способности к обучению. Постепенное снижение количества глутамата обратно коррелирует с компенсаторным повышением уровня mGluR1, IP3R и полифосфоинозитидов. Однако использование агонистов mGluR1 нормализует когнитивный дефицит крыс, перенесших пренатальную гипоксию. 18-месячные животные демонстрируют снижение активности глюкозо-6-фосфата печени, продукта глюкокортикоид-зависимой транскрипции. Данный фермент вносит вклад в повышение уровня глюкозы в крови и опосредованно влияет на биосинтез глутамата в мозге. Кроме того, уровень глюкокортикоидных рецепторов снижается с возрастом у крыс, перенесших пренатальную гипоксию. Данные результаты показывают значительный вклад дисфункции глутаматергической системы в формирование раннего старения, вызванного пренатальной гипоксией. Механизм глутаматергического дефицита может быть глюкокортикоид-зависимым.

Работа была поддержана грантом РФФИ № 17-04-01118.

## АНАЛИЗ ТИПА КЛЕТОЧНОЙ СМЕРТИ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОГО АГЕНТА ФОТОСЕНС НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

**Турубанова В.Д.<sup>1</sup>, Митрошина Е.В.<sup>1</sup>, Мищенко Т.А.<sup>1</sup>, Балалаева И.В.<sup>1</sup>, Ведунова М.В.<sup>1</sup>, Крысько Д.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия; <sup>2</sup>Гентский Университет, Гент, Бельгия

*vikaturu@mail.ru*

Злокачественные глиомы являются наиболее распространенными и смертельно опасными опухолями головного мозга. В недавних исследованиях показано, что раковые клетки погибают в ответ на противоопухолевую терапию путем регулируемых программ клеточной смерти (апоптоз, некроптоз) (Kryska et al., 2017). Опосредованная Т-клетками иммунотерапия является концептуально привлекательным вариантом лечения глиомы, поскольку Т-лимфоциты могут активно искать опухолевые клетки в мозге, и они имеют потенциал для безопасного и специфического устранения опухоли. На данный момент



показана высокая эффективность фотодинамической терапии с использованием фотосенсибилизаторов при лечении опухолей головного мозга. Очень важно применяя такой вид лечения, выбрать стратегии, которые индуцируют работу специфического противоопухолевого Т-клеточного иммунного ответа. Целью работы явилось определение типа клеточной смерти при воздействии фотосенсибилизатора Фотосенс (Ниопик, Россия) на клетки линии GL-261.

Ранее показано, что Фотосенс обладает низкой темновой токсичностью по отношению к нормальным (неопухолевым) клеткам головного мозга в концентрации до 10 мкМ. Для определения типа клеточной смерти клеток глиомы была выбрана концентрация Фотосенса 1,4 мкМ (IC90 через 24 часа после ФДТ). С целью предварительного установления типа клеточной смерти был проведен ингибиторный анализ. Использованы ингибиторы, селективно блокирующие развитие апоптоза (zVAD-fmk), некроптоза (некростатин-1s) и ферроптоза (ферростатин-1 и хелатор железа дефероксамин DFO). Для подтверждения гибели клеток путем апоптоза проведен анализ активности маркеров апоптоза (каспазы 3, каспазы 8) путем вестерн-блот анализа. Помимо этого результаты подтверждены анализом количества АТФ и позднего апоптотического маркера HMGB1, высвобождаемых из погибающих клеток.

#### АДЕНОАССОЦИИРОВАННЫЕ ВИРУСНЫЕ ВЕКТОРЫ, НЕСУЩИЕ ГЕНЫ BDNF И GDNF, В АДАПТАЦИИ МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6 К ПОВРЕЖДАЮЩЕМУ ДЕЙСТВИЮ ГИПОКСИИ IN VIVO

**Уразов М.Д.<sup>1</sup>, Астраханова Т.А.<sup>1</sup>, Гавриш М.С.<sup>1</sup>, Усенко А.В.<sup>1</sup>, Мищенко Т.А.<sup>1,2</sup>, Ведунова М.В.<sup>1</sup>, Митрошина Е.В.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Нижегородский государственный университет им Н.И. Лобачевского;

<sup>2</sup>Приволжский исследовательский медицинский университет

*Urazov@neuro.nnov.ru*

Известно, что нейротрофический фактор головного мозга BDNF и глиальный нейротрофический фактор GDNF способствуют сохранению жизнеспособности клеток головного мозга при воздействии различных стресс-факторов, в том числе гипоксии. Таким образом, BDNF и GDNF можно рассматривать в качестве терапевтических агентов при гипоксическом повреждении ЦНС.

Терапевтическое повышение уровня нейротрофических факторов может быть реализовано посредством использования вирусного конструкта, содержащего соответствующий ген. В настоящем исследовании были использованы аденоассоциированные вирусные векторы AAV-Syn-BDNF-eGFP и рAAV-Syn-GDNF-kid2, ранее разработанные в нашей лаборатории. Вирусный препарат инъецировался в латеральные желудочки головного мозга новорожденных мышей линии C57BL/6 в первые сутки после рождения, по 1,7 µl на одно полушарие. В качестве контроля проводилась внутрижелудочковая инъекция натрий-фосфатного буфера. Количество животных в каждой группе составляло 10 особей. По достижению животными возраста 1 месяца проводилось моделирование острой гипобарической гипоксии (ОГБГ) и дальнейшее тестирование выживших животных в водном лабиринте Морриса.

Выживаемость животных на 1-е сутки после моделирования ОГБГ в группе «Контроль» составила 55%, в группе с AAV-Syn-BDNF-eGFP – 77%, с рAAV-Syn-GDNF-kid2 – 81%. На 30-е сутки выживаемость групп животных распределилась следующим образом – «Контроль» - 22%, AAV-Syn-BDNF-eGFP – 44%, рAAV-Syn-GDNF-kid2 – 45%.



Далее проводилось тестирование животных в водном лабиринте Морриса с определением отсроченного коэффициента сохранения и дистанции пройденной животным до цели. Наблюдалась тенденция к повышению процента отсроченного коэффициента сохранения в группе с AAV-Syn-BDNF-eGFP-  $49.36 \pm 10.20$  по сравнению с интактными животными -  $36.12 \pm 10.04$ .

Гипоксическое повреждение вызывало тенденцию к снижению дистанции, пройденной животным до цели («Интактные» -  $10820 \pm 4557$  мм, «Контроль»  $3688 \pm 142$  мм. Гиперэкспрессия нейротрофических факторов сохраняла данный параметр на уровне интактных животных («AAV-Syn-BDNF-eGFP» -  $7933 \pm 4637$  мм, «pAAV-Syn-GDNF-kid2» -  $10020 \pm 3079$  мм).

Таким образом, применение *in vivo* аденоассоциированных вирусных векторов, несущих последовательности генов BDNF и GDNF, оказывало нейропротекторный эффект, проявляющийся в увеличении выживаемости животных при острой гипобарической гипоксии.

Исследование выполнено при поддержке государственного задания (проекты 6.6379.2017/8.9, 17.3335.2017/4.6, и 6.6659.2017/6.7), а также Российского Фонда Фундаментальных Исследований (проекты № 18-015-00391, 17-04-01128, 18-315-20003).

## ВЛИЯНИЕ АЛЛОКСАН-ИНДУЦИРОВАННОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА НА СТРУКТУРУ МИОКАРДА И СОКРАТИТЕЛЬНУЮ ФУНКЦИЮ КАРДИОМИОЦИТОВ ЛЕВОГО И ПРАВОГО ЖЕЛУДОЧКОВ КРЫСЫ

**Хохлова А.Д.<sup>1,2</sup>, Мячина Т.А.<sup>1,2</sup>, Бутова К.А.<sup>1,2</sup>, Берг В.Ю.<sup>1</sup>, Соколова К.В.<sup>1,2</sup>, Устимовская Ж.<sup>2</sup>, Гётте И.Ф.<sup>1,2</sup>, Копылова Г.К.<sup>1</sup>, Щепкин Д.В.<sup>1</sup>**

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

*a.d.khokhlova@urfu.ru*

Сахарный диабет (СД) 1 типа является причиной развития диабетической кардиомиопатии. На данный момент мало известно об изменениях структуры и функции сердечных камер при СД. Целью данной работы являлось изучение влияния экспериментального аллоксан-индуцированного СД на структуру миокарда, механическую функцию изолированных кардиомиоцитов и сократительных белков левого (ЛЖ) и правого желудочков (ПЖ).

Эксперимент выполнен в соответствии с принципами, изложенными в Директиве 2010/63/EU. Индукция СД 1 типа проводилась путем трех внутрибрюшинных инъекций аллоксана в дозе 100 мг/кг в течение одной недели на самцах крыс линии Wistar в возрасте 12 недель. Через пять недель образцы плазмы крови собирали для биохимического анализа. Морфометрические исследования проводились на гистологических срезах, окрашенных гематоксилином и эозином. Одиночные кардиомиоциты были получены с применением стандартной методики перфузии сердца по Лангендорфу. Взаимодействие миозина с актиновыми филаментами (F-actin) и нативными тонкими филаментами (NTF) изучали в *in vitro* подвижной системе. NTF, содержащие актин, тропомиозин и тропонин, выделяли из ЛЖ и ПЖ здоровых крыс.

В группе с вызванным СД 1 типа концентрация глюкозы в плазме увеличилась на 193%, уровень гликозилированного гемоглобина увеличился на 84% по сравнению с интактной группой. Было обнаружено достоверное ( $p < 0.05$ ) увеличение концентрации



общего холестерина (38%), холестерина липопротеинов низкой плотности (143%), уровней АЛТ (26%) и АСТ (52%).

СД оказывал существенное влияние на структуру ЛЖ, но не ПЖ так, что средний диаметр кардиомиоцитов ЛЖ уменьшился на 22% по сравнению с интактной группой. В экспериментах на изолированных клетках амплитуда сокращений саркомеров возросла на 35% при СД и существенно и существенно не различалась между желудочками как у животных с СД, так и в интактной группе. Время достижения максимума сокращений саркомеров было больше для ЛЖ, чем для ПЖ; однако достоверные различия были обнаружены между желудочками только у крыс с СД 1 типа.

Скорость скольжения F-актина и NTF по миозину из ЛЖ и ПЖ крыс с СД была на 50% и 30%, соответственно, меньше, чем по миозину здоровых крыс. Этот результат можно объяснить изменением экспрессии изоформ тяжелых цепей миозина или его окислительным повреждением (Shao *et al. Biochem Pharmacol.* 2010).

Проведённое комплексное исследование показало, что СД 1 типа оказывает различное влияние на структуру и функцию миокарда ЛЖ и ПЖ.

Работа поддержана РФФ № 18-74-10059.

## ВЛИЯНИЕ ПРЕНАТАЛЬНОГО ДЕПРИВАЦИОННОГО СТРЕССА НА РАЗВИТИЕ И ТЯЖЕСТЬ ЭПИЛЕПСИИ У ПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС В ПОСТНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

**Хуторова А.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Биологический факультет МГУ им. Ломоносова

*hutorova.anastasiya@mail.ru*

Эпилепсия - хроническое неврологическое заболевание, причиной которого могут являться повреждения мозга, вызванные пренатальным стрессом, одним из часто встречающихся является недостаток питательных веществ вследствие нарушения режима питания беременной, сопровождающийся эмоциональным стрессом. Длительность действия стресса и срок пренатального развития могут стать фактором развития эпилепсии в постнатальном периоде. О предрасположенности к развитию эпилепсии у крыс, переживших пренатальный депривационный стресс с инверсией режима питания матери, известно мало, поэтому была поставлена цель исследовать его влияние на склонность к развитию эпилептических судорог, их тяжесть и оценить отставленные эффекты на базовую поведенческую активность, хронотропию сердца и вегетативный баланс регуляции.

Так как крысы питаются в основном ночью, для моделирования инверсии питания самки, содержащиеся при световом режиме 12/12, во 2 (8-14 сутки) или 3 (15-21 сутки) триместре беременности имели свободный доступ к пище только при включенном освещении 12ч в сутки. Контрольные самки имели непрерывный доступ к пище. Пентилентетразол (ПТЗ) вводили 90-дневному потомству для моделирования эпилептических судорог и оценивали их тяжесть по шкале Racine. Базовую поведенческую активность оценивали через сутки после введения ПТЗ в тесте «Открытое поле», выявляли локомоторную активность (ЛМА), ориентировочно-исследовательскую реакцию (ОИР), уровень тревожности. Хронотропию и вегетативный баланс регуляции оценивали по параметрам ЭКГ через сутки после введения ПТЗ.

На параметры ЭКГ у самцов и самок, переживших пренатальный депривационный стресс во 2 или 3 триместре, пренатальный депривационный стресс влияний не оказал.





Исследование последствий депривационного стресса выявило увеличение ОИР у самцов, переживших пренатальный стресс в 3 триместре, у остальных самцов и у всех самок изменений в поведенческой активности не обнаружено.

Количество 4 стадий судорог увеличилось у самок, переживших депривационный стресс во 2 или 3 триместре, у последних также увеличилась доза ПТЗ, приводящая к наступлению 4 стадии, то есть опытные группы самок стали устойчивее к развитию судорог по сравнению с контролем. У самцов отличий по этим параметрам не обнаружено.

Депривационный стресс с инверсией питания у матери имеет отставленные влияния на поведенческую активность у самцов, у самок обуславливает большую устойчивость к судорогам, но не влияет на хронотропию, вариабельность сердечного ритма и уровень тревожности.

## РОЛЬ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ В РЕАЛИЗАЦИИ ЭФФЕКТОВ ТЯЖЕЛОЙ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ В МОЗГЕ КРЫС

**Чурилова А.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт физиологии имени И.П.Павлова РАН

*annch05@mail.ru*

Тяжелая гипобарическая гипоксия (ТГГ) – воздействие, приводящее к когнитивным расстройствам у животных, а также вызывающее функциональные нарушения нейронов мозга и их гибель. На молекулярном уровне действие гипоксии связано с многочисленными нарушениями, в том числе изменением активности генома и экспрессии белковых продуктов. Активность генов контролируется рядом эпигенетических механизмов, в том числе ацетилизацией и метилированием гистонов, метилированием ДНК. Ацетилизация гистонов приводит к активации экспрессии генов, тогда как метилирование гистонов может приводить как к активации, так и к ингибированию транскрипции генов. Метилирование ДНК связывают преимущественно с репрессией генов. Применение ингибиторов деацетилаз гистонов, усиливающих ацетилизацию, может влиять на другие модификации. В частности, ацетилизация гистонов является первичным событием по отношению к их метилированию. Также существует прямая взаимосвязь между метилированием гистона H3 по лизину 9 и ДНК, и обратная между метилированием гистона H3 по лизину 4 и ДНК, что можно объяснить наличием у них общих ферментов и общего сигнального белка. Таким образом, согласованные изменения эпигенетических модификаций гистонов и ДНК при действии гипоксии могут предопределять дальнейшие изменения паттернов экспрессии белков, участвующих в ответах нервных клеток на гипоксию, а использование ингибиторов деацетилаз гистонов может служить способом направленного изменения экспрессии генов при действии ТГГ. Целью настоящей работы было исследовать изменения эпигенетических модификаций (ацетилирования, метилирования гистонов, метилирования ДНК) при действии повреждающей ТГГ, а также оценить степень взаимосвязи между данными модификациями на фоне предварительных инъекций ингибитором деацетилаз гистонов - бутиратом натрия. В работе проанализированы паттерны изменений иммунореактивности к ацетилированным гистонам, метилированному гистону H3 по лизину 4 и 9, метилированной ДНК иммуногистохимическим методом. В частности, обнаружено, что ТГГ не оказывает существенного влияния на уровень метилирования H3 по лизину 4, тогда как инъекции бутирата натрия приводят к усилению метилирования гистона H3 по данному сайту после ТГГ. Полученные данные имеют важное



фундаментальное значение для изучения начальных процессов экспрессии генов при действии гипоксии, а также представляют большой интерес с точки зрения анализа взаимосвязи между эпигенетическими модификациями.

Работа поддержана грантом РФФИ № 17-04-00624.

## ВЛИЯНИЕ РТУТИ НА ЗДОРОВЬЕ ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА

**Шувалова О.П.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Череповецкий государственный университет»

*shuvalova2807@gmail.com*

Ртуть, являясь токсическим загрязнителем окружающей среды, представляет значительную проблему для общественного здравоохранения. Наиболее известными примерами токсического действия ртути стали случаи массовых отравлений жителей Японии (бухта Минамата) и Ирака. В силу своих уникальных физико-химических свойств металл активно мигрирует во всех компонентах биосферы и образует относительно устойчивые в полярных и неполярных растворителях металлоорганические соединения, более токсичные, чем неорганические. Метилированные формы ртути достигают максимальных концентраций в тканях животных, находящихся на вершине трофических пирамид. Для водных экосистем - это хищные рыбы. Основными целями поражения метилртути являются центральная нервная система и развивающийся организм, особенно в пренатальный период. Превышение уровня накопления ртути в волосах беременных в 0,58 мг/кг может иметь негативные последствия в развитии новорожденных.

Целью данной работы было изучить пределы накопления ртути и распределение наиболее часто определяемых биохимических и гематологических показателей крови у женщин репродуктивного возраста Вологодской области.

Объектом исследования явились женщины Вологодской области. В условиях медицинского центра "Родник" было обследовано 70 женщин в возрасте от 18 до 44 лет. Определение ртути в волосах проводили с помощью ртутного анализатора "РА-915М" с пиролитической приставкой "ПИРО-915+". Для определения биохимических показателей крови (холестерин, триглицериды, АЛТ, АСТ, общий билирубин, креатинин, мочевая кислота, мочевины, креатинкиназа) использовали биохимический анализатор Furuno "СА-270". Показатели периферической крови определяли с помощью автоматического гематологического анализатора Mindray "BC-3000 Plus".

Было установлено, что в волосах женщин репродуктивного возраста Вологодской области содержание ртути варьировало от 0,011 до 1,754 мг/кг. Клинико-лабораторные данные показали увеличение мочевины, креатинкиназы в сыворотке крови и уменьшение числа тромбоцитов в периферической крови при накоплении ртути в волосах выше 0,5 мг/кг, что может свидетельствовать о реакции организма на поступление металла.



## ВЛИЯНИЕ ПОЛОВЫХ ГОРМОНОВ НА АКТИВНОСТЬ ГЛИКОПРОТЕИНА-Р IN VITRO

**Щулькин А.В.<sup>1</sup>, Черных И.В.<sup>1</sup>, Котлярова А.А.<sup>1</sup>, Есенина А.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России

*alekseyshulkin@rambler.ru*

Гликопротеин-Р (Pgp) – АТФ-зависимый мембранный белок-транспортер, играющий важную роль в фармакокинетике лекарственных веществ. Экспрессируясь в энтероцитах тощей кишки Pgp препятствует всасыванию субстратов, в гепатоцитах и эпителиальных клетках почечных канальцев обеспечивает их выведение.

Цель исследования – изучить влияние половых гормонов на активность Pgp in vitro.

Материалы и методы. Исследование выполнено на клетках линии Caco-2, гиперэкспрессирующих Pgp. Клетки засеивали в трансвелл-систему на полупроницаемую мембрану, разделяющую апикальную и базолатеральную камеры, культивировали в течение 21 суток, а затем использовали для проведения транспортных экспериментов. Для этого питательную среду заменяли раствором Хэнкса с 25 ммоль/л Хепес рН 7,4 и 1% диметилсульфоксида.

Активность Pgp анализировали по транспорту его маркерного субстрата фексофенадина. Для этого фексофенадин добавляли в апикальную камеру в концентрации 150 мкмоль/л, а затем через 1, 2 и 3 ч забирали по 50 мкл образцов транспортной среды из базолатеральной камеры с последующим определением концентрации маркерного субстрата (*a-b* транспорт, против работы Pgp). Затем аналогичным образом оценивали транспорт фексофенадина из базолатеральной в апикальную камеру (*b-a* транспорт, опосредованный Pgp). Концентрации фексофенадина в транспортной среде определяли методом ВЭЖХ с УФ детектированием при длине волны 220 нм. О скорости транспорта фексофенадина судили по величине коэффициента кажущейся проницаемости.

Затем оценивали влияние хинидина (10 мкмоль/л, ингибитор Pgp), эстрадиола (0,01 мкмоль/л), прогестерона (0,1 мкмоль/л), комбинации эстрадиола и прогестерона и тестостерона (0,1 мкмоль/л) на активность Pgp.

Результаты. Коэффициент кажущейся проницаемости фексофенадина *b-a* в норме составил  $3,79 \cdot 10^{-6} \pm 0,34 \cdot 10^{-6}$  см/сек, *a-b* –  $0,64 \cdot 10^{-6} \pm 0,21 \cdot 10^{-6}$  см/сек, а отношение коэффициентов *b-a* к *a-b* –  $6,27 \pm 1,70$ .

Добавление в транспортную среду хинидина снижало коэффициент кажущейся проницаемости *b-a* на 27,6% ( $p=0,026$ ) и отношение коэффициентов *b-a* к *a-b* на 37,9% ( $p=0,025$ ) по сравнению с показателями нормы.

Остальные тестируемые вещества (эстрадиол, прогестерон, тестостерон, комбинация эстрадиола и прогестерона) статистически значимо не влияли на коэффициенты кажущейся проницаемости фексофенадина *b-a* и *a-b*, а также на их отношение по сравнению с показателями нормы.

Таким образом, нами показано, что эстрадиол, прогестерон, тестостерон, комбинация эстрадиола и прогестерона в опытах in vitro не влияют на активность белка-транспортера гликопротеина-Р.

Работа поддержана грантом РФФИ №[18-415-623001](#) p\_мол\_a



## СЕКЦИЯ "МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ"

### МОЛЕКУЛЯРНЫЙ КОНТРОЛЬ БИОСИНТЕЗА ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ У МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ.

Жгун А.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ Биотехнологии РАН, институт Биоинженерии, Москва, Россия.

*zzhgun@mail.ru*

Мицелиальные грибы (плесневые грибы, или плесень) – таксономически-разнородная группа организмов, включающая представителей *Zygomycota* и *Ascomycota*, способных образовывать конидии и мицелиальные гифы. Характерная особенность многих представителей связана с присутствием необычных и/или уникальных биохимических путей. Некоторые продукты, получаемые в результате функционирования этих путей (в особенности, путей вторичного метаболизма), имеют важное фармацевтическое значение, например, - антибиотики, статины, иммунодепрессанты. Отдельные представители способны в тех или иных условиях производить до 100 и больше вторичных метаболитов. Молекулярные основы их биосинтеза связаны с работой кластеров генов вторичного метаболизма. У многих представителей насчитывается 10-30 и больше таких кластеров; в норме большинство кластеров вторичного метаболизма находятся в составе гетерохроматина; различные сигналы внешних воздействий сводятся, в конечном счете, к переходу от гетеро- к эухроматину в локусе кластера генов целевого вторичного метаболизма. В результате запускаемой апрегуляции биосинтетических, транспортных генов происходит биосинтез и транспорт необходимого соединения; за счет апрегуляции локальных регуляторных генов происходит синхронизация, юстировка этих процессов. С середины 50-х годов 20-го века проводили улучшения разнообразных природных штаммов мицелиальных грибов с целью создания высокоактивных продуцентов того или иного соединения. При этом основным методом являлся случайный мутагенез с последующей селекцией по целевому признаку. Для многих продуцентов удалось увеличить выход желаемого низкомолекулярного продукта при оптимальных условиях ферментации в 100-1000 и более раз. При этом получили штаммы, у которых максимально снижен уровень примесных побочных продуктов. В последние годы для многих таких штаммов–суперпродуцентов определены молекулярные основы повышения продукции. В наших работах показано, что дополнительная апрегуляция кластеров генов вторичных метаболизмов у высокоактивных продуцентов (как поликетидного, так и NRPS- типов) может быть связана с метаболизмом полиаминов и опосредована работой глобального регулятора вторичного метаболизма мицелиальных грибов, *LaеА*. Эта S-аденозилметионин-зависимая метилаза гистонов действует эпигенетически, является фактором ремодулирования хроматина. На примере биосинтеза ловастатина у *Aspergillus terreus* и цефалоспорина С у *Acremonium chrysogenum* показали роль 1,3-диаминопропана и спермидина в стимуляции этих целевых вторичных метаболизмов через апрегуляцию *laeA*. Полученные данные важны как для понимания функционирования целевых путей вторичного метаболизма у мицелиальных грибов, так и глобальной регуляции вторичного метаболизма в целом.

Работа поддержана грантом РФФИ 19-04-01173.



## ТРИ ПОДХОДА К УПРАВЛЕНИЮ АМИЛОИДНОЙ АГРЕГАЦИЕЙ.

**Балобанов В.А.<sup>1</sup>, Гарбузинский С.А.<sup>1</sup>, Михайлина А.О.<sup>1</sup>, Ильина Н.Б.<sup>1</sup>,  
Финкельштейн А.В.<sup>1</sup>**

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

*uralm62@rambler.ru*

Один из способов самоорганизации полипептидных цепей – это формирование ими амилоидных фибрилл. Для нас основной интерес представляет поиск возможностей и способов управления этим процессом.

На данный момент мы исследовали три подхода к управлению амилоидной агрегацией, затрагивающие разные аспекты этого процесса. Первый подход – ингибирование роста амилоидной фибриллы кэпированием её активных торцов. Второй подход – стимулирование роста фибрилл вблизи или на границе раздела фаз. Третий подход – сознание бинарной системы из инициатора образования фибриллы и материала для её роста.

Кэпирование активных торцов основано на нарушении сети водородных связей, являющихся основой кросс-бета структуры фибриллы. Для этого на основе известных пространственных структур амилоидных фибрилл А-бета пептида нами были сделаны замены некоторых аминокислотных остатков этого пептида на пролин. Эти замены, согласно теоретическому анализу, удаляют имевшиеся в фибрилле водородные связи, но не деформируют основную цепь пептида в составе фибриллы слишком сильно. Полученные мутантные пептиды могут присоединяться к активным торцам фибриллы, а присоединение следующего пептида затруднено, поскольку мутантный пептид не способен образовывать соответствующие водородные связи. Для кэпирования обоих торцов фибриллы спроектированы и получены два пептида. Наши эксперименты подтвердили правильность предложенного подхода, показав ингибирование при добавлении мутантных пептидов как до начала роста амилоидных фибрилл, так и в процессе их роста.

В литературе описана возможность стимулирования амилоидного роста на поверхности фосфолипидных мембран. Нами был проверен наиболее часто встречающийся в экспериментальной практике вариант поверхности раздела фаз – граница между водным раствором и стеклом. Показано, что этого сочетания уже достаточно для сорбции А-бета пептида и значительного усиления его агрегации. Такой же эффект вызывают поверхности вода – кварц и вода – пластик.

Нами спроектирована и получена система на основе КЗ пептида бета-2-микроглобулина, в которой рост фибрилл происходит только при взаимодействии двух различных компонентов. Первый компонент представляет собой триплицированный КЗ пептид. Второй – КЗ пептид с заменами нескольких заряженных аминокислотных остатков на незаряженные. Каждый из этих компонентов в условиях нашего эксперимента за время наблюдения не образовывал амилоидных фибрилл. Будучи соединёнными, они образовывали амилоидные фибриллы. Исследование зависимости кинетики амилоидообразования от концентрации компонентов показало, что пептид с изменённым зарядом служит затравкой для роста амилоидных фибрилл из триплицированного КЗ пептида.

Работа поддержана грантом РФФИ 14-24-00157.



## СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕХАНИЗМА ГИБЕРНАЦИИ РИБОСОМ STAPHYLOCOCCUS AUREUS

**Усачев К.С.<sup>1</sup>, Хусаинов И.Ш.<sup>1,2</sup>, Фатхуллин Б.Ф.<sup>1,3</sup>, Гадулхаков А.Г.<sup>1,3</sup>, Никулин А.Д.<sup>3</sup>, Валидов Ш.З.<sup>1</sup>, Трахтаман Н.В.<sup>1,4</sup>, Юсупов М.М.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия; <sup>2</sup>Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Strasbourg, France; <sup>3</sup>ФГБУН Институт белка РАН, Пущино, Россия; <sup>4</sup>Institute of microbiology University of Stuttgart, Stuttgart, Germany

*k.usachev@kpfu.ru*

В стрессовых условиях в бактериальных клетках происходит замедление белкового синтеза за счет образования неактивных димеров рибосом. В этом состоянии рибосомы способны переживать неблагоприятные условия и их активные сайты не доступны для связывания антибиотиков, но в тоже время они способны в достаточно короткий срок (1-2 минуты) перейти обратно в активную фазу и начать процесс трансляции. Процесс гибернации рибосом инициируется связыванием с 70S рибосомами малых стресс-индуцированных белков, что часто приводит к образованию димеров рибосом с коэффициентом седиментации 100S. Данные стресс-индуцированные белки различаются у различных видов или штаммов бактерий. Например, у бактерии *E. coli* существуют два белка: hibernation-promoting factor (EcHPF, 10 кДа) и ribosome modulation factor (EcRMF, 6,5 кДа), которые действуют совместно, в то время как у бактерии *S. aureus* гибернация рибосом вызывается одним, но более длинным белком HPF (SaHPF, 22 кДа). Наличие одного белка, выполняющего функции двух значительно упрощает регуляцию образования димеров у *S. aureus*. Экспрессия факторов гибернации также различается, например EcHPF и EcRMF экспрессируются во время перехода из логарифмической фазы роста к стационарной, в то время как SaHPF присутствует в течение обеих фаз. Такая стратегия, возможно, позволяет клеткам стафилококка быть готовым к стрессовым условиям еще до их наступления, что, безусловно, увеличивает их потенциал к выживанию.

Методами криоэлектронной микроскопии, спектроскопии ЯМР и рентгеноструктурного анализа нами была решена структура 100S димера рибосом *S. aureus* и показано, что N-концевой домен белка SaHPF связывается с малой субъединицей рибосомы, и его положение перекрывается с несколькими сайтами связывания антибиотиков в А, Р и Е сайтах, что определяет устойчивость рибосомных димеров к данным антибиотикам. С-концевой домен SaHPF не взаимодействовал напрямую с рибосомой, а располагался рядом с рибосомным белком S2 и участвовал в образовании дополнительного контакта, стабилизирующего димер рибосомы за счет белок-белкового взаимодействия. Полученные методом спектроскопии ЯМР высокого разрешения и рентгеноструктурным анализом структуры С-концевого домена позволили идентифицировать взаимодействия между аминокислотными остатками, стабилизирующими димер рибосомы, что может использоваться в качестве мишени для разработки ингибиторов процесса гибернации *S. aureus*.

Работа выполнена в рамках гранта РФФ 16-14-10014



YB-1, МАЖОРНЫЙ МРНК-СВЯЗЫВАЮЩИЙ БЕЛОК, ОБЛАДАЕТ СПОСОБНОСТЬЮ ОБРАЗОВЫВАТЬ РНК-НУКЛЕОПРОТЕИНОВЫЕ ФИЛАМЕНТЫ И В СТРЕССОВЫХ УСЛОВИЯХ ПРЕДОТВРАЩАЕТ ОБРАЗОВАНИЕ СТРЕСС ГРАНУЛ.

**Budkina K.S.<sup>1,2</sup>, Kretov D.A.<sup>1,2,3</sup>, Clément M.J.<sup>2</sup>, Lambert G.<sup>2</sup>, Durand D.<sup>3</sup>, Lyabin D.<sup>1</sup>, Bollob G.<sup>4</sup>, Bauvais N.<sup>4</sup>, Samsonova A.<sup>2</sup>, Maroun R.C.<sup>2</sup>, Hamon L.<sup>2</sup>, Bouhss A.<sup>2</sup>, Lescop E.<sup>5</sup>, Curmi P.A.<sup>2</sup>, Maucuer A.<sup>2</sup>, Ovchinnikov L.P.<sup>1</sup>, Pastré D.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Institute of Protein Research, RAS, Pushchino, Russia; <sup>2</sup>SABNP, INSERM U829, Université d'Evry Val-d'Essonne, Evry, France; <sup>3</sup>Institute for Integrative Biology of the Cell (I2BC), CEA, CNRS, Université Paris-Sud, Université Paris-Saclay, 91198 Gif-sur-Yvette, France; <sup>4</sup>Synsight, a/s IncubAlliance 86 rue de Paris Orsay 91400, France; <sup>5</sup>Institut de Chimie des Substances Naturelles, CNRS UPR 2301, Université Paris-Saclay, 91198 Gif sur Yvette cedex, France

*budkina.karina@ya.ru*

YB-1 хорошо известен как белок, содержащий один домен холодного шока (CSD) (консервативная структура из 5  $\beta$ -тяжей, уложенных в  $\beta$ -баррель), который связывается с одноцепочечной РНК / ДНК. Этот белок участвует в метаболизме РНК и является основным компонентом РНП. YB-1 может демонстрировать свое негативное влияние на регуляцию трансляции путем упаковки мРНК, а при других условиях - положительный эффект путем распаковки мРНК.

Чтобы исследовать, как YB-1 влияет на структуру мРНК, мы показали с помощью атомно-силовой микроскопии (АСМ) структурные изменения нуклеиновых кислот, вызванные связыванием полноразмерного YB-1 или числа его мутантов с усеченным STD. Сочетая спектроскопию ядерного магнитного резонанса (ЯМР), малоугловое рентгеновское рассеяние (МРР) и молекулярную динамику (МД), мы проанализировали структуру нуклеопротеиновых филаментов. Мы показали, что мРНК следует по спиральному пути, связывающему последовательные CSD. Около 6 нт на CSD обнаружены в нуклеопротеиновых филаментах, что свидетельствует о плотной упаковке CSD вдоль мРНК. Основной движущей силой является электростатическая молния, образованная положительными зарядами, расположенными в начале STD YB-1, которая нейтрализует отрицательно заряженные фосфаты нуклеотидов, взаимодействующих с соседним YB-1.

В то же время, мы продемонстрировали, что YB-1 регулирует формирование стрессовых гранул. СГ - это динамические РНК-белковые комплексы, которые образуются при стрессе. Мы отметили, что сверхэкспрессия YB-1 приводит к исчезновению СГ, когда отсутствие YB-1 не оказывает никакого влияния. Интересно, что большее количество YB-1 необходимо для предотвращения образования СГ при увеличении окислительного стресса (от 75 мкМ арсенита до 300 мкМ арсенита). Сверхэкспрессия других РНК-связывающих белков не влияла на количество СГ-содержащих клеток, за одним исключением (белок IGF2BP3). Примечательно, что Lin28 с 1 CSD, и CSDE1 с 5 CSD не припятствовали образованию гранул. Мы предполагаем, что основная роль в этом процессе отводится STD.

В целом, результаты этого исследования представляют YB-1 в качестве первого мРНК-связывающего белка, способного образовывать нуклеопротеиновые филаменты с мРНК. Образование линейных нуклеопротеиновых филаментов мРНК с помощью YB-1 может играть ключевую роль в обработке мРНК крупными молекулярными механизмами, связанными с этапами инициации и удлинения трансляции. Также расшифровка этого механизма может дать ответ об участии YB-1 в разборке СГ.



## PYRAMIDING FIBER QUALITY AND WILT RESISTANT QTLs ON COTTON (L.) USING MAS TECHNOLOGY

**Khusenov N.N.<sup>1</sup>, Kushanov F.N.<sup>1</sup>, Turaev O.S.<sup>1</sup>, Norbekov J.K.<sup>1</sup>, Darmanov M.M.<sup>1</sup>, Boykobilov U.A.<sup>1</sup>, Ayubov M.S.<sup>1</sup>**

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

*naimhusenov@mail.ru*

Today cotton-producing countries are losing a large part of yield due to various pest insects, as well, bacterial, viral and fungal diseases. Fusarium and Verticillium wilt diseases frequently cause severe economic losses for the cotton producers. Solely, fusarium wilt disease can reduce 11-12 percent of the cotton yield.

Although, significant results have been achieved today's research on fiber quality improvement in cotton, but still it remains behind in the creation of resistant cultivars to the fusarium wilt. Therefore, it is important to create new varieties not only with high fiber quality, but also disease-resistant. This problem can be solved by using modern DNA marker technology.

In this study, we used fusarium-wilt resistant genotypes (Las Brenas 347, Cokers -124, Mebane B-1, Tamcot SP, Paramukh, PD 648, DPZ 554085, the RS-89, L-237025N517 and L-4112-1) as donor genotypes.along with, Ravnak-1 and Ravnak-2 varieties as recipient genotypes.

Ravnaq-1and Ravnaq-2 cotton varieties with superior fiber quality derived through MAS technology by selecting homozygous samples among the BC<sub>4</sub>F<sub>2</sub> (Andijan-35xL-141) segregating hybrids using BNL1604 marker that associated with fiber length and strength.

PCR analysis conducted with 23 SSR markers that associated with fusarium wilt resistance aim to identify genetic polymorphisms between parental genotypes. We selected NAU1014, JESPR101 and JESPR220 SSR markers among 23 markers.

Furthermore, donor genotypes were grown on the natural infected field with pathogen *Fusarium oxysporum* spp. The results of experiments showed that the parental genotypes such as, Las Brenas 347, Mebane B-1, Paramukh and L-4112-1 are more resistance compared to other genotypes. These donor lines were crossed with Ravnak-1 and Ravnak-2 varieties in order to get first generation (F<sub>1</sub>) hybrids. The F<sub>1</sub> hybrids then backcrossed with the recipient varieties and BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> hybrids were obtained.

As a result, fiber quality and wilt resistance QTLs combined in a genome of single genotype. Morphological and fiber quality results of next generation cotton genotypes will be discussed.

## HYPOCOTYL ELONGATED (HY5) GENE REGULATES PHOTOMORPHOGENESIS IN COTTON (G. HIRSUTUM L.)

**M. Ayubov<sup>1</sup>, S. Abdukarimov<sup>1</sup>, B. Mamajonov<sup>1</sup>, K. Ubaydullaeva<sup>1</sup>, Z. Buriev<sup>1</sup>, I. Abdurakhmonov<sup>1</sup>**

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

*mirzo.ayubov@gmail.com*

Many environmental factors influence to plant development, including light, gravity, temperature, touching and chemical compounds. Light are the most important stimuli to plant development among of the other factors. Photomorphogenesis or skotomorphogenesis generates





different morphological growth in the light or in darkness. Under light condition seedlings show a short hypocotyl with green and expanded cotyledons. Dark-grown seedlings show a long hypocotyl with yellow and unopened cotyledons. Determining of light-depended plant development processes is an important to understand their physiology. Molecular genetic approaches can dissect of light-regulated development mechanism in young seedlings. Previous studies showed that the *hy1*, *hy2*, *phyB* (formerly designated *hy3*), and *hy6* mutants have been shown to be deficient in phytochromes, whereas the *hy4* mutant is deficient in a blue light receptor. Among of the six *hy* loci, molecular role of the hypocotyl elongated-5 (HY5) gene has been well characterized in model plants but not in a unique natural fiber crop cotton (*Gossypium spp.*)

We cloned and characterized cotton HY5 genes from *Gossypium* genus. To analyze HY5 gene functions, we designed hairpin RNAi construct for cotton *HY5* gene introduced to cells, should specifically suppress the targeted gene expression. A vector construct bearing HY5 cassette (“pHY5”, driven by 35S promoter) and kanamycin resistance gene marker was developed and somatically transformed into Coker-312. RNAi plants were obtained using somatic embryogenesis. Candidate RNAi plants bearing the *HY5* RNAi construct were verified using PCR reaction amplifies specifically *HY5* duplex insertions from the genomic insertion of vector construct.

Phenotypic observations of “pHY5” RNAi plants throughout multiple year/season and generation greenhouse and field evaluations demonstrated early flowering, increased yield and fiber length improvements, as well as developed vigorous root systems compared to wild-type controls. To mobilize pHY5 insertions from Coker-312, several commercial Upland cotton cultivars were sexually hybridized and multiple-time backcrossed to the recurrent parent to develop local RNAi Upland cotton varieties. These *HY5* RNAi Upland cultivars are being field tested to be released to the farmers. Our efforts helped to accurately regulate *HY5* gene function and related agronomically important traits in complex plant genomes such as allopolyploid cotton.

## MOLECULAR ANALYSIS OF SALT TOLERANCE IN UPLAND COTTON USING SSR MARKERS

**Normamatov I.S.<sup>1</sup>, Turaev O.S.<sup>1</sup>, Xolmurodova M.M.<sup>1</sup>, Umedova M.E.<sup>1</sup>, Khoshimov S.K.<sup>1</sup>, Kushakov Sh.O.<sup>1</sup>, Kushanov F.N.<sup>1</sup>**

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

*ilyosnormamatov@mail.ru*

Soil salinity is one of the main abiotic factors that negatively effects to increase cotton yield. All around the world, almost 20% of irrigated land is salt-effected. The use of saline soil to produce plant production in agriculture has become an important task for scientists. As well, to develop of new salt-tolerant and high yielded cotton cultivars has become the primary task that standing directly in front of cotton breeders.

By the early of 21<sup>st</sup> century, due to the development of molecular biology and biotechnology, in particularly exploring new characteristics of plants, using DNA-based molecular markers became central approach in plant genome research. Today, in molecular biology, salt tolerance genes in cotton have been not identified using SSR-based association mapping.

Aim to perform of nested association mapping (NAM) in cotton developed multi-parental mapping population at the center of Genomics and bioinformatics. According to the NAM



strategy, parental genotypes of the population are screened using SSR-markers, as well BNL, CIR, CM, GH, JESPR, TMB and NAU aim to detect molecular polymorphisms between common parent and other parental genotypes. Molecular analysis showed that high level of polymorphisms between parents.

Besides, aim to estimate salt tolerance of research objects, characterized in two different environments Tashkent (optimal soil) and Sirdarya (salinity soil). The results of the estimating showed that the parental genotypes of NAM population have different levels of salinity tolerance.

All parents' molecular and phenotypic data can use correctly choosing high diversity populations between NAM populations to detect salinity response genes by nested association mapping approach.

## DEVELOPMENT OF NEW COTTON VARIETIES RESISTANT TO FUSARIUM WILT USING RNAI TECHNOLOGY

**Norov T.M.<sup>1</sup>**

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

*tokhirnorov87@gmail.com*

In our research, *FoSTUA* genes those are essential for *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* development in cotton were amplified and transformed to TOPO-TA vector. After several-step reactions, these genes were inserted into the pART-27 vector and the synthetic gene construction *pSyn-FoSTUA* was developed.

These gene constructions were inserted into agrobacteria strains of LBA 4404 and GV 3101 for further transformation into plants. T<sub>0</sub> plants were obtained through transformation of agrobacterium strains LBA 4404 into hypocotyls of cotton variety C-312 (*Gossypium hirsutum* L.) and these carrying synthetic vector constructions *pSyn-FoSTUA* were genotyped using PCR analysis. Only 3 out of all experimental plants (37.5%) were identified as transformed plants. These young plants were adapted to the soil in the conditions of phytotron to obtain seeds of T<sub>1</sub> generation. Further, seeds of T<sub>1</sub> plants those are resistant against *Fusarium oxysporum* fungal pathogens were sowed in phytotron. Genomic DNAs were isolated from these germinated plantlets and they were analyzed using PCR and gel electrophoresis methodologies. According to PCR results, 15 plantlets out of 28 plantlets were identified as bearer of inserted genetic vectors.

The experiments revealed that the plants that bearing the *pSyn-FoSTUA* genetic vector constructions exhibit significant resistance to disease-causing phytopathogens. C-312 samples were used as control leaves and they were treated with ordinary water. They were incubated at 25° C for 20 days and no pathogenic symptoms in leaf tissues were observed, but disease symptoms were identified in these leaf tissues after infecting with fungal pathogens. In the result, it has been found that gene knockout lines have been shown to be resistant to pathogens.

Nowadays, there are performing several breeding projects in order to introduce valuable traits of those obtained gene knockout plants into varieties "Porloq" and "Ravnaq", which are developed in our Center and other local varieties.

In the result, cotton lines developed through RNAi (RNA interference) technology have shown resistance to disease-causing phytopathogenic microorganisms and that have been characterized by the development of biotechnological lines in comparison to conventional selection method to its reliability and development of varieties and lines during short period.



## МОЛЕКУЛЯРНЫЙ АНАЛИЗ СОРТОВ ОГУРЦА ПОСЕВНОГО (CUCUMIS SATIVUS L.) НА ИСКУССТВЕННУЮ ГЕНЕТИЧЕСКУЮ МОДИФИКАЦИЮ

**Абдираимова Х.М.<sup>1</sup>, Шерматов Ш.Э.<sup>1</sup>, Имамходжаева А.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Центр геномики и биоинформатики АН РУз, Ташкент, Узбекистан

*khumorik93@mail.ru*

В настоящее время генетически модифицированные сельхозкультуры выращиваются более чем 25 странах мира. Среди всех созданных генно-инженерных сельхозкультур лидерами по площадям посевов являются кукуруза, соя, хлопчатник и канола. Несмотря на то, что генетически модифицированные сельхозкультуры и продукты их переработки широко используются в пищевой промышленности уже в течение многих лет, обеспокоенность населения относительно их возможного негативного влияния на живые организмы сохраняется. В связи с этим во многих странах приняты законы, регулирующие использование ГМ-сельхозкультур и их продуктов в пищевой промышленности, и в соответствии с этим законом все сельхозпродукты и продукты питания в обязательном порядке должны проходить проверку на содержание генетически модифицированных организмов (ГМО).

Узбекистан ежегодно импортирует большое количество продуктов питания и корма, а также посевные семена кукурузы, томатов, огурцов, лука и других сельхозкультур, которые не проверяются на содержание ГМО в силу отсутствия законодательства в области регулирования использования ГМО. Тем не менее, необходимо проводить проверку поступающих из-за рубежа семян растений, сельхозпродуктов и продуктов питания на наличие ГМО.

Целью данного исследования было проведение скрининга различных сортов огурца посевного, реализуемых на рынках Узбекистана, с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Для проведения анализа на рынках Узбекистана были приобретены упакованные семена огурцов, обозначенные как сорта «ФЕНИКС 640», «ФЕНИКС ПЛЮС», «ДАЛЕКОСХІДНИЙ», «SAFAA MIX», «ORZU» и гибрид «IPA F1». Как известно, практически во всех генетических конструкциях, используемых для создания ГМ-сельхозкультур содержится 35S промотор вируса мозаики цветной капусты (CaMV 35S) и исходя из этого для проведения молекулярного скрининга методом ПЦР был отобрана праймерная пара 35S.

Образцы семян каждой упаковки были посажены в горшки, содержащие грунт и помещены в фитотрон. Из листьев выросших растений была выделена геномная ДНК с помощью метода СТАВ. Концентрацию геномной ДНК измеряли с помощью спектрофотометра Nanodrop 2000. В качестве положительных контролей для ПЦР служила геномная ДНК трансгенного хлопчатника и сои. В ходе ПЦР из геномной ДНК исследуемых растений огурцов не были получены продукты амплификации промотора CaMV 35S, в то время как из ДНК трансгенного хлопчатника и сои амплифицирован фрагмент длиной 123 пар оснований.

Таким образом, среди исследованных нами растений огурца посевного не были выявлены генетически модифицированные организмы.



## КОНСТРУИРОВАНИЕ ЭКСПРЕССИОННЫХ ВЕКТОРОВ CRISPR/CAS9 ДЛЯ РЕДАКТИРОВАНИЯ ГЕНОМА КАРТОФЕЛЯ

**Абеуова Л.С.<sup>1</sup>, Манабаева Ш.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>РГП "Национальный центр биотехнологии" КН МОН РК, Астана, Казахстан

*manabayeva@biocenter.kz*

Одним из важных научных открытий в области науки является метод редактирования генома с помощью технологии CRISPR/Cas9 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats). Эта система действует как тип адаптивного иммунитета у прокариот, который формировался в течение долгой эволюции. Простой и эффективный инструмент для целенаправленного мутагенеза генома привел к его широкому применению во многих видах растений, включая такие культуры, как картофель.

Картофель принадлежит к числу важнейших сельскохозяйственных культур в мировом производстве и занимает ведущее место вслед за рисом, пшеницей и кукурузой. В Казахстане картофель является одним из самых потребляемых продуктов растениеводства и основным сырьем для получения крахмала, который используется в кондитерской, текстильной и пищевой промышленности. Крахмал состоит из двух типов молекул, амилозы и амилопектина. Комбинируя определенные варианты генов, можно запрограммировать растения картофеля на производство крахмала с заданной структурой и свойствами. В геноме растений ген GBSS кодирует биосинтез амилозы и нокаут данного гена приводит к повышению амилопектина в составе крахмала.

В данной работе ген, кодирующий грануло-связанную синтазу крахмала (Granule Bound Starch Synthase, GBSS) был выбран в качестве мишени. С помощью программ Plant-P2.0 и CRISPR-Direct идентифицированы потенциальные сайты модификации гена GBSS. В первом экзоне гена GBSS были выбраны три целевых региона и обозначены как T1, T2 и T3. Чтобы сконструировать вектора с направляющей РНК, фрагменты ДНК, соответствующие целевым последовательностям, были химически синтезированы. Полученные ПЦР фрагменты клонированы по рестриционному сайту *BbsI* в вектора, такие как pEn-Chimera, pMR203, pMR204 и pMR205 между промотором AtU6 и последовательностью константной части направляющей РНК. Полученные кассеты с целевыми регионами использованы для создания экспрессионных векторов CRISPR/Cas9, содержащих один или три таргета. Экспрессионные векторы были сконструированы на основе плазмид pMR284 (pBUCas9Plus-2) и pMR287 (pYUCas9Plus) по сайтам attR1 и attR2 с использованием технологии MultiSite Gateway, без использования рестриционных ферментов или лигаз.

Таким образом, сконструированные рекомбинантные экспрессионные вектора с элементами CRISPR/Cas9 будут применяться для редактирования генома отечественных сортов картофеля.



## ИЗУЧЕНИЕ CRISPR CAS9 СИСТЕМЫ ИЗ CLOSTRIDIUM CELLULOLYTICUM

**Абрамова М.В.<sup>1</sup>, Селькова П.А.<sup>1</sup>, Мушарова О.С.<sup>2</sup>, Федорова Я.В.<sup>2</sup>, Северинов К.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>Сколковский институт науки и технологий, Сколково, Россия

*abramova.mv07@gmail.com*

Модификация геномов эукариотических и прокариотических организмов – одна из основных задач современной биотехнологии. Для ее решения был разработан ряд инструментов, самым эффективным и широко используемым на сегодняшний день являются CRISPR Cas9 системы (Cong et al 2013).

Эти системы берут свое начало из прокариотических организмов: в бактериях и археях CRISPR Cas обеспечивают адаптивный иммунитет (Marraffini et al, 2010).

SpCas9 из бактерий *Streptococcus pyogenes* был первым Cas белком, используемым для изменения генома клеток человека. Удобство его использования и высокая эффективность порезки целевых сайтов сделали SpCas9 лидирующим инструментом геномной инженерии. Несмотря на это у системы CRISPR-SpCas9 существует ряд недостатков.

Так, важной характеристикой, ограничивающей применение CRISPR-Cas является наличие PAM-последовательности, необходимой для узнавания ДНК Cas9 нуклеазой. SpCas9 узнает мишени, фланкированные “NGG” последовательностью, не всегда встречающейся у целевого сайта в геноме. Поэтому актуальным является поиск новых Cas9 систем с различными PAM для возможности редактирования любого участка ДНК. Кроме того, большой размер SpCas9 не позволяет осуществлять доставку всех компонентов системы в эукариотические клетки посредством AAV-векторов, имеющих небольшую емкость капсида. Поиск Cas9 белков малого размера может решить эту проблему.

Методами биоинформатики было предсказано наличие CRISPR-Cas9 системы в бактерии *Clostridium cellulolyticum* (далее CcCas9 система).

Эффекторный белок CcCas9 имеет малый размер (1030 аминокислотных остатков). С помощью РНК-секвенирования нами были определены последовательности направляющих РНК. Кроме того был проведен ряд экспериментов для проверки активности CcCas9 *in vitro* и определения его PAM последовательности. Результаты исследований показали, что CcCas9 способен специфически вносить двуниевые разрывы в ДНК при температуре от 37°C до 60°C.

Использование CcCas9 для генетической инженерии требует проверки его работы в эукариотических клетках.

Для проверки эффективности разрезания CcCas9 целевых сайтов в геноме клеток человека был создан ряд генетических конструкций: ген CcCas9 был помещен под регуляцию CMV промотора, к нему через P2A линкер был добавлен ген зеленого флуоресцентного белка GFP. В настоящее время ведутся работы по оценке активности CcCas9 в клетках HEK293.

Работа поддержана Министерством Образования РФ (соглашение №14.606.21.0006, уникальный идентификатор RFMEFI60617X0006)



## ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА РЕЦЕПТОРА ОКСИТОЦИНА В ОТДЕЛАХ МОЗГА ПОД ВЛИЯНИЕМ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА

**Абрамова О. В.<sup>1</sup>, Павлов К. А.<sup>1</sup>, Зубков Е. А.<sup>1</sup>, Зоркина Я. А.<sup>1</sup>, Морозова А. Ю.<sup>1</sup>,  
Чехонин В. П.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского, Москва, Россия

*abramova1128@gmail.com*

Пренатальный стресс может привести к нарушению нейрохимических процессов у потомства. Мы изучили влияние стресса на экспрессию рецептора окситоцина (ОТ) в разных отделах мозга, так как ОТ связан со многими поведенческими функциями.

Самок Sprague Dawley из экспериментальной группы (n=5) после оплодотворения отсаживали в индивидуальные клетки и подвергали эмоциональному стрессу через хроническое воздействие переменного ультразвука (УЗ) частотой 20-45кГц на протяжении всего периода беременности. Самки из контрольной группы (n=5) содержались в стандартных условиях. Было получено четыре группы животных из потомства: две экспериментальные УЗ группы: самцы (n=19) и самки (n=16) и две контрольные группы: самцы (n=8) и самки (n=8). Помимо этого в эксперименте были задействованы самцы (n=5) и самки (n=8), которые подверглись непосредственному воздействию УЗ на протяжении 21 дня. Потомство крыс тестировалось в ряде поведенческих тестов в возрасте 2 месяцев. В возрасте 3 месяцев все животные были декапитированы для получения образцов отделов мозга, из которых была выделена суммарная мРНК. Далее синтезировалась комплементарная ДНК, подбирались праймеры для гена рецептора ОТ и референсного гена бета-актина и ставилась ПЦР в реальном времени для определения экспрессии гена рецептора ОТ.

При изучении экспрессии рецептора ОТ в структурах мозга взрослых контрольных крыс, наименьшая экспрессия наблюдалась в гиппокампе, а наибольшая в амигдале и гипоталамусе. Помимо этого была обнаружена разница в экспрессии между самцами и самками в гиппокампе и гипоталамусе - у самцов экспрессия была выше, чем у самок в данных структурах ( $p < 0,01$ ).

Изучение экспрессии гена рецептора ОТ в гиппокампе показало, что у экспериментальных групп нивелировались половые различия в экспрессии, которые наблюдались у контрольной группы. В среднем мозге появились различия в экспрессии рецептора у самок и самцов при непосредственном воздействии УЗ – у самок экспрессия была выше, чем у самцов ( $p < 0,05$ ). В гипоталамусе непосредственное воздействие УЗ на животных привело к снижению экспрессии рецептора у самцов и к повышению у самок, по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,01$ ). В амигдале не было различий в экспрессии между группами.

Результаты поведенческих тестов показали, пренатальный стресс у крыс отрицательно влияет на память потомства, повышает его тревожность и социальную изоляцию. Это может быть связано, в том числе, с изменениями в ОТ регуляции поведенческих и когнитивных функций.



## АНАЛИЗ РОЛИ ОСТАТКОВ ЦИСТЕИНА В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ НИКУЮЩЕЙ ЭНДОНУКЛЕАЗЫ BspD6I

**Абросимова Л.А.<sup>1</sup>, Артюх Р.И.<sup>2</sup>, Перевязова Т.А.<sup>2</sup>, Юнусова А.К.<sup>2</sup>, Агаева З.Ф.<sup>3</sup>,  
Ларионова Е.Е.<sup>1</sup>, Кубарева Е.А.<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия; <sup>4</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, НИИ Физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Москва, Россия

*abrludmila@gmail.com*

Никующие эндонуклеазы (НЭ) – ферменты, узнающие специфические последовательности в двуцепочечной ДНК и гидролизующие одну цепь в строго фиксированном месте относительно участка узнавания. Благодаря своим свойствам НЭ привлекают внимание биологов как возможные участники защитных систем клеток и механизмов репликации и репарации. Объект исследования – НЭ BspD6I (Nt.BspD6I), большая субъединица гетеродимерной эндонуклеазы рестрикции BspD6I из термофильного штамма *Vacillus species* D6. Она способна самостоятельно узнавать последовательность 5'-GAGTC-3'/5'-GACTC-3' и гидролизовать «верхнюю» цепь ДНК на расстоянии 4 п.н. от участка узнавания. Одним из направлений исследования является выявление в Nt.BspD6I аминокислотных остатков, ответственных за связывание и гидролиз ДНК. Nt.BspD6I содержит 4 остатка Cys, которые предположительно могут участвовать в функционировании белка.

Для зондирования контактов остатков Cys с ДНК был использован метод селективного «кросслинкинга», основанный на реакции тиолдисульфидного обмена. С выходом более 20% получены ковалентно «сшитые» комплексы дикого типа Nt.BspD6I с ДНК. Мутантная форма Nt.BspD6I(C11S/C160S), не содержащая остатков Cys в N-концевом домене, взаимодействовала с модифицированными дуплексами с образованием конъюгатов, т.е., по крайней мере, остатки Cys в C-концевом каталитическом домене (в положениях 508 и/или 578) сближены с ДНК на стадии комплексообразования. Мутантные формы Nt.BspD6I с заменой одного или нескольких остатков Cys на Ser отличаются от дикого типа Nt.BspD6I по способности связывать и гидролизовать ДНК-субстрат, что также указывает на участие остатков Cys в функционировании фермента.

Методом РСА была получена кристаллическая структура дикого типа Nt.BspD6I (2ewf), однако комплексы фермента с ДНК закристаллизовать не удается. Сравнительный анализ 3D структур нативной и мутантных форм Nt.BspD6I (5liq, 5liz) показал, что замена остатков Cys в некоторых случаях приводит к изменению положения в пространстве боковых цепей аминокислотных остатков.

Авторы выражают благодарность Железной Л.А., Качаловой Г.С., Самсоновой А.Р. Работа проводилась при поддержке гранта РФФ (№ 18-74-00049).



## КОРРЕКЦИЯ МУТАЦИЙ В ЭКЗОНАХ 26 И 3 ГЕНА ДИСФЕРЛИНА ПУТЕМ ПРОВЕДЕНИЯ ИСКУССТВЕННОГО ТРАНС-СПЛАЙСИНГА

**Аглиуллина Д.Р.<sup>1</sup>, Старостина И.Г.<sup>2,1</sup>, Яковлев И.А.<sup>2,1,3,4</sup>, Деев Р.В.<sup>3,4</sup>, Исаев А.А.<sup>4</sup>, Соловьева В.В.<sup>1</sup>, Ризванов А.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия; <sup>2</sup>Genotarget LLC; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова, Рязань, Россия; <sup>4</sup>ПАО Институт стволовых клеток человека, Москва, Россия

*diana972@rambler.ru*

Мутации в гене дисферлина приводят к мышечной дистрофии типа 2Б и миопатии Миоши, которые являются одними из наиболее распространенных типов дисферлинопатии. В настоящее время не существует эффективного лечения данных заболеваний. Мы выбрали искусственный транс-сплайсинг (ИТ) для исправления мутаций в этом гене. ИТ позволяет перепрограммировать процесс сплайсинга РНК с целью замены поврежденного экзона на нормальный при помощи пре-транс-сплайсируемых молекул (ПТМ, англ. РТМ). ПТМ являются сложными молекулами, состоящими из 3 доменов: связывающий домен, нацеленный на необходимый экзон; домен сплайсинга, инициирующий процесс сплайсинга на претранс-сплайсируемой молекуле; и кодирующий домен, представляющий собой последовательность, отвечающую за кодирование нового экзона. Будет проведено два типа ИТ: 5'-транс-сплайсинг для экзона 3 гена *DYSF* и внутреннюю замену экзона 26. Нами проведена иммортализация фибробластов кожи и десны пациентов с мутацией в экзоне 26 и проведена иммортализация моноцитов пациентов с мутацией в экзоне 3. На клеточных линиях будет проведена активация гена *DYSF* с помощью системы CRISPR/Cas9 SAM, активация гена *DYSF* будет подтверждена с помощью RNA-seq. Затем клетки будут трансфицированы адено-ассоциированным вирусом серотипа 8, несущим ПТМ, нацеленным на необходимые экзоны. Изменения экспрессии гена дисферлина будут оцениваться с помощью ПЦР-РВ, рестрикционного анализа и RNA-seq. После проведения ИТ фибробласты десны будут трансдифференцированы в миоциты и миотубы с целью выяснения ультраструктурных изменений при помощи электронной микроскопии и проведения сравнения с миотубами здоровых пациентов.

## ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРОВ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ МОДИФИКАТОРОВ НА ТРАНСКРИПЦИЮ ГЕНОВ-МИШЕНЕЙ АРИЛ-ГИДРОКАРБОНОВОГО РЕЦЕПТОРА ЧЕЛОВЕКА

**Акишина А.А.<sup>1</sup>, Воронцова Ю.Е.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К.Кольцова РАН, Москва, Россия

*vjul83@mail.ru*

Арил-гидрокарбонный рецептор (Aryl hydrocarbon receptor, AHR), является лиганд-зависимым транскрипционным фактором, сохранившим в ходе эволюции свои структурные и функциональные особенности. Гены-мишени АHR играют ключевую роль в детоксикации, в регуляции процессов развития и поддержания гомеостаза эукариот. Среди целевых генов АHR много онкогенов, поэтому актуально исследовать возможность модулирования их транскрипцией на фоне повышенной экспрессии АHR.





Высокий консерватизм АНР человека позволил нам исследовать его функции *in vivo*, используя дрожофил, трансформированных человеческим геном АНР, и на клеточных культурах (НЕК293, клеточная линия, полученная из эмбриональных почек человека, и SusfP2, культура опухолевых клеток глиобластомы человека). В качестве экзогенных лигандов-агонистов АНР человека мы использовали индирубин и индол-3-карбозол, способных повышать активность АНР человека.

Результаты наших экспериментов неожиданно показали способность экзогенных лигандов-агонистов не только повышать, но и понижать уровень транскрипции целевых генов АНР. Мы предположили, что отсутствие ожидаемого увеличения транскрипции некоторых генов-мишеней АНР вызвано эпигенетическим сайленсингом. Данная гипотеза была подтверждена в экспериментах с использованием ингибиторов гистоновой деацетилазы HDAC и на дрожофилах с нулевой мутацией гена метил-трансферазы *Pc*.

В результате был открыт новый механизм эпигенетического контроля экспрессии генов-мишеней АНР. Это открытие служит основанием для коррекции существующих концепций о механизме активации целевых генов АНР, большинство из которых является онкогенами. Поскольку экзогенные лиганды АНР и ингибиторы эпигенетических модификаторов часто используются в качестве фармацевтических противоопухолевых препаратов, результаты нашей работы необходимо учитывать при разработке новых комбинаций терапевтических схем лечения онкологических заболеваний.

Данное исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00162 мол-а.

## СОЗДАНИЕ УСОВЕРШЕНСТВОВАННЫХ ШТАММОВ ДРОЖЖЕЙ SACCHAROMYCES CEREVISIAE, ПОЗВОЛЯЮЩИХ С ВЫСОКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТЬЮ ВЫЯВЛЯТЬ ШИРОКИЙ СПЕКТР НАРУШЕНИЙ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

**Афанасова Д.В.<sup>1</sup>, Андрейчук Ю.В.<sup>2</sup>, Жук А.С.<sup>1,2</sup>, Степченкова Е.И.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Санкт-Петербург, Россия

*dari.afanasova@gmail.com*

Главной задачей генетической токсикологии является оценка генотоксической активности потенциальных мутагенов и канцерогенов разной природы с целью прогнозирования и предотвращения негативных последствий их действия на генетический материал человека. Для решения этой задачи необходимо использовать эффективные тест-системы, которые должны обладать высокой пропускной способностью, высокой чувствительностью к генотоксическим факторам и способностью выявлять различные по своей молекулярной природе нарушения генетического аппарата. Особое место среди существующих тест-систем занимает альфа-тест, разработанный на кафедре генетики и биотехнологии Санкт-Петербургского государственного университета. С помощью альфа-теста появилась возможность выявлять и идентифицировать не только наследуемые изменения генетического материала, такие как генные мутации, конверсию, рекомбинацию, потерю правого плеча и целой III хромосомы, но и первичные повреждения ДНК, которые впоследствии либо безошибочно исправляются системами репарации, либо закрепляются в виде генных и геномных мутации. Альфа-тест основан на учете фенотипического проявления этих событий, приводящих к «незаконной» гибридизации гетероталличных штаммов дрожжей одинакового альфа типа спаривания.



Альфа-тест продемонстрировал высокую эффективность и чувствительность при исследовании последствий повреждения генома под действием физических, химических и эндогенных мутагенных факторов. Ранее в ходе исследований с использованием данной тест-системы были выбраны направления для дальнейшего совершенствования метода. В данной работе с использованием методов частной генетики дрожжей и методов молекулярной биологии в используемые в альфа-тесте штаммы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* были введены генетические модификации, позволяющие сократить сроки тестирования, повысить чувствительность к мутагенам и эффективность выявления редких генетических событий. Проведенное с использованием эталонных мутагенов тестирование показало увеличение чувствительности тест-системы на порядок. Также получены предварительные данные, свидетельствующие о возможности дальнейшего усовершенствования тест-системы в намеченном направлении. Полученные нами результаты имеют как фундаментальное значение для исследования механизмов мутационного процесса, так и прикладное значение для решения задач генетической токсикологии.

**Благодарности:** Работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-34-00130-мол-а и ресурсных центров СПбГУ «Биобанк» и «РМиКТ».

## ГЕНЫ СЕМЕЙСТВА *NOGGIN* В РАННЕМ РАЗВИТИИ БЕСЧЕЛЮСТНЫХ ПОЗВОНОЧНЫХ

**Байрамов А.В.<sup>1</sup>, Ермакова Г.В.<sup>1</sup>, Зарайский А.Г.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

*andrbayr@gmail.com*

Гены семейства *Noggin* являются важнейшими регуляторами клеточной дифференцировки и раннего развития зародышей позвоночных, обладая способностью модулировать активность внутриклеточных TGF-beta и Wnt сигнальных каскадов, играющих ключевые роли в клеточной дифференцировке и развитии головных структур. Семейство генов *Noggin* позвоночных включает три гена, описанные у представителей многих классов животных: *Noggin1*, *Noggin2* и *Noggin4*, паттерны экспрессии и функциональные свойства которых различаются.

Бесчелюстные являются наиболее древней группой ныне живущих позвоночных, у которой впервые в эволюции появляется дифференцированный конечный мозг, впоследствии развившийся в структуры, обеспечивающие высшую нервную деятельность у животных и человека. Молекулярные механизмы формирования конечного мозга активно изучаются в современной биологии развития. Исследование начальных стадий эволюции этих процессов может быть очень информативно для понимания особенностей их реализации в более высокоорганизованных группах животных, включая человека.

В контексте изучения механизмов появления в эволюции и развития структур переднего мозга, нами проводятся исследования у бесчелюстных и, в частности, миног, особенностей экспрессии и функциональных свойств генов, описанных у высших позвоночных в качестве ключевых регуляторов раннего развития центральной нервной системы. Ранее нам удалось обнаружить и клонировать кДНК одного из важнейших регуляторов развития переднего мозга позвоночных - гена *Anf* у трех видов миног, что явилось важным подтверждением выдвинутой ранее гипотезы о связи появления у позвоночных генов класса *Anf* с возникновением у них конечного мозга.



В ходе исследования генов *Noggin*, мы обнаружили у миног четыре гена этого семейства, которые по аминокислотным последовательностям, а также предварительным результатам анализа динамики и пространственных паттернов экспрессии, гомологичны трем генам *Noggin* других классов позвоночных. При этом показано, что экспрессия генов *Noggin* у миног активируется на более поздних стадиях развития, чем у амфибий. На зародышах шпорцевой лягушки *in vivo* показана способность генов *Noggin* миног индуцировать формирование комплекса дополнительных осевых структур, включая переднеголовые структуры (глаза).

Полученные данные указывают на то, что гены *Noggin*, кодирующие секреторные белки, представляют собой консервативный сигнальный механизм, возникший на самых ранних этапах эволюции позвоночных и играющий важнейшую роль в развитии переднеголовных структур этих животных.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№18-04-00015).*

## ПОЛУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНЫХ ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ ПРОДУЦЕНТОВ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ, НЕЙТРАЛИЗУЮЩИХ ЭБОЛАВИРУС ЗАИР

**Бауэр Т.В., Гаврилова Е.В., Максютов Р.А., Иматдинов И.Р., Пьяньков О.В.,  
Пьяньков С.А., Зайковская А.В., Солодкий В.В.**

ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»  
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия  
человека, Кольцово, Россия

*bauehr-tatjana@rambler.ru*

Эболавирус Заир принадлежит к семейству *Filoviridae* и вызывает тяжелую геморрагическую лихорадку у высших приматов и человека с высокой частотой летальных исходов 70-90 %. В 2014 году в Западной Африке произошла крупная вспышка лихорадки Эбола, которая распространилась на территории стран Африки: Либерия, Сьерра-Леон, Нигерия, Сенегал и Мали. Вспышка лихорадки Эбола, охватившая крупные города в Западной Африке в 2014 году, является беспрецедентной во многих отношениях. Случаи заражения в крупных городах увеличивают риск быстрого распространения инфекции в соседние страны и трансконтинентального распространения вируса воздушными перевозками, что представляет серьезную угрозу для всего мира.

Разработка терапевтических, диагностических и вакцинных препаратов остается актуальной ввиду отсутствия эффективной официально зарегистрированной вакцины против возбудителя геморрагической лихорадки Эбола.

Ранее от человека, перенесшего геморрагическую лихорадку Эбола, были получены варианты антител, обеспечивающих 100% выживаемость обезьян при контрольном заражении вирусом Эбола. Показано, что монотерапия препаратом рекомбинантных моноклональных антител Mab 114 позволила вылечить приматов, зараженных вирусом Эбола, что позволяет существенно упростить стратегию терапии данного заболевания.

Целью данной работы являлось получение эукариотических продуцентов прототипных моноклональных антител Mab 114 (препарат сравнения).

С использованием интеграционных векторов на основе синтетического транспозона *Sleeping Beauty* получены стабильные продуценты моноклонального антитела Mab 114. В качестве исходной культуры выступала аттестованная линия клеток почки собаки MDCK. При помощи клеточного сортера отобраны высокоэффективные клоны-продуценты. А также отработаны условия роллерного масскультивирования, оптимизирован протокол



хроматографической очистки и полировки рекомбинантного моноклонального антитела из кондиционированных культуральных сред.

Показана биологическая активность хроматографически очищенных рекомбинантных антител в *in vitro* и *in vivo* тестах против Эболавируса Заир.

## БИЦИСТРОННАЯ КОНСТРУКЦИЯ, СОДЕРЖАЩАЯ ГЕНЫ ЦЕЛЕВОГО И МАРКЕРНОГО БЕЛКОВ, ДЛЯ ИНТЕГРАЦИИ В ЛОКУС ГЕНА В-ЛАКТОГЛОБУЛИНА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ CRISPR/CAS9 ТЕХНОЛОГИИ

**Белова Н. В.<sup>1</sup>, Езерский В. А.<sup>1</sup>, Кутьин И. В.<sup>1</sup>, Колоскова Е.М.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных», Боровск, Россия

*navikbel@mail.ru*

Наиболее удачные экспрессионные векторы для продукции рекомбинантных белков (РБ) в молочной железе (МЖ) трансгенных животных (ТЖ), как правило, содержат протяженные 5'- и 3'-области гена одного из мажорных молочных белков: в результате с эффективностью природного гена генная конструкция (ГК) приобретает и соответствующий размер. Проблемы традиционного трансгенеза – случайность и низкая вероятность интеграции, копияность трансгена – не позволяют быстро добиться прогнозируемых результатов, что особенно актуально для получения крупных малоплодных с/х животных с заданными признаками. Использование CRISPR/Cas9 технологии повышает вероятность получения ТЖ не только с нокаутом одного или нескольких генов, но и сайт-специфичной интеграцией копии трансгена вместо гена хозяина.

Регуляторные районы гена  $\beta$ -лактоглобулина ( *$\beta$ LG*), основного сывороточного белка молока овец, коз, крупного рогатого скота (*bBLG*), часто используют в ГК для создания животных-биореакторов для получения РБ с молоком. CRISPR/Cas9 дает возможность как нокаута гена *bBLG* (с целью получения молока без аллергенного  $\beta$ -лактоглобулина), так и его замены геном биологически активного белка (например, получение гуманизированного молока с лактоферрином человека (чЛФ)).

Была получена бицистронная ДНК-матрица, содержащая две самостоятельные единицы экспрессии трансгенов и плечи гомологии к гену *bBLG*.

Первая единица содержит кДНК чЛФ (с последовательностью, кодирующей сигнальный пептид), фланкированную промоторной 5'-областью гена *bBLG* (5'-плечо гомологии) и сигналом полиаденилирования тимидинкиназы вируса простого герпеса (*HSV TK*).

Вторая цистронная единица содержит ген зеленого флуоресцентного белка (*EGFP*) под *cmv* промотором, терминированный сигналом полиаденилирования бычьего гормона роста (*polyA-BGH*). Экспрессия *EGFP* на ранних стадиях развития послужит маркером при отборе трансгенных эмбрионов.

Бицистронная ГК фланкирована плечами гомологии к гену *bBLG*. В 5'-плечо гомологии (1049 п.н.), содержащее 1-й и часть 2-го экзона, 1-й интрон, с сохранением рамки считывания введены мутации, приводящие к замене АТГ-триплетов 1-го экзона сайтами рестрикции для идентификации HDR. 3'-Плечо гомологии (1500 п.н.) соответствует последовательности от начала 6-го экзона гена *bBLG*.

Полученную ГК предполагается использовать в качестве HDR-матрицы для замещения гена  *$\beta$ LG* на кДНК *hLF* и ген *EGFP* с использованием CRISPR/Cas9 технологии



для отработки методики получения эмбрионов КРС, трансгенных по гену *hLF* и/или нокаутных по гену *βLG*.

АНТИСМЫСЛОВАЯ ТРАНСКРИПЦИЯ В РЕГУЛЯТОРНОЙ И РАННЕЙ  
ТРАНСЛИРУЕМОЙ ОБЛАСТИ ГЕНА *oppV* *E. coli*: РОЛЬ ТОПОЛОГИЧЕСКОГО  
СОСТОЯНИЯ ДНК В ФОРМИРОВАНИИ ПАТТЕРНА ФУНКЦИОНАЛЬНО  
АКТИВНЫХ СТАРТОВ СИНТЕЗА РНК

**Белухина С.Ю.<sup>1,2</sup>, Масулис И.С.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; <sup>2</sup>Институт биофизики клетки РАН Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федерального исследовательского центра «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», Пушкино, Россия

*svetabeluk@mail.ru*

Внутриоперонная транскрипция, наряду с функционированием регуляторных элементов, обеспечивающих синтез полицистронной мРНК, создает возможности для гибкой настройки уровня экспрессии индивидуальных генов оперона. Это особенно важно для оперонов, кодирующих многокомпонентные АВС-транспортёры бактерий, отдельные субъединицы которых не всегда синтезируются в стехиометрических соотношениях. Так, для оперона *oppABCDF E. coli*, отвечающего за транспорт олигопептидов, известно, что уровень синтеза мРНК для периплазматического сенсора *OppA* в три раза превышает продукцию мРНК для трансмембранных субъединиц *OppB* и *OppC*. Это позволяет предполагать, что транскрипция генов мембранных компонентов транспортера регулируется независимо. В данной работе транскрипционная активность регуляторной и ранней транслируемой области гена *oppB* исследована с использованием репортерного вектора на основе флуоресцентных белков EGFP mCherry, позволяющего регистрировать транскрипцию, как в направлении исследуемого гена, так и в антисмысловой ориентации. Наряду со слабой промоторной активностью в направлении *oppB*, была зарегистрирована превалирующая транскрипция в антисмысловом направлении, зависящая от глобальной суперскрученности ДНК. Использование праймеров, специфичных к генам флуоресцентных белков, позволило определить положение стартов транскрипции. В исследуемой области возможна инициация синтеза нескольких антисмысловых РНК, перекрывающихся с ранней кодирующей областью *oppB*, межгенным участком *oppA/oppB* и с 3' концевой областью *oppA*. Спектр синтезируемых РНК, по крайней мере, в составе векторной конструкции, оказался чувствительным к топологическому состоянию плазмиды и составу среды. Полученные данные позволяют предполагать наличие механизмов, регулирующих экспрессию генов оперона *oppABCDF E. coli*, реализующихся за счет поддержания определенного соотношения антисмысловых РНК, синтез которых, в свою очередь зависит от структурного состояния ДНК.



## СВЯЗЬ ПОЛИМОРФНОГО МАРКЕРА ГЕНА *CDKN1A* С ДЛИТЕЛЬНОСТЬЮ ВРЕМЕНИ БЕЗ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ РАКА ЯИЧНИКОВ ПОСЛЕ ХИМИОТЕРАПИИ ПРОИЗВОДНЫМИ ПЛАТИНЫ И ТАКСАНАМИ

**Бреннер Ц.К.<sup>1</sup>, Капралова М.А.<sup>1</sup>, Аткарская М.В.<sup>2</sup>, Тюляндина А.С.<sup>3</sup>, Стенина  
М.Б.<sup>3</sup>, Заварыкина Т.М.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия; <sup>3</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

*brenner123@mail.ru*

Рак яичника (РЯ) является одним из наиболее частых заболеваний в онкогинекологии, он занимает 2-е место по заболеваемости и 8-е место среди всех онкологических заболеваний у женщин в России. РЯ относится к числу высокочувствительных к химиотерапии (ХТ) опухолей. Одним из наиболее эффективных режимов ХТ первой линии при РЯ являются комбинации на основе производных платины в сочетании с паклитакселом, однако у небольшой части пациентов имеется исходная резистентность опухоли к производным платины. В связи с этим представляется актуальным поиск маркеров чувствительности к данной группе препаратов. Важную роль в выживании опухолевых клеток играет р53-зависимая система контроля клеточного цикла, ключевым звеном которой является ген *CDKN1A* и кодируемый им белок p21. Это – основной путь апоптоза, активирующийся при попадании в клетку цитотоксичных агентов, в частности препаратов платины.

Цель работы – изучение связи полиморфного маркера гена *CDKN1A* при РЯ длительностью времени без прогрессирования (ВБП) после платиносодержащей ХТ. ВБП является суррогатным клиническим маркером чувствительности к производным платины при раке яичника.

В исследование были включены 26 больных распространенным раком яичника (II-IV стадии) с медианой (мин.-макс.) возраста 54 (41-72) года. У больных до начала химиотерапии, при первичной циторедуктивной операции, был произведен забор образцов опухолевой ткани. После операции все больные получили стандартную химиотерапию с использованием паклитаксела и препаратов платины. Больные были поделены на две подгруппы по типу проведенной операции: с оптимальной и неоптимальной циторедуктивной операцией. Из образцов опухолевой ткани выделяли ДНК с помощью набора Diatom DNA Prep 400 (Россия). Определение статуса полиморфного маркера *Ser31Arg* гена *CDKN1A* проводилось методом ПЦР-ПДРФ и подтверждением результата методом ПЦР в реальном времени с последующим анализом кривых плавления продукта ПЦР. Статус маркеров был сопоставлен с длительностью ВБП. Сравнение кривых времени до прогрессирования в зависимости от изученного маркера проводилось методом Каплана-Мейера (long-rank test).

Было выявлено, что в подгруппе больных, которым была проведена оптимальная циторедуктивная операция, носительство минорного аллеля *Arg* маркера *Ser31Arg* гена *CDKN1A* ассоциировалось с уменьшением медианы ВБП (19.08 и 12.82 мес. при отсутствии и наличии аллеля *Arg* соответственно,  $p=0.04$ ).

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ, научный проект № 18-08-01258.



## ПОЛУЧЕНИЕ КРИСТАЛЛОВ БЕЛКА SmAP ИЗ HALOBACTERIUM SALINARUM ДЛЯ СТРУКТУРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

**Буюклян Ю. А.<sup>1,2</sup>, Фандо М. С.<sup>2</sup>, Леконцева Н. В.<sup>2</sup>, Никулин А. Д.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный гуманитарно-педагогический университет, Челябинск, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия

*Buyuklyan20@mail.ru*

Lsm (Sm-like) белки принадлежат семейству РНК-связывающих белков, присутствующих во всех трех доменах жизни: эукариотах, бактериях и археях. Они характеризуются консервативной пространственной структурой, называемой Sm-мотивом, состоящим из пятипяжевого  $\beta$ -слоя и N-концевой  $\alpha$ -спирали. Несмотря на схожую структурную организацию, Lsm белки из клеток разных доменов жизни имеют различающиеся функции. В бактериях они являются регуляторами трансляции многих генов, в эукариотах участвуют в процессинге РНК; функции архейных Lsm белков SmAP до настоящего времени не выяснены.

Цель работы является определение структуры белка SmAP из *Halobacterium salinarum* методом рентгеноструктурного анализа для дальнейшего исследования его функций.

Нами создан экспрессионный вектор, содержащий ген белка SmAP из *H. salinarum*. Белок выделен с чистотой, пригодной для кристаллизации. Получены кристаллы белка и с них собраны дифракционные данные на синхротроне ESRF (European Synchrotron Radiation Facility), Гренобль, Франция. Кристаллизация белка осуществлена методом диффузии паров в висячей капле. Размер белковых частиц был определен методом динамического рассеяния света (Malvern Zetasizer Nano ZSP). Результаты работы позволяют утверждать о формировании белком SmAP из *H. salinarum* четвертичной структуры в виде гептамеров, что характерно для архейных гомологов белка.

## КЛОНИРОВАНИЕ, ЭКСПРЕССИЯ И ПОИСК ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПАРТНЕРОВ СЕЛЕНОПРОТЕИНА SELM В РАЗЛИЧНЫХ РАКОВЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА.

**Варламова Е. Г.<sup>1</sup>, Гольтяев М. В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт биофизики клетки РАН ФГБУН Федеральный исследовательский центр "Пушинский научный центр биологических исследований Российской академии наук", Пушкино, Россия

*1928lv@mail.ru*

SELM- высококонсервативный селенопротеин, встечающийся у разных классов и видов животных, является резидентом эндоплазматического ретикулаума и локализуется преимущественно в мозге. Показано, что мРНК данного селенопротеина экспрессируется в различных раковых клетках [1,2], однако практически не существует информации о его роли в регуляции процессов канцерогенеза.

В рамках данной работы выполнены клонирование, экспрессия и поиск физиологических партнеров SELM в раковых клетках человека HT-1080 (фибросаркома) и MCF-7 (аденокарцинома молочных желез). Поиск выполняли методами аффинной хроматографии в тандеме с масс-спектрометрией MALDI-TOF, для этого сначала получили цистеиновый гомолог SELM человека путем сайт-направленного мутагенеза и



подобрали условия экспрессии его гена. Поскольку SELM имеет тиоредоксин-подобную укладку, предположили, что он взаимодействует со своими партнерами подобно тиоредоксину: тиол цистеина с низким рКа атакует межмолекулярную дисульфидную связь в белке-мишени, после чего вторая тиоловая группа тиоредоксинового каталитического центра восстанавливает тиол белка-мишени, при этом окисляясь с образованием дисульфидной связи [3].

При инкубировании очищенного SELM с лизатами клеток HT-1080 и MCF-7 в качестве его потенциальных партнеров идентифицированы две изоформы цитоплазматического актина: цитоскелетный  $\beta$ -актин и цитоскелетный  $\gamma$ -актин, которые отличаются друг от друга всего на 4 а.о. на N-конце и играют ключевую роль в ведущих клеточных процессах, таких как адгезия, миграция, поляризация и митоз. При опухолевой трансформации происходят патологические изменения подвижности клеток, вызванные нарушением регуляции актиновой системы, что приводит к инвазии и метастазированию опухоли. Кроме того, структурным гомологом SELM является другой селенопротеин тиоредоксин-подобного семейства-SEP15, снижение активности которого в раковых клетках приводило к блеббингу плазматической мембраны [4], процессу, в котором важная роль отводится актину. Возможно, являясь его структурным гомологом SELM вовлечен в регуляцию аналогичных процессов в исследуемых раковых клетках человека, однако это предположение требует дальнейшего подтверждения с помощью других независимых подходов.

Список литературы:

1. Varlamova E.G., Goltyaev M.V., Fesenko E.E. // Dokl. Biochem. Biophys. 2016.V. 468.P. 203-205.
2. Varlamova E.G. // J. Trace Elem. Med. Biol. 2018. V. 48. P. 172-180.
3. Dikiy A., Novoselov S.V., Fomenko D.E. et al. // Biochem. 2007. V. 46. P. 6871-6882.
4. Bang J.I., Jang M., Huh J.H. et al. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2015. V. 456. P. 884-890.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДИНАМИКИ ВАРИАбельНОСТИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА

**Виткалова И. Ю.<sup>1</sup>, Гуреев А. П.<sup>1</sup>, Туровский Я. А.<sup>1,2</sup>, Попов В. Н.<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт проблем управления имени В. А. Трапезникова РАН, Москва, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия

*vitkalovai@inbox.ru*

Вариабельность сердечного ритма (ВСР) для медицинских исследований служит одним из ключевых факторов для определения правильности работы сердечно-сосудистой системы, что в свою очередь может быть использовано как маркер состояния человека для профессиональных сфер, в частности операторских должностей. В нашем исследовании регистрация ВСР реализовалась при помощи прибора Поли-Спектр 12 (производство ООО «Нейрософт»). Генотипирование было проведено при помощи метода ПДРФ-анализа. ПЦР проводили на приборе Bio-Rad CFX96™ (Bio-Rad, USA) с использованием набора qPCRmix-HS (Евроген, Россия).

В исследовании были изучены связи точечных мутаций генов *BDNF*, *HTR2A*, *ТОММ40*, *АРОЕ* и *ТРН2* с показателями ВСР при прохождении испытуемым ряда





интерфейсов человек-компьютер: мозг-компьютер, окулографических, миографических и дыхательных.

В работе было показано, что SNV генов *HTR2A* и *TPH2*, принимающих участие в метаболизме серотонина, находятся в тесной связи с показателями ВСП при овладении нейрокомпьютерных интерфейсов. Для испытуемых с наличием С-аллеля SNV rs6313 гена *HTR2A* характерны более высокие показатели тонических влияний на ВСП при взаимодействии с окулографическим интерфейсом, что, по всей вероятности, может быть связано с увеличением экспрессии серотонинового рецептора, участвующего в вегетативной регуляции сердечного ритма. Так же результаты показывают связь генотипа Т/Т SNV rs4290270 гена *TPH2* с большим разбросом кардиоинтервалов. По всей видимости, это связано с увеличением экспрессии гена *TPH2*, который ускоряет лимитирующую стадию синтеза серотонина. Это может приводить к увеличению уровня серотонина в головном мозге и активации симпатических и парасимпатических отделов высшей нервной системы.

В ходе анализа полученных результатов, можно сделать вывод, что динамика показателей ВСП в большей степени характерна генетическими особенностями серотонинергической системы, например SNV rs6313 в гене *HTR2A* и rs4290270 гена *TPH2*. Данные полученные в ходе проведённой работы предоставляют возможность расширить представления о генетической детерминированности уровня функционального напряжения для лиц операторских профессий.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №17-29-02505 офи\_м

#### ДИАГНОСТИКА ПРЕЭКЛАМПСИИ: РАЗРАБОТКА ЭКСПРЕСС-ТЕСТА НА ОСНОВЕ АМИЛОИД-СПЕЦИФИЧНОГО КРАСИТЕЛЯ CONGO RED

**Герасимова Е.М.<sup>1</sup>, Куличихин К. Ю.<sup>1</sup>, Рубель А.А.<sup>1</sup>, Вашукова Е.С.<sup>2</sup>, Пакин В.С.<sup>2</sup>, Глотов А.С.<sup>2</sup>, Чернов Ю.О.<sup>3,1</sup>, Федотов С.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГНБУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия;

<sup>3</sup>Технологический институт Джорджии, Атланта, США

*elelovaya@gmail.com*

Ряд нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера, Паркинсона, хорея Гентингтона и другие, которые объединяются под общим термином амилоидозы, обусловлены нарушением белкового обмена, сопровождающимся образованием и отложением в тканях специфического белкового комплекса — амилоида. Амилоиды – это белковые агрегаты фибриллярной природы, формирующие межмолекулярные кросс-β-структуры.

Преэклампсия (ПЭ) – патология при беременности, лидирующая среди причин материнской и детской смертности в мире – имеет характеристики, позволяющие отнести этот синдром к амилоидозам. ПЭ возникает после 20-й недели беременности и проявляется триадой симптомов: артериальной гипертензией, протеинурией и отеками. Это состояние в отсутствие срочного родоразрешения может перейти в эклампсию, которая ведет к инсульту, отказу печени и смерти. Никакой терапии преэклампсии, помимо искусственного прерывания беременности, не существует. Этиология и патогенез ПЭ остаются по-прежнему малопонятными, отсутствуют достоверные методы диагностики этого осложнения беременности. Поэтому существует необходимость проведения исследований, направленных на создание новых диагностических тестов ПЭ.



Ранее Buhimschi с соавт. (2008) выявили в образцах мочи беременных с ПЭ белки, склонные к агрегации (SERPINA1, бета-амилоид др.). Авторами была показана возможность использования теста на окрашивание белков мочи беременных амилоид-специфическим красителем Конго красным (CRD, Congo Red Dot) для постановки диагноза ПЭ. При этом диагностический и прогностический потенциал CRD-теста оказался выше, чем для экспресс-оценок при помощи диагностических полосок.

Нами была выполнена собственная оценка эффективности применения красителя Конго красного для подтверждения и уточнения диагноза ПЭ. С помощью CRD-теста были проанализированы образцы мочи беременных с ПЭ (n=25) и группы контроля (n=30). Для каждого образца рассчитывали коэффициент удержания Конго (CRR). Было установлено, что данный показатель у женщин с ПЭ статистически значимо выше, по сравнению с контрольной группой. На основании результатов был определен диапазон значений показателя CRR, указывающий на развитие ПЭ. Дополнительно была проведена оптимизация метода CRD-теста Buhimschi и соавт. (2008). Показана возможность непосредственного нанесения образцов на мембрану с Конго красным без предварительного инкубирования, а также использование более безопасных реагентов. Ведётся разработка экспресс-теста для быстрой визуальной диагностики ПЭ.

## ВЛИЯНИЕ СЕЛЕН-СОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ СЕЛЕНОПРОТЕИНОВ-РЕЗИДЕНТОВ ЭНДОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО РЕТИКУЛУМА В РАЗЛИЧНЫХ РАКОВЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА

**Гольтаев М.В.<sup>1</sup>, Варламова Е.Г.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт биофизики клетки РАН ФГБУН Федеральный исследовательский центр "Пушинский научный центр биологических исследований Российской академии наук",  
Пушино, Россия

*goltayev@mail.ru*

Известно, что существует 8 селенопротеинов-резидентов эндоплазматического ретикулума (ЭР) [1, 2], для некоторых из которых экспериментально доказано участие в регуляции процессов канцерогенеза, сопряженных со стрессом ЭР. Являясь оксидоредуктазами, селенопротеины обладают антиоксидантными свойствами, а роль селена (Se) как в составе неорганических, так и органических соединений в регуляции важнейших процессов, таких как канцерогенез и стресс ЭР, в последние десятилетия активно исследуется.

Исследовано влияние распространенных соединений Se с противоопухолевой активностью: селенита натрия (СН) и метилселениновой кислоты (МСК) на экспрессию генов 8 селенопротеинов-резидентов ЭР в раковых клетках человека HT-1080 (фибросаркома) и MCF-7 (аденокарцинома молочной железы) методом ПЦР в реальном времени и Вестерн-блот анализом. Ранее нами установлен диапазон концентраций СН и МСК, способных снижать жизнеспособность различных раковых клеток [3-5], поэтому исследовали максимальную и минимальную концентрации этих веществ: 1 мкМ и 10 мкМ. Изменение уровня экспрессии мРНК генов до и после обработки СН и МСК определяли по формуле  $OУЭ=2-\Delta\Delta St$ , где  $\Delta\Delta St$ -разница значений  $\Delta St$  для каждого гена в клетках до и после обработки. Количество суммарной РНК (2 мкг), используемое в реакциях обратной транскрипции, контролировали, проводя параллельно реакцию амплификации с использованием праймеров, специфичных к гену hGardh человека. Можно заключить, что СН и МСК по-разному влияют на уровень экспрессии селенопротеиновых генов в зависимости от концентрации этих веществ и от клеточной



линии. Существенное усиление экспрессии характерно для генов hSELM, hSELK и hSELI при обработке 1 и 10 мкМ МСК в обеих клеточных линиях, значительное снижение экспрессии генов hSELS и hSELF при обработке обеих клеточных линий 10 мкМ МСК. Полученные данные подтверждены Вестерн-блот анализом.

Список литературы:

1. Varlamova E.G. // J. Trace Elem. Med. Biol. 2018. V. 48. P. 172–180.
2. Varlamova E.G., Goltyaev M.V., Novoselov V.I., Fesenko E.E. // Dokl. Biochem. Biophys. 2017. V. 476. P. 320–322.
3. Varlamova E.G., Goltyaev M.V. // Biophysics. 2018, V. 63. P. 699–704.
4. Kuznetsova Y.P., Goltyaev M.V., Gorbacheva O.S., Novoselov S.V., Varlamova E.G., Fesenko E.E. // Dokl. Biochem. Biophys. 2018. V. 480. P. 131-134.
5. Varlamova E.G., Goltyaev M.V., Kuznetsova Y.P. // Mol. Biol. (Mosk). 2018. V. 52. P. 446-452.

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ИЗУЧЕНИЕ НОВЫХ ДНК-СВЯЗЫВАЮЩИХ ФАКТОРОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С БЕЛКОМ GAF У *DROSOPHILA MELANOGASTER*

**Горбенко Ф.В.<sup>1</sup>, Михайлова А.М.<sup>1</sup>, Ерохин М.М.<sup>1</sup>, Четверина Д.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

*gorfedya66@gmail.com*

В настоящее время активно исследуются принципы регуляции экспрессии генов на уровне транскрипции. Одними из важнейших вопросов являются механизмы функционирования ДНК-регуляторных элементов генома. Ключевую роль в этих процессах играют специфичные ДНК-связывающие белки, которые рекрутируют различные транскрипционные комплексы на хроматин. В геноме *Drosophila melanogaster* одним из ключевых ДНК-связывающих регуляторов является белок GAF (GAGA-factor; фактор, связывающий GA-повторы). В зависимости от геномного контекста, он участвует в привлечении на хроматин репрессорных, активаторных, либо инсуляторных комплексов. Проведенный нами недавно подробный анализ интерактома GAF выявил множество партнеров этого фактора. В их числе были и белки с характерным ДНК-связывающим мотивом типа «цинковые пальцы» C2H2-типа. Одним из таких факторов является белок Sry-delta. В дрожжевой двугибридной системе мы протестировали прямое взаимодействие Sry-delta с различными репрессорными и инсуляторными факторами. В результате, было обнаружено, что прямым партнером Sry-delta является белок BEAF-32. С помощью делеционного анализа мы установили, что в этом взаимодействии участвует ZAD-домен со стороны Sry-delta и центральный альфа-спиральный участок со стороны BEAF-32. Полногеномный ChIP-seq-анализ выявил места ко-локализации Sry-delta и BEAF-32 вблизи промоторов многих генов. Таким образом, мы предполагаем, что связывание BEAF-32 с хроматином модулируется Sry-delta.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда 18–74–10091.



## НОВЫЙ ПОДХОД ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ВЛИЯНИЯ ПОСТТРАНСЛЯЦИОННЫХ МОДИФИКАЦИЙ НА ТРАНСПОРТ YB-1

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

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

*grigorievaka@gmail.com*

Белок YB-1 – многофункциональный белок позвоночных, его партнеры находятся как в цитоплазме, так и в ядре клетки. В цитоплазме YB-1 принимает участие в трансляции и стабилизации мРНК, в ядре – в регуляции репликации, транскрипции ДНК. Белок YB-1 в норме проявляет преимущественно цитоплазматическую локализацию. В некоторых случаях (переход G1/S клеточного цикла, стресс, модификации) YB-1 транслоцируется в ядро. Наиболее изученной модификацией YB-1, влияющей на его транспорт, является фосфорилирование по S102.

Транспортная система ядерного импорта (*in vitro transport assay*) является простым и удобным методом изучения механизмов транспорта белков. Ее преимущество заключается в возможности контроля условий в которых осуществляется транспорт. Фосфорилирование – одна из возможных посттрансляционных модификаций, регулирующая многочисленные процессы, в том числе и транспорт. Для изучения влияния фосфорилирования используется фосфомиметический подход, при котором в сайты фосфорилирования вводятся замены аминокислот для имитации дефосфорилированного состояния (замена на аланин) и фосфорилированного состояния (замена на аспарагиновую или глутаминовую кислоту). Мы решили объединить эти два подхода для изучения влияния модификаций белка YB-1 на его ядерно-цитоплазматический транспорт (импорт).

В транспортной системе мы использовали два типа условий культивирования клеток: стандартные условия (YB-1 в цитоплазме) и условия стимулирующие переход (YB-1 в ядре). Сравнение локализации мутантных белков с локализацией дикого типа в разных условиях позволит идентифицировать замены, которые приводят к стимулированию или ингибированию перехода белка. Мы ожидаем, что если фосфорилирование стимулирует переход, то фосфомиметический мутант будет в ядре даже в стандартных условиях, а дефосфорилированный – в цитоплазме в стимулирующих условиях. Если фосфорилирование ингибирует переход, то фосфомиметический мутант при стимуляции будет в цитоплазме, а дефосфорилированный – будет детектироваться в стандартных условиях в ядре.

Как и ожидалось, белок YB-1 S102A не переходил в ядро при стимуляции, тогда как YB-1 S102D детектируется в ядре в стандартных условиях. Таким образом, фосфорилирование S102 активирует транспорт белка YB-1 в ядро, что согласуется с данными литературы. Следовательно, описанный подход можно использовать для изучения влияния посттрансляционных модификаций на транспорт белков.

Работа поддержана грантом РФФИ 18-34-0035918.



## МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ И ФИЛОГЕОГРАФИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ СНИ-ПОЛЧКА, *GLIS GLIS L.* (GLIRIDAE) ВОСТОЧНОЙ ЕВРОПЫ И КАВКАЗА.

**Григорьева О.О.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия

*grig\_forever@mail.ru*

Впервые показаны достоверные различия формы верхних коренных зубов полчка, *Glis glis L.*, Восточной Европы и Кавказа. Полчки Восточно-Европейской равнины и Карпат сходны с полчками Западного Кавказа и характеризуются более крупными коренными зубами (по длине и ширине снашивающей коронки) в отличие от полчков Восточного Кавказа и Закавказья. Полчки Западного Кавказа достоверно отличаются от полчков Восточной Европы только по длине коронки M1, а от полчков Восточного Кавказа по всем 6 промерам коренных и по 4 промерам из 6 от полчков Закавказья. Полчки Восточного Кавказа и Закавказья близки между собой. Но по форме снашивающейся поверхности верхних коренных зубов исследованные выборки достаточно хорошо распределяются на две группы - полчков Восточной Европы (включая Карпаты) и Кавказа.

Также показано сходство длительно изолированных популяций Восточной Европы и Кавказа по митохондриальному гену *cytb*. Полчки Кавказа имеют гаплотип гена *cytb* Нар02. В то же время последовательности гена *cytb* полчков из Нижегородской области отличаются от гаплотипа Нар02 (в том числе и от полчков Самарского региона, Жигули) двумя фиксированными синонимичными заменами в позициях 390 (замена С/Т) и 504 (Т/С), которые не известны в других гаплотипах этого вида (новый гаплотип НарА).

Морфологические различия полчков Восточной Европы и Кавказа могли быть следствием их длительной изоляции и существования на Кавказе плейстоценового рефугиума. Судя по темпам накопления замен в последовательностях митохондриальных генов у видов семейства сонь, Gliridae, (Nunome et al., 2007) и крайне низкой генетической изменчивости полчка, возникновение нового гаплотипа нижегородской популяции в голоцене (последние 10 тыс. лет) мало вероятно. На Русской равнине могли расселяться разные популяции полчков из Центральной Европы. Поскольку известно расселение на Русской равнине в послеледниковье дуба и липы не только из Центральной Европы, но и из Поволжья (Кожаринов, 2006), нельзя исключить и существование в Поволжье плейстоценового рефугиума полчка.

## СОЗДАНИЕ И АПРОБАЦИЯ АКТИВАТОРОВ/РЕПРЕССОРОВ ТРАНСКРИПЦИИ НА ОСНОВЕ CRISPR-CAS9 СИСТЕМЫ РЕДАКТИРОВАНИЯ ГЕНОМА В КЛЕТКАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

**Груздева Н.А.<sup>1,2</sup>, Круглов А.А.<sup>1,2</sup>, Евдокимовская Ю.В.<sup>2</sup>, Кононов А.В.<sup>1,2</sup>,  
Соловьёв В.В.<sup>1,2</sup>, Басовский Ю.И.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушино, Россия; <sup>2</sup>ЗАО «BIOCAD», Любучаны, Россия

*gruzdeva@biocad.ru*

Возможность управления уровнем экспрессии определенных генов в клетке дает экспериментатору широкие возможности по контролируемому воздействию на ее



фенотип, ростовые, метаболические и секреторные характеристики. Однако существующие подходы к регуляции экспрессии генов несовершенны. Они позволяют либо выключить ген (нокаут), либо понизить его активность с мало предсказуемой и нестабильной эффективностью (нокдаун). Непосредственно активировать выбранный ген, что зачастую более важно, данными методами невозможно.

Цель: Создать синтетические активаторы и ингибиторы транскрипции генов в клетках млекопитающих на основе CRISPR-Cas9 системы редактирования генома.

Материалы и методы: Разработан и собран *de novo* вектор, кодирующий каталитически неактивную форму нуклеазы Cpf1, слитую с комплексом доменов активации транскрипции VPR. Сконструирован также вектор, кодирующий каталитически неактивную форму нуклеазы Cas9, слитую с доменом ингибирования транскрипции KRAB. Эти же вектора кодируют молекулу guide RNA (gRNA), комплементарную определенному участку исследуемого промотора. Эффективность созданных модификаторов транскрипции оценивалась после трансфекции ими культуры клеток НЕК293/*FLuc* по изменению уровня экспрессии репортерного гена люциферазы, стабильно экспрессирующегося в этой линии.

Результаты: Созданный синтетический активатор усиливал экспрессию репортерного гена в 2,5 раза. Ингибитор транскрипции снижал уровень экспрессии репортерного гена на 80% относительно базального уровня. По итогам анализа панели различных вариантов gRNA была показана зависимость увеличения/снижения уровня люминесценции от близости расположения сайта узнавания gRNA к точке начала транскрипции. Это свидетельствует о возможности тонкой регуляции уровня транскрипции.

Выводы: Разработана универсальная платформа, позволяющая в широком диапазоне изменять уровень экспрессии целевых генов в клетках млекопитающих. Данный подход может найти применение в инженерии клеточных линий, в том числе для создания/модификации линий-продуцентов терапевтических белков и продуктов в области генной и клеточной терапии.

## PYRAMIDING OF NEW QTL LOCI INTO A SINGLE GENOTYPE IN COTTON

**Дарманов М.М.<sup>1</sup>, Туланов А.А.<sup>1</sup>, Макамов А.Х.<sup>1</sup>, Тураев О.С.<sup>1</sup>, Кушанов Ф.Н.<sup>1</sup>,  
Абдурахмонов И.Ю.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Центр геномики и биоинформатики АН РУз, Ташкент, Узбекистан

*muhtor.darmanov@mail.ru*

The goal of this research was to pyramid QTLs, which control cotton fiber quality traits such as fiber length, strength and elongation using MAS technique. In this study, the commercial Uzbek cotton cultivar “Andijan-35” was used as a recipient parent, “L-141” and “Saenr Pena85” lines as donor genotypes. The recipient parent, “Andijan-35” is an elite cultivar that has high yield, but poor fiber quality. “Andijan-35” was crossed with “L-141” (possessing marker locus BNL1604 associated with fiber length and strength) and “Saenr Pena85” (having marker locus BNL3650 associated with fiber elongation) donor lines. Resulting two different F<sub>1</sub> hybrids were crossed with each other in order to combine two different QTLs of fiber length, strength and elongation. Subsequently, complex F<sub>1</sub> hybrids have been backcrossed with the recipient genotype for the next four generations. In addition, twice self-pollinations were conducted in obtained BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub> hybrids, which combining two QTL loci in BC<sub>4</sub>F<sub>3</sub> hybrids were resulted in with improved fiber quality properties.



The results of fiber quality analysis of the homozygous plants in BC<sub>4</sub>F<sub>3</sub> generation showed the mean fiber length – 1.20 inches, strength – 35.2 g/tex and fiber elongation – 8.8 %. These parameters are significantly lower in the recipient genotype “Andijon-35”, in which fiber length is 1.12 inches, strength – 31.5 g/tex and fiber elongation – 7.0 %. “L-141” line is one of the donor genotypes of BC<sub>4</sub>F<sub>3</sub> generation that has a mean fiber length and strength of 1.27 inches and 40.7 g/tex and fiber elongation 7.6%. The second donor, “Saenr Pena85” has a mean fiber length - 1.09, fiber strength - 30.1 g/tex and fiber elongation – 9.0 % .

Thus, the fiber quality of the obtained homozygous plants in BC<sub>4</sub>F<sub>3</sub> generation is significantly higher than the recipient-like genotype “Andijon-35” where fiber length increased by 7.7 %, strength by 10.5 %, and elongation by 20.5 %.

Results of fiber quality analysis of BC<sub>4</sub>F<sub>3</sub> hybrids revealed that QTLs, which were stacked into a new cotton lines, had a significant impact on improving the fiber quality traits of BC<sub>4</sub>F<sub>3</sub> hybrids. Molecular breeding experiments confirmed DNA markers used in this study as an effective breeding tool for combining targeted gene loci in single genotype.

## GPR55 КАК МИШЕНЬ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ ЭНДОВАНИЛОИДОВ

Дудина П.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

*polinadudkinz@gmail.com*

GPR55 – это неклассический каннабиноидный рецептор, природным лигандом которого считается липид лизофосфатидилинозит. Предполагается, что GPR55 отвечает за стимуляцию пролиферации раковых клеток. При этом есть данные о том, что при активации GPR55 биоактивными липидами семейства эндованилоидов ацилдофаминами запускается клеточная смерть, однако, это показано только на линии клеток PC12. Цель работы - выяснить, является ли GPR55 универсальной мишенью цитотоксичности эндованилоидов.

Для проверки выдвинутой гипотезы использовали 6 линий клеток с разным уровнем экспрессии GPR55: MCF-7, MDA-MB-231, SW620, DU145, PC-3 и PANC-1. Клетки высевали в 96-луночный планшет с плотностью 30000 на лунку на момент эксперимента для построения кривой выживаемости. В качестве модельного ацилдофамина использовали дофаминамид арахидоновой кислоты (DHA-DA). Растворы DHA-DA в диапазоне концентраций 0.05-100 мкМ готовили в DMSO, разбавляли средой и добавляли к клеткам двумя способами: 1:1 кондиционированная: свежая среды или в виде последовательного добавления 25 мкл свежей среды и 25 мкл среды с веществом с часовой инкубацией между добавлениями на 24 часа (финальная концентрация DMSO 0.8%). Выживаемость клеток оценивали с помощью МТТ-теста. После этого клетки обрабатывали концентрацией DHA-DA, вызывающей гибель 50-70% культуры, и блокаторами GPR55 CID16020046 и каннабидиолом в концентрациях 0.4, 4 и 10 мкМ с двухчасовой преинкубацией на 24 часа.

Стимуляция GPR55 природным агонистом лизофосфатидилинозитолом, как и ожидалось, не привела к апоптозу.

DHA-DA был токсичен для всех линий (EC<sub>50</sub> 42±3, 87±1, 15±2, 15, 29±2, 23±2,5 мкМ для MCF-7, MDA-MB-231, DU-145, SW-620, PANC-1, PC-3 соответственно). Из литературы известно, что экспрессия гена GPR55 наблюдается во всех используемых линиях, кроме линии MCF-7, и мы ожидали, что блокаторы будут активны для всех линий, кроме нее. Для клеток MCF-7 блокаторы не сработали. Для клеток MDA-MB-231



концентрации 0.4 и 4 мкМ CID и CBD обеспечили практически полную защиту от цитотоксичного агента. Концентрация 10 мкМ повысила выживаемость до 50%. Для остальных линий повышение выживаемости наблюдалось до 50% на низких концентрациях и до 40% на высоких.

Также были проведены эксперименты с классическим эндованилоидом анандамидом, результаты которых показали, что активация GPR55 анандамидом также приводит к клеточной смерти посредством активации GPR55.

Таким образом, по результатам экспериментов GPR55 является мишенью цитотоксичности биоактивных липидов семейства эндованилоидов.

Работа частично поддержана грантом РФФИ 19-04-00302.

## ХАРАКТЕРИСТИКА 6S РНК ИЗ АЛЬФА-ПРОТЕОБАКТЕРИЙ

**Елкина Д.А.<sup>1</sup>, Буренина О.Ю.<sup>2</sup>, Банникова В.А.<sup>2</sup>, Кубарева Е.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, ФГБОУ ВО

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

<sup>2</sup>Химический факультет, ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*d.jolk@yahoo.com*

6S РНК – это малая некодирующая РНК (нкРНК), осуществляющая регуляцию экспрессии генов в прокариотических клетках. В отличие от большинства бактериальных нкРНК, которые взаимодействуют с мРНК определенных генов, 6S РНК связывает белок – РНК-полимеразу (РНКП) – и блокирует ее активность. Это приводит к глобальному угнетению транскрипции в клетке. Имитируя промотор ДНК, 6S РНК может служить матрицей для синтеза коротких РНК-транскриптов (пРНК), что при определенных обстоятельствах приводит к высвобождению РНКП из прочного комплекса с 6S РНК. Основные исследования в этой области проведены для *Escherichia coli* и *Bacillus subtilis*, при этом были выявлены значительные отличия в особенностях функционирования в этих бактериях.

В данной работе мы сравнили характерные свойства 6S РНК из трех различных альфа-протеобактерий: *R. sphaeroides*, *B. japonicum* и *S. meliloti*. В первую очередь с помощью Нозерн-блоттинга были получены профили экспрессии всех трех 6S РНК, которые также были подтверждены методом ОТ-кПЦР. Несмотря на близкое родство *B. japonicum* и *S. meliloti*, максимальная концентрация 6S РНК в этих бактериях приходилась на разные фазы клеточного роста. Также было показано, что все три 6S РНК образуют комплекс с холоферментом РНКП *E. coli*. В экспериментах по транскрипции *in vitro* с радиоактивно-мечеными нуклеозидтрифосфатами был впервые продемонстрирован синтез 17–24-звенных пРНК для всех трех 6S РНК. При этом образующиеся пРНК остаются связанными с соответствующими 6S РНК, что является их характерной особенностью.

Работа поддержана грантом РФФИ № 19-04-00791.





## ВЛИЯНИЕ ПРОМОТОРА ГЕНА В-АКТИНА НА mTOR-ЗАВИСИМУЮ РЕГУЛЯЦИЮ ТРАНСЛЯЦИИ

**Жилин Д.А.<sup>1</sup>, Овчинников Л.П.<sup>1</sup>, Елисеева И.А.<sup>1</sup>**

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

*zhilindmitr@yandex.ru*

mTOR сигнальный каскад отвечает на стрессовые условия, доступность аминокислот, кислорода и энергии, и играет ключевую роль в регуляции биосинтеза белка. При ингибировании mTOR падает трансляция мРНК, содержащих на 5' конце олигопиримидиновую последовательность (TOP-мотив). Недавно показано, что трансляция мРНК β-актина (ACTB), не содержащая TOP-мотива, тоже регулируется mTOR. Мы предположили, что в регуляции трансляции мРНК ACTB могут быть задействованы промоторные области. Факторы транскрипции, связанные в промоторе, могут сажать на мРНК регуляторные белки, которые определяют ее регуляцию трансляции.

Целью работы было определить, участвует ли промотор в mTOR-зависимой регуляции трансляции ACTB. На основе плазмид с репортерным геном короткоживущей люциферазы и промоторными областями и 5'НТО генов ACTB и SLU7 (контроль), были получены химерные конструкции с промотором одного гена и 5'НТО другого (ACTB/SLU7 и SLU7/ACTB). После трансфекции, сравнивали изменение активности люциферазы и количества репортерной мРНК в ответ на ингибирование mTOR. Мы ожидали, что если за регуляцию отвечает промоторная область, то трансляции мРНК с 5'НТО SLU7, транскрибированная с промотора ACTB, будет ингибироваться. Если же за регуляцию отвечает 5'НТО, то снижение трансляции будет для мРНК, транскрибированной с SLU7/ACTB конструкции. Оказалось, что при ингибировании mTOR снижается трансляция мРНК, синтезированных с обеих химерных конструкций. Полученный результат свидетельствует о том, что существует два регуляторных элемента в промоторе и 5'НТО гена β-актина.

Недавно обнаружено, что трансляция неметилированной по аденину (m6A) мРНК чувствительна к ингибированию mTOR. Также показано, что степень метилирования мРНК обратно коррелирует со скоростью транскрипции и наличием ТАТА-бокса. Мы предположили, что ТАТА-бокс может приводить к снижению метилирования мРНК ACTB, и, как следствие, к mTOR-чувствительности ее трансляции. Для проверки этой гипотезы в промоторные области вносили точечные мутации для инактивации (ACTB) или создания (SLU7) ТАТА-бокса. Далее сравнивали изменение активности люциферазы и количества репортерной мРНК в ответ на ингибирование mTOR. Мы ожидали, что инактивация/создание ТАТА-бокса приведет к исчезновению/появлению трансляционного ответа на ингибирование mTOR. Однако мутации не повлияли на mTOR-опосредованный трансляционный ответ. Таким образом, ТАТА-бокс не влияет на mTOR-зависимую регуляцию трансляции ACTB мРНК.

Работа поддержана грантом РФФ № 17-74-10179.



## АГРЕГАТЫ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА SFP1 КОЛОКАЛИЗУЮТСЯ С ШАПЕРОНАМИ И ФАКТОРАМИ ИХ СОРТИРОВКИ

**Зайцева Н.А.<sup>1</sup>, Матвеев А.Г.<sup>1</sup>, Журавлева Г.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, Россия

*neptunium@gmail.com*

Ген *SFP1* кодирует транскрипционный фактор в дрожжах *Saccharomyces cerevisiae*, который влияет на множество процессов в клетке. В том числе его сверхэкспрессия влияет на токсичность приона [*PSI*<sup>+</sup>] через увеличение экспрессии *SUP35* и изменения размеров агрегатов. По структуре в гене *SFP1* можно выделить Q/N-богатую последовательность, что является предпосылкой для формирования Sfp1 агрегатов, которые могли бы влиять на прион [*PSI*<sup>+</sup>]. Как известно, кроме Sfp1 есть еще большое количество шаперонов и других белков, которые взаимодействуют с Sup35 и влияют на токсичность агрегированного белка, на рост колоний.

Для выявления белков, ассоциированных с агрегатами Sfp1 были поставлены трансформации штамма OT56, несущего прионы [*PSI*<sup>+</sup>] и [*PIN*<sup>+</sup>], плазмидными векторами, один из которых содержал *SFP1* (полноразмерный или с делецией), слитый с флуоресцентным белком. Мы обнаружили, что Sfp1 частично колокализует с белками Sis1, Btn2 и Cur1. Sis1 – кошаперон Hsp40, взаимодействующий с шапероном Hsp70 Ssa1 и необходимый для поддержания большинства прионов, включая [*PSI*<sup>+</sup>]. Факторы сортировки Cur1 и Btn2 взаимодействуют с Sis1, влияя на его клеточную локализацию. Таким образом, наблюдаемая колокализация Sfp1 с Cur1 и Btn2 может объясняться взаимодействием агрегатов Sfp1 с Sis1.

Ранее было обнаружено, что Sfp1 частично колокализует с агрегатами [*PSI*<sup>+</sup>]. Мы также показали, что Sfp1 колокализует с белком Rnq1. Агрегаты Rnq1 отвечают за прионный статус [*PIN*<sup>+</sup>], причём, агрегаты Rnq1 тоже взаимодействуют с Sis1. Это говорит о том, что колокализация Sfp1 с шаперонами и факторами сортировки может также отражать не прямое взаимодействие Sfp1 с Sis1. Чтобы понять, включаются ли напрямую шапероны и ассоциированные факторы в агрегаты Sfp1, мы планируем дополнительно проанализировать состав агрегатов Sfp1 с помощью биохимических методов.

Таким образом, Sfp1 оказывается вовлечен в молекулярные механизмы образования и поддержания прионного статуса [*PSI*<sup>+</sup>], однако более ясное понимание роли данного белка может быть получено только в результате дальнейших исследований.

Работа поддержана грантом РФФИ 18-34-00536, а также ресурсным центром «РМиКТ» НП СПбГУ.



## НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА PRO-GLY-PRO И ЕГО АЦЕТИЛИРОВАННОЙ ФОРМЫ В УСЛОВИЯХ ГЛУТАМАТНОЙ ЭКСАЙТОТОКСИЧНОСТИ

**Згодова А.Е.<sup>1,2</sup>, Гончаров М.М.<sup>3</sup>, Лизунова Н.В.<sup>1,3</sup>, Фролов Д.А.<sup>4</sup>, Бакаева З.В.<sup>1,4</sup>,  
Пинелис В.Г.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАУ "НМИЦ здоровья детей" Минздрава России, Москва, Россия; <sup>2</sup>ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; <sup>4</sup>ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

*arinbox@list.ru*

Механическая травма мозга – это комплексный патологический процесс, приводящий к повреждению и гибели нейронов в результате развития глутаматной эксайтотоксичности. Pro-Gly-Pro (PGP) является продуктом гидролиза коллагена в организме, он также входит в состав некоторых эндогенных регуляторных пептидов, обладает противовоспалительным эффектом *in vitro* и *in vivo*. Ацетилирование PGP препятствует его гидролизу по N-концу.

Целью данной работы было исследовать влияние трипептидов PGP (10  $\mu$ M) и AcPGP (10  $\mu$ M) на выживаемость нейроглиальной кортикальной культуры в условиях глутаматной эксайтотоксичности.

Первичные нейроглиальные культуры получали из кортекса 1-дневных крысят породы Wistar. Клеточные культуры ( $2 \cdot 10^5$  клеток/лунка) выращивали в пластиковых 48-луночных плэйтах (Costar, США), предварительно покрытых полиэтиленгликолем, в стандартных условиях и использовали на 11-12 день. PGP и AcPGP в концентрации 10  $\mu$ M добавляли за 1 час до воздействия глутамата (Glu) 33  $\mu$ M. Количество живых и погибших от некроза клеток в лунках подсчитывали через 24 часа на микроскопе EVOS FL Auto, с помощью флуоресцентных зондов Syto-13 (0,5  $\mu$ M) и EthD-1 (2  $\mu$ M), соответственно. Выживаемость нейронов оценивали отношением живых к мёртвым.

PGP и AcPGP в концентрации 10  $\mu$ M не обладают нейротоксичностью. Выживаемость нейроглиальной кортикальной культуры в этих группах составила  $99 \pm 5,7\%$  и  $88 \pm 5,1\%$  соответственно. Отношение флуоресценции Syto-13/EthD-1 на фоне глутамата было равно  $55 \pm 2,6\%$ . Эффект эксайтотоксичности глутамата в концентрации 33  $\mu$ M составил  $45 \pm 2,6\%$ . При сочетанном действии Glu и PGP наблюдалось увеличение выживаемости клеток нейроглиальной культуры, нейропротекторный эффект пептида составил 27%. Ацетилирование пептида препятствовало проявлению изучаемого эффекта. Разница между группами Glu и Glu + AcPGP составила 6%.

Показано, что пептид PGP 10  $\mu$ M может ослаблять эксайтотоксическое действие Glu 33  $\mu$ M на культивируемые нейроны коры. Можно сделать вывод о нейротекторном эффекте пептида в данной концентрации. AcPGP не влияет на выживаемость нейронов. Можно предположить, что ацетилирование пептида по N-концу уменьшает лиганд-рецепторное взаимодействие и препятствует проявлению его нейропротекторного эффекта.

Работа поддержана грантами КОМФИ № 17-00-00106, РФФИ № 18-015-00450.



## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ ПОПУЛЯЦИИ НЕКОТОРЫХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СОРТОВ ХЛОПЧАТНИКА

**Имамходжаева А.С.<sup>1</sup>, Абдираимова Х.М.,<sup>1</sup> Маткаримов М.У.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Центр геномики и биоинформатики АН РУз, Ташкент, Узбекистан

*iazadaxan@gmail.com*

В процессе создания нового или улучшенного генотипа методами генной инженерии используют векторные конструкции, в которых включают селективные гены, позволяющие проводить первичный отбор трансформантов. Как правило, это гены устойчивости к антибиотикам (например, к канамицину - ген неомицинофосфотрансфераза II (*npt II*)) или гербициду и так далее. Однако после трансформации эти гены не обладают значимой функцией для самого регенерированного организма. Дальнейшее присутствие этих генов в растениях бесполезно. В связи с этим их стали называть «генетическим нефункциональным грузом» и даже «генетическим мусором». Получение биотехнологических растений, не имеющих селективных генов, является важной задачей для биотехнологов. В мировой науке появилась тенденция создания трансгенных растений без селективных маркерных генов и далее прогнозируется выход на рынок растений нового, marker-free (безмаркерного) поколения.

Одним из методов получения безмаркерных трансгенных растений является анализ синтеза целевых продуктов с помощью ПЦР при использовании специальных пар праймеров.

С помощью технологии РНК интерференции (PHYA1 RNAi) Узбекскими учеными Центра геномики и биоинформатики АН РУз получены линии и потом сорта хлопчатника *G. hirsutum* L.(серия сортов «Порлок»). Новые сорта обладают высокой урожайностью, интенсивным ростом, развитой корневой системой, более ранним, по сравнению с контрольными образцами, цветением и созреванием, и более качественным и удлиненным волокном. Нами поставлена задача: получить популяцию биотехнологических сортов хлопчатника серии Порлок, свободных от гена устойчивости к канамицину. Для этого был проведен скрининг сортов хлопчатника Порлок-1, Порлок-2, Порлок-3 и Порлок-4 на содержание селективного гена *npt II*, и подготовка их к последующему размножению генотипов. Для молекулярной верификации конструкции, вызывающей РНК интерференцию, в ПЦР использованы праймеры 35S F/35S R и kan F/kan R. Среди 100 образцов хлопчатника Порлок-1, скринированных с данной целью выявлено 4% генотипов, у которых не образовались продукты амплификации с праймером kan F/kan R, но которые дали положительный ответ ПЦР с праймером 35S F/35S R. Эти растения выращены в полевых условиях, и генотипы их семян будут повторно проанализированы с помощью ПЦР.



## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ CRISPR/CPF1 РНК-БЕЛКОВЫХ КОМПЛЕКСОВ ДЛЯ ИЗМЕНЕНИЯ ГЕНОМА ЭУКАРИОТ

**Казалов М.А.<sup>1</sup>, Мешалкина Д.А.<sup>2</sup>, Фёдорова Я.В.<sup>3</sup>, Северинов К.В.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>3</sup>Сколковский институт науки и технологий, Сколково, Россия

*maksim.kazalov@gmail.com*

Бактериальные CRISPR/Cas системы используются в биотехнологии как инструмент изменения последовательности геномной ДНК. В состав CRISPR систем входят Cas белки в комплексе с направляющими РНК. Cas-рибонуклеиновый комплекс может вносить двухцепочечный разрыв в ДНК-мишень, специфически узнавая её за счёт комплементарного спаривания направляющей крРНК.

Изменение генома эукариот требует доставки CRISPR/Cas систем внутрь клеток. Для этого используют два способа – доставку в виде плазмид или рибонуклеопротеиновых (РНП) комплексов. РНП-Cas комплексы быстро деградируют внутри клетки после внесения разрыва, что уменьшает вероятность внесения неспецифических разрывов в ДНК. Кроме того, доставка в виде РНП комплексов не требует кодон-оптимизации Cas генов, что позволяет использовать одну и ту же систему в совершенно разных организмах.

В данной работе мы решили оптимизировать использование Cpf1-РНП комплексов для изменения генома эукариот: клеток человека и рыб *Danio Rerio*.

Для изменения генома клеток человека Cpf1-РНП комплексы были собраны *in vitro* и трансфицированы в клетки HEK293 с помощью липофектамина. Эффективность изменения генома оценивали с помощью метода T7 эндонуклеазной реакции.

Успешное изменение ДНК в линии клеток человека воодушевило нас использовать Cpf1-РНП-комплексы для модификации ДНК в целых эукариотических организмах, рыбах *Danio Rerio*.

*Danio Rerio* обретают всё большую популярность как объект исследований в моделировании нейropsychических заболеваний. Было решено оптимизировать процедуру изменения генома *Danio Rerio* на примере нокаута фенотипически значимых генов, а также получить интересную для исследований в нейробиологии мутацию.

В качестве ДНК-мишени выбрали ген *slc45a2*, нокаут которого приводит к исчезновению окраски рыб. РНП-комплексы инжестировали в зиготу, затем из модифицированных эмбрионов выросли рыбы-альбиносы. Кроме того, нам удалось нокаутировать ген *slc6a4a*, кодирующий белок-транспортёр серотонина.

Таким образом, нам удалось изменить ДНК как клеточной линии эукариот, так и целого организма, используя Cpf1-РНП комплексы. Эффективность редактирования с помощью РНП комплексов сравнима с эффективностью, достигаемой при доставке Cas белков в виде генов. Была получена *albino*-мутация для *Danio Rerio*, а также новую, полезную для исследований в нейробиологии линию рыб.

Работа поддержана Министерством Образования РФ (соглашение №14.606.21.0006, уникальный идентификатор RFMEFI60617X0006), а также грантом РФФИ 18-315-00375.



## ИММУНОХИМИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ БИНАЗЫ И ЕЕ КОМПЛЕКСОВ

**Калашников В.А.<sup>1</sup>, Дудкина Е.В.<sup>1</sup>, Ульянова В.В.<sup>1</sup>, Вершинина В.И.<sup>1</sup>**

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

*icebuldogq@gmail.com*

Рибонуклеазы – гидролитические ферменты, участвующие в метаболизме РНК. Кроме основной функции они обладают противоопухолевыми и противовирусными свойствами, что позволяет рассматривать их как потенциальный терапевтический препарат. Рибонуклеаза *Vacillus pumilus* – биназа обладает селективной цитотоксичностью по отношению к опухолевым клеткам, экспрессирующим определенные онкогены, например, такие как *kit*, *ras*, AML-ETO, FLT3. Однако точный молекулярный механизм противоопухолевого действия биназы пока не установлен. Изучение молекулярных механизмов взаимодействия фермента с внутриклеточными компонентами представляет важный аспект исследования. В связи с этим необходимо разработать надежную систему тестирования биназы и ее внутриклеточных комплексов.

С этой целью нами была получена специфическая кроличья сыворотка к биназе. Курс иммунизации состоял из четырех подкожных инъекций смесью двукратно возрастающих концентраций белка (от 1 до 8 мг) и адъюванта Фрейндалс интервалом в десять дней и последующей ревакцинации через три недели с использованием 10 мг растворимого белка. Специфичность полученной сыворотки была подтверждена в реакции двумерной иммунодиффузии. Далее с помощью специфических антител исследовали возможность тестирования биназы в составе белковых комплексов. Внутриклеточный ингибитор рибонуклеазы барстар использовали в качестве модельного белка для формирования комплекса с биназой. Белки были взяты в эквимольном соотношении и проинкубированы при 37°C в течение 60 мин. В реакции преципитации была подтверждена способность специфических антител связывать биназу в комплексе с барстаром. Это дает возможность использовать полученные специфические антитела для выявления белков, потенциально способных связывать биназу внутри эукариотических клеток.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №17-00-00060 и гранта РФФИ №18-74-00108.

## ВЛИЯНИЕ МИЛДРОНАТА НА ПОВРЕЖДЕНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК ПРИ ИЗБЫТОЧНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗКАХ

**Калинина Ю. И.<sup>1</sup>, Садовникова И. С.<sup>1</sup>, Виткалова И. Ю.<sup>1</sup>, Гуреев А. П.<sup>1</sup>, Попов В. Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

*yulien@list.ru*

Под понятием кардиопротекции подразумеваются все возможные механизмы снижения степени повреждения миокарда или его полное предотвращение. Одним из наиболее часто встречаемых видов сердечных повреждений является ишемия, развивающаяся в результате нарушения снабжения миокарда кислородом. В качестве одного из этиологических факторов ишемии выступают интенсивные физические нагрузки, которые вызывают окислительный стресс (ОС). В результате недоокисленные полностью жирные кислоты (ЖК) мембран способствуют накоплению токсичного



ацилкарнитина. Все это приводит к накоплению активных форм кислорода и повреждению митохондриальной ДНК (мтДНК), которая особенно чувствительна к ОС ввиду отсутствия систем репарации, что делает ее удачным маркером генотоксичности. В нашем исследовании в качестве кардиопротектора был выбран препарат с торговым названием “Милдронат”. Механизм действия препарата заключается в регуляции энергетического метаболизма путем снижения уровня L-карнитина (предшественник ацилкарнитина) - основного переносчика ЖК. Ограничение доступности карнитина в цитозоле снижает скорость активации и транспорта длинноцепочечных ЖК до места их окисления в митохондриях. Другими словами, при ишемии милдронат замедляет скорость проникновения и накопления длинноцепочечных ЖК в митохондрии и снижает степень повреждения мтДНК.

В нашей работе было задействовано три группы мышей: контрольная и две опытные, которые подвергались изнурительным физическим нагрузкам. Одна из опытных групп принимала милдронат. Нами было произведено изучение количества повреждений мтДНК всех трех групп. Сравнение количества повреждений мтДНК проводилось на приборе Bio-Rad CFX96TM (Bio-Rad, USA). Результаты оценивали по разнице  $\Delta Cq$  между контрольной и опытной мтДНК для длинного фрагмента в сравнении с соответствующей  $\Delta Cq$  для короткого фрагмента.

В результате исследования было выявлено, что изнурительные физические нагрузки без присутствия кардиопротектора приводят к значительным повреждениям мтДНК в клетках сердца. В опытной группе, не принимающей милдронат, было  $4,2 \pm 0,09$  повреждений на 10 т.п.н., в то время как в присутствии кардиопротектора значение было значительно меньше –  $1,2 \pm 0,13$  повреждений на 10 т.п.н.

Исходя из полученных данных, был сделан вывод, что действие милдроната действительно снижает степень повреждения мтДНК сердца при изнурительных физических нагрузках до 70%. Это свидетельствует о том, что милдронат имеет кардиопротекторный эффект и может применяться при усиленных физических нагрузках.

Работа выполнена при поддержке «Skoltech Systems Biology Fellowship» (1-10-1202).

## СВЯЗЬ ПОЛИМОРФНОГО МАРКЕРА GLN399ARG ГЕНА XRCC1 С РИСКОМ РАЗВИТИЯ РАКА ЯИЧНИКА У ЖЕНЩИН МОСКОВСКОГО РЕГИОНА

**Капралова М.А.<sup>1</sup>, Бреннер П.К.<sup>1</sup>, Аткарская М.В.<sup>2</sup>, Тюляндина А.С.<sup>3</sup>, Стенина М.Б.<sup>3</sup>, Заварыкина Т.М.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА им. К.И. Скрябина, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия; <sup>3</sup>ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина" Минздрава России, Москва, Россия

*kapamariya97@mail.ru*

Рак яичника (РЯ) занимает 8-е место среди онкологических заболеваний у женщин, насчитывая, согласно базе данных GLOBOCAN, около 295000 новых случаев и более 184000 смертей в мире в 2018 г. (Bray F., 2018). Одним из актуальных направлений исследования патогенеза РЯ является выявление генов, предрасполагающих к развитию данного заболевания. Важная для системы поддержания стабильности генома группа генов относится к эксцизионной репарации оснований. Нарушения системы репарации часто являются начальным звеном в цепочке событий, приводящих к злокачественной трансформации клетки. Цель работы — изучить связь полиморфного маркера Gln399Arg



гена XRCC1, являющегося одним из генов эксцизионной репарации, с риском развития рака яичника у женщин московского региона.

Были изучены образцы венозной крови 68 здоровых женщин с медианой возраста (мин.-макс.) 43.5 (21-70) года и ткани 36 больных раком яичника с медианой возраста (мин.-макс.) 54 (41-72), у части из которых были взяты образцы крови (19 чел). В исследование были включены больные распространенным РЯ (II-IV стадии), у которых до начала химиотерапии, в момент первичной циторедуктивной операции, был произведен забор образцов опухолевой ткани. Из образцов была выделена ДНК (набор Diatom DNA Prep 200, Изоген, РФ) и проведена ПЦР участка гена XRCC1, содержащего полиморфный маркер Gln399Arg. Анализ полиморфного маркера проведен методом ПЦР-ПДРФ (полиморфизм длин рестрикционных фрагментов). Подбор праймеров проводили с помощью программы Lasergene. Для визуализации результатов анализа использовали гель-электрофорез, оцифровывали изображение при помощи системы «Gel Imager». Статистическая обработка результатов проводилась с помощью пакета прикладных программ «Statistica 6». Для оценки взаимосвязей между исследуемыми генотипами и риском заболевания использовали логистическую регрессию, определяя отношение шансов (ОШ) и 95% доверительный интервал (ДИ 95%) для значений  $p \leq 0.05$ .

В результате анализа полученных данных на исследованной выборке было выявлено статистически значимое повышение риска развития рака яичника (в 2 раза) у носителей аллеля Arg маркера Gln399Arg гена XRCC1 (ОШ=2,03 (ДИ 1.14 – 3.63),  $p=0.02$ ). Таким образом, дальнейшее изучение роли данного гена в патогенезе рака яичника на большей по размерам выборке является перспективным направлением исследований.

#### ВЛИЯНИЕ АМИНОКИСЛОТНЫХ ЗАМЕН НА АМИЛОИДООБРАЗОВАНИЕ КАРБОКСИАНГИДРАЗЫ

**Катина Н.С.<sup>1</sup>, Рябова Н.А.<sup>1</sup>, Ильина Н.Б.<sup>1</sup>, Кашпаров И.А.<sup>1</sup>, Марченков В.В.<sup>1</sup>,  
Балобанов В.А.<sup>1</sup>**

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

*nkatina@phys.protres.ru*

Большинство исследований амилоидобразования, описанных в литературе, выполнено на пептидах и небольших белках, при этом амилоидная агрегация крупных глобулярных белков остается практически неизученной. Наша работа посвящена амилоидообразованию карбоксиангидразы, которая представляет собой однодоменный глобулярный белок, включающий 260 аминокислотных остатков. В работе представлены результаты исследования влияния гидрофобности аминокислотных остатков и наличия дисульфидной связи на амилоидную агрегацию карбоксиангидразы. Ранее с использованием метода ограниченного протеолиза и масс-спектрометрии нами были определены амилоидогенные участки карбоксиангидразы. В данной работе получены две мутантные формы белка с заменами в амилоидогенном участке: M239A, уменьшающая гидрофобность аминокислотного остатка, и D188CK211C, содержащая дисульфидную связь.

Кинетика амилоидобразования карбоксиангидразы дикого типа и ее мутантных форм была исследована методом флуоресценции тиофлавина Т. Структурные характеристики агрегатов изучены методами электронной микроскопии и инфракрасной спектроскопии. Агрегационную способность белков оценивали с помощью центрифугирования и последующего измерения концентрации белка в супернатанте. Полученные результаты свидетельствуют о том, что замена M239A привела к замедлению





амилоидной агрегации карбоксиангидразы по сравнению с белком дикого типа. Введение замены D188CK211C вызвало снижение агрегационной способности карбоксиангидразы, и после окончания процесса агрегации большая часть белка присутствовала в мономерной форме. Таким образом, обе полученные замены привели к уменьшению амилоидогенности белка, однако влияние на процесс агрегации оказалось различным. Уменьшение гидрофобности остатка в амилоидогенном участке привело к замедлению агрегации, тогда как введение дисульфидной связи понизило агрегационную способность белка.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00935 и участия Объединенного Пуццинского центра Электронной микроскопии.*

## ПОЛУЧЕНИЕ ПРОТИВОГРИППОЗНЫХ ВАКЦИННЫХ ШТАММОВ ТИПА В МЕТОДОМ ОБРАТНОЙ ГЕНЕТИКИ

**Крутикова Е.В.<sup>1</sup>, Вон П.Ф.<sup>1</sup>, Исакова-Сивак И.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

*krutikova.iem@mail.ru*

**Введение.** Частое обновление состава противогриппозных вакцин заставляет в кратчайшие сроки подготавливать вакцинные штаммы. Существующие противогриппозные вакцины подразделяются на живые (ЖГВ) и инактивированные (ИГВ). ЖГВ на сегодняшний день подготавливаются методом классической реассортации современных эпидемических штаммов с донорами аттенуации. Наиболее оперативным и менее затратным способом подготовки штаммов ЖГВ является использование методов обратной генетики. Штаммы ЖГВ состоят из шести генов, кодирующих внутренние белки, от абсолютно безопасного для человека донора аттенуации и двух поверхностных генов от актуального эпидемического вируса. Для получения вакцинного штамма методами обратной генетики необходимо клонирование всех заданных генов в специальные векторы с двунаправленным считыванием. Для вирусов гриппа А существует достаточно большое количество работ, связанных с получением RG-конструкций и их исследований, чего нельзя сказать о RG-конструкциях вирусов гриппа В.

В этой связи целью нашей работы явилось получение обратно-генетической копии штамма донора аттенуации В/СССР/60/69 (В60) и кандидатов в вакцинные штаммы на его основе.

**Материалы и методы.** Вирусы В/Phuket/3073/13 линия Ямагата, В/Brisbane/60/08 линия Виктория были получены из Центра по контролю за заболеваемостью, Атланта, США; донор В60 был получен из музея отдела вирусологии ФГБНУ «ИЭМ». Выделение РНК осуществляли с помощью набора QIAamp Viral RNA Minikit (Qiagen). Подготовку кДНК проводили с помощью набора One Step RT-PCR (Invitrogen). Рестриктику проводили с помощью рестриктазы BsmBI. Для клонирования использовали RG вектор pPol12BV. Для мутагенеза использовали набор GeneArt Site-Directed Mutagenesis System (Invitrogen). Нуклеотидный анализ проводили с помощью секвенирования по методу Сэнгера при использовании автоматического капиллярного секвенатора 3130x Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

**Результаты.** PB2, PB1, PA, HA, NP, NA, M, NS гены донора аттенуации В60 были успешно сконструированы и встроены в плазмиды. Для PA и HA генов донора потребовался сайт направленный мутагенез для исправления появившихся кодирующих



мутаций в результате клонирования. Для эпидемических вирусов линии Виктория и Ямагата поверхностные гликопротеиды HA и NA также были встроены в плазмиды для дальнейшей трансфекции и сборки кандидатов в вакцинные штаммы. Для сборки жизнеспособных вирусов RG-B60 и вакцинных реассортантов в настоящее время проводится трансфекция чувствительных клеток (293T и Vero).

## ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *SEGВ* В ХОДЕ ИНФЕКЦИОННОГО ЦИКЛА БАКТЕРИОФАГА T4

**Кузницын Р.А.<sup>1</sup>, Макарова А.О.<sup>2</sup>, Григорьева Т.Ю.<sup>1</sup>, Холод Н.С.<sup>1</sup>, Шляпников М.Г.<sup>1</sup>, Грановский И. Э.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, ФГБУН Федеральный исследовательский центр "Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук", Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород, Россия

*rafailkuzn@gmail.com*

Хоминг-эндонуклеазы – класс сайт-специфических нуклеаз, функция которых заключается в инициации *хоминга* – процесса переноса последовательности собственного гена и его окружения в гомологичный локус ДНК, в котором данный ген отсутствует. Отличительной особенностью ферментов данного класса является их способность узнавать протяжённые вырожденные последовательности ДНК.

Хоминг-эндонуклеаза *SegB* бактериофага T4 предпочтительно узнает сайт, расположенный в гене тРНК<sup>Asn</sup> фага T2L. Тем не менее, в условиях *in vitro* *SegB* способна вносить множественные неспецифические разрывы в геном фага T4. Это обуславливает необходимость строгой регуляции экспрессии *segB* в ходе инфекционного цикла фага. Ген *segB* расположен в кластере генов тРНК. Ранее было показано, что синтез транскриптов, содержащих ОРС *segB*, может осуществляться с позднего P<sub>L2</sub> и среднего P<sub>M2</sub> промоторов (Broida, Abelson, 1985). Позднее в составе структуры «стебель-петля», расположенной непосредственно перед ОРС *segB*, был предсказан еще один поздний промотор, P<sub>LS</sub>, предположительно контролирующей экспрессию данного гена (Edgell *et al.*, 2010).

Данная работа посвящена выяснению роли вышеперечисленных промоторов в экспрессии гена *segB*. Для этого были получены фаги, содержащие мутацию в промоторе P<sub>L2</sub>, P<sub>M2</sub> или P<sub>LS</sub>. Также сконструирован фаг T4*ets4*, несущий делецию в гене эндонуклеазы *SegB* и предпочтительный сайт гидролиза данной эндонуклеазы (*ets4*) в *rIB*-локусе. При скрещивании T4*ets4* с фагом, экспрессирующим активную эндонуклеазу *SegB*, происходит внесение двунитевого разрыва в сайт *ets4* и его последующая репарация по интактному *rIB*-локусу. Этот процесс приводит к исключению маркера *ets4* в фаговом потомстве. При коинфекции T4*ets4* с мутантами по промоторам оценивали изменение содержания маркера *ets4* в ходе инфекции методом ПЦР «в реальном времени». Было установлено, что мутации в промоторах P<sub>L2</sub> и P<sub>M2</sub> не оказывают существенного влияния на экспрессию гена *segB*, тогда как мутация в промоторе P<sub>LS</sub> полностью её подавляет.

На основании полученных результатов предложена схема регуляции экспрессии гена *segB*, согласно которой трансляция транскриптов, синтезированных с промоторов P<sub>L2</sub> и P<sub>M2</sub> подавляется шпилькой, расположенной непосредственно перед ОРС *segB*. В случае транскриптов, синтезируемых с промотора P<sub>LS</sub>, последовательность, способная формировать шпильку, отсутствует, что обуславливает эффективную трансляцию *segB*.



## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕСТРИКТНОГО АНАЛИЗА В ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМПОНЕНТОВ CRISPR/CAS СИСТЕМЫ ДЛЯ МОДИФИКАЦИИ ГЕНА WAP МЫШИ.

**Кутьин И.В.<sup>1</sup>, Белова Н.В.<sup>1</sup>, Езерский В.А.<sup>1</sup>, Колоскова Е.М.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных», Боровск, Россия

*Kurookami@mail.ru*

При микроинъекции в зиготы эффективность внесения двухцепочечного разреза (ДЦР) гена-мишени компонентами системы CRISPR/Cas9 зависит от ряда параметров: нуклеотидной последовательности гРНК, формы доставки и концентраций компонентов, времени их жизни в клетке и т.д. Репарация ДЦР ДНК происходит по пути негомологичного соединения концов (NHEJ) с внесением в место разреза небольших инделей: результат - высокая вероятность сдвига рамки считывания с нокаутом гена. При ДЦР и его NHEJ-репарации могут разрушаться расположенные рядом сайты узнавания рестриктаз. При внесении донорной ДНК, имеющей плечи гомологии к гену-мишени, возможна репарация гомологичной рекомбинацией (HDR) с сайт-специфичной интеграцией трансгена. Для делеции крупного участка нужны два ДЦР. В результате по одному или обоим аллелям гена-мишени возможны разные модификации: мелкие и крупные индели по механизму NHEJ, HDR-интеграция трансгена.

Гены белков молока крупных домашних животных – отличный объект для модификации технологией CRISPR/Cas9 (усиление экспрессии, нокаут, замена геном фармакологически активного белка). Кислый сывороточный протеин (WAP) - основной белок сыворотки молока грызунов (около 15 г/л). Ген WAP – потенциальный кандидат для HDR-замещения в технологии CRISPR/Cas9 у кроликов, и как модельный объект – у мышей.

Была создана генетическая конструкция HDR-матрица для интеграции кДНК чЛФ в локус гена mWAP эмбриона мыши, содержащая 5'- и 3'- плечи гомологии. Была разработана стратегия оценки инделей в сайтах потенциальных ДЦР с использованием рестриктного анализа ПЦР-амплификатов участков, содержащих вносимые разрывы.

С использованием on-line ресурсов были подобраны сайт-специфичные последовательности для гРНК (по две на 5'- и 3'- области гена mWAP). ДЦР-1 (5'-область) выбрали в первом экзоне, перед ATG-триплетом которого находится сайт для рестриктазы KpnI: ДЦР-1 попадали на 4 и 15 п.н. выше KpnI. Кроме KpnI можно использовать реже применяемые рестриктазы FatI, HpyCH4I, NlaIII, сайты которых также доступны для делеций при ДЦР-1.

В 3-м интроне ДЦР-2 (3'-область) попадали на сайт рестрикции BglII и 6 п.н. выше.

Рестриктный анализ соответствующих ПЦР-амплификатов гена mWAP с KpnI и BglII может быть достаточно быстрым тестом эффективности работы компонентов CRISPR/Cas9 на выбранных таргетных последовательностях: при разрушении сайтов рестрикции амплификаты не режутся.



## N-КОНЦЕВЫЕ АЦЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ E.COLI: КЛОНИРОВАНИЕ, ОЧИСТКА И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

**Лаптева Ю.С.<sup>1</sup>, Соколов А.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт биологического приборостроения с опытным производством РАН, ФГБУН Федеральный исследовательский центр "Пушкинский научный центр биологических исследований РАН", Пушкино, Россия

*lapteva.julia@gmail.com*

N<sup>α</sup>-ацетилирование является одной из наиболее распространенных ко- и посттрансляционных модификаций белков. N-концевая ацетильная группа может влиять на структурные и функциональные свойства белка. Рекомбинантные белки эукариот, нарабатываемые в *E.coli*, часто не содержат данную модификацию. Учитывая важность данной модификации, актуальна разработка метода N<sup>α</sup>-ацетилирования рекомбинантных белков *in vitro*. N-концевое ацетилирование катализируют специфичные ферменты - N-концевые ацетилтрансферазы (АТ), различающиеся по субстратной специфичности, зависящей от N-концевой аминокислотной последовательности ацетилируемого белка. Бактериальные ферменты более удобны в работе, поскольку состоят из одной субъединицы, в то время как их эукариотические аналоги содержат несколько субъединиц.

Гены N-концевых ацетилтрансфераз *E.coli* RimI, RimL, RimJ клонированы нами в экспрессионные вектора pET-22 (для получения АТ с полигистидиновой меткой на C-конце белка) и pHUE (для получения АТ без дополнительных аминокислотных остатков). Вектор pHUE позволяет нарабатывать белки, слитые на N-конце с убиквитином, который затем можно отщепить при помощи специфической Usp-протеазы. Нами подобраны оптимальные условия экспрессии АТ в клетках *E.coli* штамма BL21(DE3) и проведена очистка АТ при помощи афинной хроматографии. Разработанная система экспрессии и очистки АТ позволяет достигать высоких выходов ферментов: 200 мг/л для RimL и 80мг/л для RimI. Экспрессия АТ RimJ в составе pET-22 не наблюдалась (вероятно, из-за токсичности избытка данного фермента для клетки). Однако нам удалось наработать и очистить АТ RimJ, слитую с убиквитином. Выход фермента составил 25мг/л. Убиквитин, по все видимости, стабилизирует фермент RimJ, поскольку его отщепление приводит к выпадению в осадок большей части фермента.

Очищенные ферменты использовали для ацетилирования рекомбинантных эукариотических белков *in vitro*. Показана селективность действия АТ RimI, RimL, RimJ *E.coli* по отношению к парвальбуминам, позволяющая получать в различной степени (от 0% до 100%) N<sup>α</sup>-ацетилированные белки.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00701.



## ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ РНК-ШАПЕРОНА PROQ ИЗ *ESCHERICHIA COLI* С HFQ-ЗАВИСИМОЙ МАЛОЙ РЕГУЛЯТОРНОЙ РНК DSR A

**Леконцева Н.В.<sup>1</sup>, Михайлина А.О.<sup>1</sup>, Коробейникова А.В.<sup>1</sup>, Фандо М.С.<sup>1</sup>,  
Никулин А.Д.<sup>1</sup>**

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

*natalja-lekontseva@rambler.ru*

Более двух десятилетий белок Hfq был единственным известным РНК-шапероном, способствующим взаимодействию малых регуляторных РНК (мРНК) с мРНК в бактериях. Однако некоторые мРНК не требуют присутствия Hfq для взаимодействия со своими мишенями, что указывает на возможность существования других бактериальных РНК-шаперонов. Недавние исследования показали, что белки, содержащие домен ProQ/FinO, можно выделить в отдельный класс белков РНК-шаперонов, которые могут играть ключевую роль в посттранскрипционной регуляции генов в бактериях. В ходе исследования, направленного на поиск мРНК, взаимодействующих с ProQ из *Salmonella enterica*, был обнаружен обширный класс малых регуляторных РНК, которые связываются только с ProQ. Также были обнаружены мРНК, способные взаимодействовать как с ProQ, так и с Hfq.

Мы решили проверить, взаимодействует ли ProQ из *Escherichia coli* с Hfq-зависимыми малыми регуляторными РНК. Целью данной работы стали структурно-функциональные исследования РНК-белковых взаимодействий белка ProQ с мРНК DsrA, для которой известно, что для поддержания стабильности и правильного функционирования ей необходим белок Hfq.

Сродство белка ProQ к исследуемой мРНК сначала определяли методом гель-шифта (EMSA). Результаты показали, что полноразмерный ProQ способен связывать DsrA. Определение кинетических констант взаимодействия методом поверхностного плазмонного резонанса позволило более точно измерить сродство белка к мРНК. В отличие от Hfq, сродство к DsrA которого находится в наномолярной области, ProQ связывает данную мРНК на порядок хуже.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-34-00073.*

## ПОВРЕЖДЕНИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК КАК МАРКЕР РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ РАКА ЛЕГКОГО

**Луценко Н.А.<sup>1</sup>, Виткалова И.Ю.<sup>1</sup>, Гуреев А.П.<sup>1</sup>, Попов В.Н.<sup>1,2</sup>, Михайлов А.А.<sup>1,3</sup>,  
Сержантова О.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия; <sup>3</sup>БУЗ ВО Воронежский областной клинический онкологический диспансер, Воронеж, Россия

*nata.lutsenko.1996@mail.ru*

Рак легкого является наиболее распространенным видом рака в мире, возглавляя пятерку «раков убийц». Митохондриальная дисфункция, развивающаяся при злокачественных процессах, приводит к избыточной генерации активных форм кислорода, вызывая окислительные повреждения митохондриальной ДНК (мтДНК), и геномную нестабильность. Эффективное лечение рака легкого и снижение смертности во многом



зависит от ранней диагностики данного заболевания с использованием маркеров, в качестве которого мы предлагаем повреждения мтДНК. В нашем исследовании определение числа повреждений мтДНК проводилось при помощи ПЦР анализа длинных фрагментов на приборе Bio-Rad CFX96TM (Bio-Rad, США) с использованием Taq – полимеразы. Сравнение количества повреждений оценивали по  $\Delta Cq$  между контрольной и опытной мтДНК для длинного фрагмента в сравнении с соответствующей  $\Delta Cq$  для короткого фрагмента.

В ходе работы было изучено соотношение количества повреждений мтДНК, выделенной из клеток буккального эпителия пациентов, страдающих раком легкого и количества повреждений мтДНК, полученной из буккального эпителия здоровых людей.

В исследовании было показано, что в клетках буккального эпителия пациентов, страдающих раком легкого  $4,99 \pm 0,09$  повреждений мтДНК на 10000 пар нуклеотидов. Количество повреждений мтДНК в клетках здоровых курящих людей составляет  $3,51 \pm 0,13$  на 10000 пар нуклеотидов, а в клетках здоровых некурящих людей  $3,55 \pm 0,29$  повреждений на 10000 пар нуклеотидов. Мы считаем, что повышение содержания повреждений вызвано увеличением продукции  $H_2O_2$ , которая продуцируется макрофагами или самой опухолью.

Анализируя полученные результаты можно сделать вывод о том, что количество повреждений мтДНК в клетках буккального эпителия людей, страдающих раком легкого выше в 1,43 раза, ( $p < 0,05$ ) чем в клетках здоровых людей при этом курение и отсутствие табакокурения не оказывают статически значимых изменений. Данные, полученные в ходе работы, показывают, что увеличение количества повреждений мтДНК при развитии злокачественного процесса может выступать в качестве маркерного показателя для ранней диагностики рака легкого. Предлагаемый нами метод является высокочувствительным, точным и имеет гораздо меньшую стоимость по сравнению с секвенированием нового поколения, которое большинство клиник используют для ранней диагностики рака легкого.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 17-29-06036 офи\_м.

## ПОЛУЧЕНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО ДОМЕНА БЕЛКА-ПРЕДШЕСТВЕННИКА В-АМИЛОИДА

**Любимова А.Н.<sup>1</sup>, Михайлина А.О.<sup>1</sup>, Костарева О.С.<sup>1</sup>**

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

*aleksa\_984@mail.ru*

Внутриклеточный домен трансмембранного белка предшественника  $\beta$ -амилоида (AICD APP) образуется наряду с  $\beta$ -амилоидом при расщеплении APP  $\beta$ -секретазой и  $\gamma$ -секретазой. Известно, что  $\beta$ -амилоид образует амилоидные бляшки в мозге при болезни Альцгеймера. AICD после отщепления гамма-секретазой от APP переносится в ядро клетки, где регулирует экспрессию множества генов, включая ген APP (Rotz *et al.*, 2004).

Показано, что при болезни Альцгеймера в нейронах мозга наряду с повышением концентрации кальция, снижается содержание мультифункционального кальций-связывающего белка NUCB1 (Pchitskaya *et al.*, 2018). Белок NUCB1 способен ингибировать агрегацию ряда амилоидных пептидов, ассоциированных с болезнями Альцгеймера, Паркинсона и диабетом 2 типа. NUCB1 стабилизирует интермедиаты токсичных протофибрилл, предотвращает их рост и увеличивает растворимость агрегатов. NUCB1 является партнером AICD APP, связываясь с ним в присутствии ионов  $Ca^{2+}$  (Lin *et al.*, 2007). Участок связывания AICD на белке NUCB1 неизвестен. Считается, что



блокирование AICD может являться хорошим терапевтическим подходом, как при лечении болезни Альцгеймера, так и при терапии, восстанавливающей развитие нервных клеток при синдроме Дауна (Guidi *et al.*, 2017).

Мы планируем исследовать сродство NUCB1 к AICD. Ранее в нашей лаборатории был получен очищенный препарат белка NUCB1. Для получения пептида AICD создан экспрессионный вектор, на основе вектора pET-32 X<sub>a</sub>/Lic, несущий ген AICD слитого с геном тиоредоксина. Перед геном тиоредоксина находится последовательность, кодирующая 6 гистидиновых остатков, за ним – последовательность нуклеотидов, кодирующая сайт, для отщепления протеазой фактор X<sub>a</sub>. Для получения штамма-суперпродуцента использовали систему Штудиера. Очистку слитого белка проводили с помощью металлохелатной аффинной хроматографии на смоле Ni-NTA Agarose. Далее слитый белок обрабатывали протеазой фактора X<sub>a</sub>. Вторая очистка на смоле Ni-NTA Agarose позволила получить чистый препарат пептида AICD.

## РОЛЬ ФАКТОРА CROL В РЕПРЕССИИ ГЕНОВ БЕЛКАМИ ГРУППЫ POLYCOMB У DROSOPHILA MELANOGASTER

**Михайлова А.В.<sup>1</sup>, Ломаев Д.В.<sup>1</sup>, Четверина Д.А.<sup>1</sup>, Ерохин М.М.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

*mihailova.ann@bk.ru*

Развитие многоклеточных организмов требует установления индивидуальных паттернов экспрессии генов в каждом типе клеток, что контролируется разными классами регуляторных ДНК-элементов. Один из ключевых классов – сайленсеры – контролируют неактивный статус генов. Сайленсеры функционируют за счет ассоциации с ДНК-последовательностями данных элементов белков группы Polycomb. В настоящий момент детальный механизм функционирования сайленсеров остается не изученным. Одной из основных нерешенных на сегодняшний день проблем является вопрос о специфичном рекрутировании PcG-комплексов на хроматин. Предполагается, что основную роль в этом процессе играют ДНК-связывающие факторы. На сегодня для генома дрозофилы известно несколько таких факторов, большинство из которых имеет в своем составе мотив «цинковые пальцы» C2H2-типа. Это белки GAF, Pho, Phol, Cg. Ранее методом иммунопреципитации с последующим масс-спектроскопическим анализом нами были установлены партнеры белка GAF. В настоящем исследовании мы проанализировали выделенный нами ранее комплекс белка GAF на предмет наличия белков с мотивом «цинковые пальцы» C2H2-типа. Одним из таких факторов оказался белок Crol. Мы получили поликлональные антитела к данному фактору и изучили его полногеномное распределение. Нами было обнаружено более 10000 сайтов посадки белка Crol, которые сильно пересекались с известными местами посадки репрессоров Polycomb. Методом CRISPR/Cas9 мы получили линию с делецией гена Crol. Иммунопреципитация хроматина показала падение связывания репрессоров Polycomb с ДНК в мутантах по Crol. Также методом иммунопреципитации с последующим масс-спектроскопическим анализом нами были выявлены партнеры фактора Crol, среди которых несколько представителей группы Polycomb. Таким образом, полученные данные позволяют предположить, что Crol является новым ДНК-связывающим транскрипционным фактором, необходимым для привлечения репрессоров Polycomb на хроматин. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-34-20046.



## ВЛИЯНИЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ НА ТРАНСПОРТ YB-1

**Мордовкина Д.А.<sup>1</sup>, Ким Е.Р.<sup>1,2</sup>, Сорокин А.В.<sup>1,2</sup>, Овчинников Л.П.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>THE UNIVERSITY OF TEXAS MD ANDERSON CANCER CENTER, HOUSTON, TX, USA

*darja-mordovkina@rambler.ru*

Белок YB-1 — ДНК- и РНК-связывающий белок со множеством функций, выполняемых им как в цитоплазме, так и в ядре клетки. Ядерная локализация YB-1 наблюдается на границе G1/S фаз клеточного цикла, а также при действии различных стрессов: УФ, ДНК-повреждающие агенты, заражение некоторыми вирусами. В последовательности YB-1 был обнаружен сигнал ядерной локализации (NLS), состоящий из N-концевого положительно-заряженного кластера, остатка R и C-концевого дипептида PY. Такие сигналы ядерной локализации узнаются транспортным фактором транспортином 1. Фосфорилирование является важной посттрансляционной модификацией, регулирующей транслокацию белков через ядерный поровый комплекс.

Мы решили проверить влияние некоторых сайтов фосфорилирования в белке YB-1 на переход в ядро и выяснить молекулярные механизмы, лежащие в основе этих эффектов.

Имитация фосфорилирования S102 приводит к стимуляции перехода белка YB-1 в ядро, в то время как имитация фосфорилирования S209 — к ингибированию перехода. Данный эффект нельзя объяснить изменением сродства к РНК, так как РНК-связывающая способность мутантных форм белка YB-1 по сравнению с белком дикого типа не изменилась. S209 расположен рядом с сигналом ядерной локализации YB-1 и фосфорилирование вблизи этой области (внесение отрицательного заряда) может модулировать взаимодействие с транспортином 1, препятствуя узнаванию NLS транспортным фактором, тем самым вызывая ингибирование перехода белка в ядро.

Работа поддержана грантом РФФИ #18-34-0035918

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СИСТЕМЫ CRE-LOXP ДЛЯ ИНДУКЦИИ МНОЖЕСТВЕННЫХ ХРОСОМНЫХ ПЕРЕСТРОЕК В ГЕНОМЕ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

**Мунгалов Р.В.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия; <sup>2</sup>ФГАОУ ВО Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

*mungalov.roman@yandex.ru*

Существует много разных вариантов генетических нарушений у живых организмов. Это в первую очередь мутации в самих генах, влияющие на структуру и функцию белка. Помимо этого, могут быть затронуты регуляторные элементы, что впоследствии может привести к изменениям в работе контролируемых ими генов — сайленсингу или оверэкспрессии, что изменит количество синтезируемого белка. Одним из наиболее интересных и неочевидных факторов изменения генной экспрессии является нарушение трёхмерной организации самого генома.

В этом проекте мы разрабатываем новый подход к изучению роли трёхмерной архитектуры генома в нарушениях паттерна генной экспрессии, вызванных хромосомными перестройками в геноме клеток человека, — создание и анализ большой





выборки хромосомных перестроек, индуцированных при помощи системы Cre/LoxP-рекомбинации. Важным преимуществом выбранной системы является то, что она позволит нам добиться по меньшей мере десятка перестроек на одну клетку, в отличие от уникальных событий на геном при использовании технологий геномного редактирования.

На данном этапе нами получены генетические векторы, несущие LoxP-сайт либо кодирующие белок Cre-рекомбиназу. На их основе были собраны псевдолентивирусные конструкции и отработана методика оценки количества провирусных интеграций на окологаплоидной линии клеток человека HAP-1 при помощи количественной ПЦР. Последние оценки показали, что мы можем добиваться по меньшей мере десятка интеграций провирусных частиц, несущих LoxP-сайт, в геном клеток. Учитывая окологаплоидный набор хромосом данной линии клеток, это составляет примерно одну встройку на две хромосомы. Таким образом, после экзогенной экспрессии Cre-рекомбиназы мы ожидаем более вероятного возникновения межхромосомных транслокаций, приводящих к крупным изменениям архитектуры хроматина. Мы также показали, что концентрирование лентивирусов путём их ультрацентрифугирования позволяет увеличить число провирусных интеграций как минимум на порядок.

Кроме этого, нами получены и проанализированы субклоны из клеток, в которые были интегрированы LoxP-сайты. Позже из субклонов, в которых будет достигнуто желаемое количество событий рекомбинации (порядка 3-10 перестроек в различных районах генома), будут получены *inverse-PCR* библиотеки и проведено их секвенирование для картирования перестроек. Наиболее интересные с точки зрения локализации перестроек субклоны будут в дальнейшем проанализированы методами Hi-C, RNA-Seq и ChiP-Seq.

## ПОИСК БЕЛКОВЫХ ПАТТЕРНОВ ПАТОГЕННОСТИ *ESCHERICHIA COLI*.

**Мусарова В.А.<sup>1</sup>, Матюшкина Д.С.<sup>1</sup>, Бутенко И.О.<sup>1</sup>, Говорун В.М.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины  
Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

*varvaramys@rcpcm.org*

Жизнедеятельность большинства макроорганизмов, в особенности человека, сильно зависит от состава и функциональной активности их микробиоты. Она способна влиять на различные процессы гомеостаза организма, а также дисбаланс в нормальной микрофлоре может привести к развитию заболеваний различной степени тяжести. Одним из представителей микробиоты эукариот является условно-патогенная бактерия *Escherichia coli*, встречающаяся в относительно небольших количествах, по сравнению с другими симбиотическими бактериями. Однако именно штаммы *E. coli* могут стать причиной воспалительных заболеваний кишечника. В связи с этим поиск белковых маркеров «перерождения» условно-патогенных бактерий в патогенные является очень важной и актуальной задачей.

Для поиска патогенных белковых паттернов *E. coli* нами была подобрана панель стрессовых воздействий, которые симулировали *in vivo* условия. В качестве таких факторов воздействия были выбраны компоненты иммунной системы (антитела IgA), перекись водорода, ионы металлов, а также эукариотические клетки линии CaCo-2.

Изменения, которые претерпевает *E. coli* при воздействии стрессовых факторов были проанализированы на протеомном уровне с помощью ВЭЖХ-МС. Был определён пул белковых паттернов, охарактеризовывающий патогенность кишечной палочки.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-00-00293.



## СОЗДАНИЕ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОНСТРУКЦИЙ ДЛЯ ЭКСПРЕССИИ РИБОНУКЛЕАЗЫ *BACILLUS LICHENIFORMIS* В КЛЕТКАХ *ESCHERICHIA COLI*

**Надырова А.И.<sup>1</sup>, Сурченко Ю.В.<sup>1</sup>, Ульянова В.В.<sup>1</sup>, Ильинская О.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Казань, Россия

*alsu.nadyrova@yandex.ru*

Микробные ферменты рибонуклеазы (РНказы) являются одними из перспективных объектов, обладающих свойствами потенциального противоопухолевого терапевтического средства. Внеклеточные низкомолекулярные гуанилпредпочитающие РНказы, секретируемые бактериями рода *Bacillus*, составляют обширную группу гидролитических ферментов со сходными структурными и каталитическими свойствами. Ранее с помощью методов ионообменной хроматографии нами из нативного штамма-продуцента был получен препарат РНказы *B. licheniformis* ATCC14580 с удельной ферментативной активностью  $1.5 \times 10^6$  опт.ед/мг.

Целью данной работы явилось создание двух типов генетических конструкций, содержащих ген РНказы *B. licheniformis* с полигистидиновыми метками на N- и C-концах, для последующей экспрессии белка в рекомбинантном штамме-продуценте *Escherichia coli*. Для этого нами были использованы плазмидные векторы pET2615 и pET26b, содержащие ИПТГ-индуцируемый промотор фага T7 и гены устойчивости к ампициллину и канамицину, соответственно. Сигнальная последовательность *pelB* в составе данных векторов обуславливает секрецию рекомбинантных белков в периплазматическое пространство. В ходе ПЦР-амплификации с геномной ДНК *B. licheniformis* ATCC 14580 было получено два целевых фрагмента длиной 332 и 611 п.н. Далее вектор pET2615 и соответствующую ему ДНК-вставку рестрицировали по сайтам рестрикции *BspI* и *XhoI*, а вектор pET26b и соответствующую вставку - по сайтам *XhoI* и *NcoI*, полученные фрагменты лигировали. Полученной лигазной смесью трансформировали химически компетентные клетки *E. coli* JM109. Наличие генетических конструкций в составе клонов подтверждали с помощью рестрикционного анализа и ПЦР. Затем полученными плазмидами трансформировали химически компетентные клетки *E. coli* Lemo 21(DE3), предоставляющие возможность контролируемой экспрессии токсичных белков. Электрофоретический анализ периплазматической фракции подтвердил индукцию синтеза целевых белков в полученных рекомбинантных штаммах при добавлении ИПТГ.

Таким образом, были созданы экспрессионные конструкции, позволяющие получить исследуемый белок в большом количестве за короткий промежуток времени. Кроме того, наличие аффинной метки облегчит дальнейшую очистку рекомбинантных белков и их детектирование.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №17-00-00060 и гранта РНФ №18-74-00108.



## ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БОЛЕЗНЕЙ ЛЬНА (*LINUM USITATISSIMUM* L.)

**Новаковский Р.О.<sup>1</sup>, Рожмина Т.А.<sup>1,2</sup>, Кудрявцева Л.П.<sup>2</sup>, Мельникова Н.В.<sup>1</sup>,  
Дмитриев А.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБНУ Федеральный научный центр лубяных культур, Торжок, Россия

*Alex\_245@mail.ru*

Лен обыкновенный (*Linum usitatissimum* L.) – ценная сельскохозяйственная культура, которая используется для получения волокна и масла. Болезни льна приводят к значительным потерям урожая и снижению качества продукции. Целью нашей работы было изучение генетического разнообразия возбудителей грибных болезней льна с использованием глубокого секвенирования. Из коллекции Института льна (г. Торжок) отобраны 100 штаммов основных возбудителей болезней льна, включая *Fusarium oxysporum* – 24 образца, *Fusarium avenaceum* – 3 образца, *Fusarium culmorum* – 5 образцов, *Fusarium moniliforme* – 8 образцов, *Fusarium gibbosum* – 4 образца, *Fusarium semitectum* – 2 образца, *Fusarium sporotrichiella* – 3 образца, *Fusarium solani* – 5 образцов, *Melampsora lini* – 9 образцов, *Colletotrichum lini* – 20 образцов, *Septoria linicola* – 8 образцов, *Aureobasidium pullulans* – 9 образцов. Из всех образцов выделена ДНК, качество которой оценили методом электрофореза в агарозном геле, а концентрацию – на флуориметре Qubit 2.0 (Life Technologies, США). Выполнен анализ литературных данных, и определены последовательности, активно используемые для филогенетических исследований возбудителей грибных болезней растений: ITS (internal transcribed spacer) и гены, кодирующие бета-тубулин (*tub2*), фактор элонгации трансляции EF1 (*tef1*), субъединицы РНК-полимеразы II (*RPB1* и *RPB2*). Для подготовки ДНК-библиотек для глубокого секвенирования к стандартным последовательностям праймеров, специфичным к ITS и выбранным генам, были добавлены последовательности, необходимые для секвенирования. За основу взят протокол создания ДНК-библиотек для секвенирования ампликонов генов 16S рРНК компании Illumina ([support.illumina.com/downloads/16s\\_metagenomic\\_sequencing\\_library\\_preparation.html](http://support.illumina.com/downloads/16s_metagenomic_sequencing_library_preparation.html)). Проведена оптимизация условий ПЦР, выполнена амплификация последовательностей ITS и генов *tub2*, *tef1*, *RPB1* и *RPB2* для 100 образцов возбудителей грибных болезней льна, и получены ДНК-библиотеки для глубокого секвенирования. На приборе MiSeq (Illumina, США) выполнено секвенирование с длиной прочтения 300 + 300 нуклеотидов. Для каждого образца в среднем сгенерировано около 4000 прочтений. Полученные результаты позволят оценить генетическое разнообразие возбудителей грибных болезней льна и определить ДНК-последовательности, наиболее перспективные для использования в качестве генетических маркеров для идентификации патогенов *L. usitatissimum*. Работа поддержана грантом Президента Российской Федерации МК-5828.2018.4.



## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ПШЕНИЦЫ К РЖАВЧИНЕ

**Норбеков Ж.К.<sup>1</sup>, Тураев О.С.<sup>1</sup>, Хусенов Н.Н.<sup>1</sup>, Вохидов С.Т.<sup>1</sup>, Кушанов Ф.Н.<sup>1</sup>,  
Имаходжаева А.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Центр геномики и биоинформатики АН РУз, Ташкент, Узбекистан

*jurabek42@mail.ru*

Примером применения современных методов молекулярной генетики растений в изучении исходного материала является использование технологии молекулярных (ДНК) маркеров для сельскохозяйственных культур. Селекция с помощью маркеров (MAS - Marker Assisted Selection) - это метод, где селекционный процесс расширяется за счет использования ДНК-маркеров, сцепленных с важнейшими селекционно-ценными генами, на этапе подбора родительского материала для скрещиваний и последующих этапах отбора. Благодаря этой технологии в ряде стран проводятся исследования и поиск источников устойчивости пшеницы к заболеваниям, и в частности, к поражению желтой ржавчиной. И на сегодня уже идентифицировано много ДНК маркеров и локусов количественных признаков (Quantitative Trait Loci — QTLs).

Ученые Центра геномики и биоинформатики АН РУз проводят фундаментальные исследования по созданию популяций ГАК (гнездовое ассоциативное картирование) пшеницы, генетическому изучению с использованием молекулярных маркеров, и накоплению данных о фенотипических проявлениях при искусственном заражении спорами желтой.

В целях выявления и картирования QTL устойчивости пшеницы к поражению желтой ржавчиной были использованы неустойчивый сорт Морокко и побрано 17 изогенных линий, у которых фенотипически проявилась и генотипированием определена устойчивость. Исходные родительские образцы и их гибриды F<sub>2</sub> были посеяны на специально искусственно зараженном фоне, а также были заражены уридиноспорами желтой ржавчины, полученными из коллекции фитопатогенных микроорганизмов Института Генетики и Экспериментальной Биологии Растений АН РУз.

В молекулярно-генетических исследованиях родительских образцов использованы наборы микросателлит/SSR (Simple Sequence Repeat). Для выявления генетического полиморфизма между исходными, родительскими образцами, неустойчивый сорт Морокко и отобранные в качестве доноров 17 изогенных линий были скринированы методом ПЦР с 75 праймерами из набора SSR маркеров. Установлено, что исходный материал в 64 случаях полиморфен, а в 11 - случаях мономорфен. Наибольший полиморфизм выявлен при использовании маркера WMC149 (мол. масса 155-245), а мономорфизм - маркером WMC104 (мол. масса 149). Эти же маркеры будут использованы в анализе гибридов F<sub>2</sub>.



## ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ МУТАНТНЫХ ФОРМ ЛЁД-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА (IBP)

**Окулова Ю. Д.<sup>1</sup>, Мельник Б. С.<sup>1</sup>**

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

*okulova.u-u@yandex.ru*

Объектом нашего исследования является лёд-связывающий белок IBP, который был обнаружен в организме гусеницы *Choristoneura fumiferana*. Целью нашей работы было введение модификаций в лёд-связывающий белок дикого типа (IBP) таким образом, чтобы в результате получить стабильную мутантную форму, которая сохранила свою исходную функцию связывания со льдом (1). Предполагается, что модифицированный белок, по сравнению с немодифицированным, будет лучше экспрессироваться в бактериальной культуре *E. coli* и легко из нее выделяться, сохраняя при этом свои лёд-связывающие свойства.

Проанализировав пространственную структуру белка IBP (2), мы предположили, что в полипептидной цепи можно заменить несколько цистеинов, которые образуют дисульфидные мостики. Эти аминокислотные остатки осложняют выделение и очистку лёд-связывающего белка. Кроме того, шесть аминокислот на N-конце белка могут быть неструктурированными при дестабилизации белка. Поэтому мы предположили, что, сократив белок с N-конца на шесть аминокислот и заменив большинство цистеинов на валины (связь C25-C37 оставлена) структура и свойства лёд-связывающего белка не сильно нарушится.

Спроектированный мутантный белок выделен, очищен и охарактеризован. Показано, что введённые мутации упростили процесс выделения этого белка, но не повлияли на способность белка связываться со льдом.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-04-00420.

1. Anchored clathrate waters bind antifreeze proteins to ice / Christopher P. Garnham, Robert L. Campbell, and Peter L. Davies // PNAS. Biophysics and Computational Biology // –2011 г. – Т.108, № 18. – С. 7363 – 7367.
2. Crystal Structure of  $\beta$ -Helical Antifreeze Protein Points to a General Ice Binding Model / Eeva K.Leinala, Peter L. Davies, Zongchao Jia // Structure. Cell Press // – 2002 г. – Т.10, № 5. – С. 619 – 627.

## МНОЖЕСТВЕННОСТЬ ПРОДУКТОВ ГЕНА *Dm Nxf1* КАК ОСНОВА ПЛЕЙОТРОПИИ ГЕНА

**Пасынков А.И.<sup>1</sup>, Мамон Л.А.<sup>1</sup>, Голубкова Е.В.<sup>1</sup>, Гинанова В.Р.<sup>1</sup>, Кливер С.Ф.<sup>1</sup>**

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

*alloc42@gmail.com*

Эволюционно консервативный ген *sbr (Dm Nxf1)*, относящийся к семейству генов *Nxf* (Nuclear eXport Factor), присутствует у большинства эукариот. Основным продуктом гена *sbr* – белок NXF1 обеспечивает ядерно-цитоплазматический транспорт мРНК и локализуется в нуклеоплазме. Мутации в гене *Nxf1* у *Drosophila* характеризуются плеiotропным эффектом. Известны мутации, приводящие к нарушениям в развитии



нервной и мышечной тканей, памяти, формирования щетинок, а также к мужской и женской стерильности и повышению частоты нерасхождения хромосом. Кроме того, у *Drosophila*, несущих мутации в гене *sbr*, часто имеются нарушения в морфологии таких органов как мальпигиевы сосуды, мозг, глаза, органы дыхания взрослого насекомого. Некоторые из перечисленных аномалий являются аллель-специфичными. Наличие таких аллель-специфичных фенотипов у мутантов по гену *sbr* позволяет предположить, что его роль в клетке не ограничивается ядерным экспортом РНК. Сопряженность процессов, нарушения в которых характерны для мутантов по *Nxf1*, с цитоскелетными перестройками указывает на возможную связь цитоплазматической активности белка NXF1 с организацией цитоскелета. В пользу этого предположения также свидетельствуют данные о локализации белка NXF1: в некоторых случаях была показана колокализация NXF1 с актином в областях активных цитоскелетных перестроек, в том числе в отростках нервных клеток. На возможность наличия у *Nxf1* дополнительных функций могут указывать и другие его свойства — его сверхэкспрессия повышает адгезивные свойства клеток, а для мыши показана возможность белка NXF1 связываться с фактором MAP1B (microtubule-associated protein 1B), который играет роль в динамических изменениях цитоскелета в период роста аксонов у млекопитающих. Полифункциональность *Nxf1* может быть связана с наличием нескольких продуктов — для данного гена показано существование более 10 различных транскриптов, многие из которых органоспецифичны, однако функция этих продуктов остается неизвестной.

## ПРЕОДОЛЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК К АПОПТОЗУ С ПОМОЩЬЮ СЕЛЕКТИВНЫХ АНТАГОНИСТОВ MCL-1

**Первушин Н.В.<sup>1</sup>, Сеничкин В.В.<sup>1</sup>, Стрелецкая А.Ю.<sup>1</sup>, Животовский Б.Д.<sup>1,2</sup>,  
Копейна Г.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Факультет фундаментальной медицины, ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; <sup>2</sup>Институт медицины окружающей среды, Каролинский институт, Стокгольм, Швеция

*rhododendron.nick@mail.ru*

По данным ВОЗ, онкологические заболевания занимают второе место среди основных причин смертности в мире. В процессе онкогенеза клетки способны приобретать устойчивость к различным типам программируемой клеточной гибели (ПКГ), включая апоптоз, который имеет большое значение в противоопухолевой защите организма. Важными регуляторами апоптоза являются члены семейства Bcl-2, представленного как проапоптотическими, так и антиапоптотическими белками. Одним из механизмов устойчивости опухолевых клеток к апоптозу является повышенная экспрессия антиапоптотических белков данного семейства, в частности, Mcl-1, а перспективным способом преодоления устойчивости предложено использование ВНЗ-миметиков – соединений, нейтрализующих действие антиапоптотических Bcl-2-белков.

Нами изучено действие высокоселективных антагонистов белка Mcl-1 - A1210477 и S63845, как в качестве индивидуальных агентов, так и в комбинации с химиотерапевтическим препаратом цисплатином. Исследования проводили на клеточных линиях аденокарциномы шейки матки HeLa и аденокарциномы яичника Caov-4. Для оценки клеточной гибели были использованы методы Вестерн-блот анализа и проточной цитофлуориметрии. Было показано, что A1210477 и S63845 проявляют однонаправленный эффект, усиливая цисплатин-индуцируемую гибель клеток обеих линий. В то же время, по сравнению с A1210477, соединение S63845 более эффективно



стимулировало апоптоз как в качестве индивидуального агента, так и в комбинации с цисплатином. С помощью генетического нокдауна Mcl-1 методом РНК-интерференции было показано, что A1210477 и S63845 проявляют проапоптотические свойства за счет селективного действия на Mcl-1, но не на другие белки семейства Bcl-2. При этом эффективность индукции апоптоза с помощью миРНК к Mcl-1 была сопоставима с действием S63845, чего не наблюдалось в случае A1210477. Аналогичные эффекты наблюдались при сочетании ингибирования Mcl-1 и цисплатина: комбинация S63845 или миРНК к Mcl-1 с цисплатином эффективнее индуцировала апоптоз, чем комбинация A1210477 и цисплатина. Было показано, что S63845 действует эффективнее за счет более полного разрушения комплексов Mcl-1 с проапоптотическим белком Bax.

Таким образом, наиболее перспективным для дальнейшего изучения является соединение S63845, которое эффективно запускает апоптоз в опухолевых клетках как самостоятельный агент, так и в сочетании с цисплатином за счет практически полной нейтрализации Mcl-1 в клетке.

Работа была поддержана грантом РФФИ №19-015-00332.

## СВЕРХЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ: SOD1, SOD2, CAT В КЛЕТКАХ НЕК293Т

**Пначина Е. М.<sup>1</sup>, Фефилова Е. А.<sup>1</sup>, Юдин А. Л.<sup>1</sup>, Велегжанинов И. О.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Детский технопарк «Кванториум», Сыктывкар, Россия; <sup>2</sup>Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

*lisa.fox10-11@yandex.ru*

С 80-х годов 20-го столетия учёные предпринимают попытки генетического управления стрессоустойчивостью (Velegzhaninov et al., 2018). Одним из подходов к управлению свойствами живой клетки, в том числе стрессоустойчивостью, является сверхэкспрессия генов. До появления технологии CRISPRa (Chavez et al., 2015) возможности сверхэкспрессии генов были весьма ограничены. Одновременная сверхэкспрессия сразу нескольких генов была чрезвычайно сложна, в то время как большинство внутриклеточных механизмов осуществляется продуктами нескольких генов в тесной функциональной взаимозависимости. В качестве цели нашего исследования мы выбрали ранее не осуществлявшуюся одновременную сверхэкспрессию генов антиоксидантной защиты: SOD1, SOD2, CAT. Эти гены участвуют в детоксикации и оттоке свободных радикалов и ксенобиотиков: белки SOD1 и SOD2 перерабатывают супероксид аниона в пероксид водорода, который каталаза перерабатывает в воду. Мы предполагаем, что, одновременно сверхэкспрессируя их сможем добиться более значительного увеличения устойчивости клеток человека НЕК293Т к ионизирующему излучению и/или окислительному стрессу, чем это удавалось исследователям ранее. На данном этапе работы достигнут промежуточный результат. Выполнены рестрикция и очистка линиаризованной плазмиды «gRNA Cloning Vector Bbs I ver. 2», а затем клонирование олигонуклеотидов, кодирующих гидовые РНК, к промоторам генов SOD1, SOD2, CAT в вектор «gRNA Cloning Vector Bbs I ver. 2». Полученные клоны верифицированы с помощью ПЦР и размножены в *E. coli*. Таким образом выполнены наиболее технически сложные этапы исследования. В настоящий момент мы осуществляем попытки достигнуть сверхэкспрессии генов SOD1, SOD2, CAT в клетках НЕК293Т и оценить изменения радиостойчивости. В стендовом докладе будут представлены промежуточные результаты работы.



1. Velegzhaninov, I. O.; Ievlev, V. A.; Pylina, Y. I.; Shadrin, D. M.; Vakhrusheva, O. M. Programming of Cell Resistance to Genotoxic and Oxidative Stress. *Biomedicines* 2018, 6, doi:10.3390/biomedicines6010005.

2. Chavez, A.; Scheiman, J.; Vora, S.; Pruitt, B.W.; Tuttle, M.; Iyer, E.P.R.; Lin, S.; Kiani, S.; Guzman, C.D.; Wiegand, D.J.; et al. Highly efficient Cas9-mediated transcriptional programming. *Nat. Methods* 2015, 12, 326–328.

## НОВЫЕ БЕЛКИ-ПАРТНЕРЫ РНК-КВАДРУПЛЕКСОВ

**Поляков Д.Н.<sup>1</sup>, Овчинников Л.П.<sup>1</sup>, Кулаковский И.В.<sup>2</sup>, Елисеева И.А.<sup>1</sup>**

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

*dmitry-polyakov@rambler.ru*

G-квадруплексы - четырехцепочечные структуры в нуклеиновых кислотах, состоящие из находящихся в стекинге гуаниновых квартетов. Изучено формирование квадруплексов в ДНК и их роль в регуляции транскрипции. Значительно меньше известно про квадруплексы в РНК, однако показан факт их формирования и предположено участие в регуляции трансляции, процессинга, клеточной локализации и деградации РНК.

Предполагается, что квадруплексы выполняют свои функции в комплексе с белками-партнерами. До недавнего времени было известно лишь около 100 мРНК, достоверно содержащих квадруплекс, и около 15 взаимодействующих с ними белков-партнеров. Разработанный недавно метод секвенирования G-квадруплексов в РНК (*RNA G-quadruplex sequencing, rG4-seq*) позволил обнаружить более 4000 стабильных квадруплексов. Это позволило изучать их роль в трансляции и искать специфично взаимодействующие с ними белки. В частности, в литературе имеется большое количество данных о расположении сайтов связывания РНК-связывающих белков в РНК. Так, консорциум ENCODE предоставил в открытый доступ полнотранскриптомную информацию о РНК-сайтах связывания более сотни белков, идентифицированных методом eCLIP (*enhanced crosslinking and immunoprecipitation*).

Мы использовали данные rG4-seq, и данные eCLIP для биоинформатического поиска белков, специфично взаимодействующих с квадруплексами. Для 15 из 120 протестированных белков нам удалось установить статистически значимое перекрытие сайтов связывания с квадруплексами. С учетом наиболее сильных сайтов связывания, мы выбрали четыре белка, предположительно специфично узнающих квадруплексы: DDX6, GRSF1, GTF2F1 и UPF1. Для них мы определили константы связывания с РНК-олигонуклеотидами, содержащими квадруплекс, и влияние связывания белка на структуру квадруплекса.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 18-34-00843).





## РАСПРЕДЕЛЕНИЕ AG(I) В КЛЕТКАХ С НОКАУТОМ ГЕНОВ, ОТВЕТСТВЕННЫХ ЗА ТРАНСПОРТ CU(I)

**Рапопорт П.Е.<sup>1</sup>, Орлов Ю.А.<sup>2</sup>, Ильичева Е.Ю.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия

*apollorapier@gmail.com*

У млекопитающих медь (Cu) выполняет две эссенциальные функции: является ко-фактором ряда ферментов, участвующих в фундаментальных метаболических процессах, и участвует в сигналинге. Внутриклеточные маршруты меди к купроэнзимам в целом изучены. Пути Cu к Cu-зависимым участникам сигналинга остаются неизвестными. Главным импортером Cu является трансмембранный белок CTR1, связывающий Cu(I) во внеклеточном пространстве, переносящий её через купрофильную пору в цитоплазму, где она связывается Cu(I)-шаперонами и доставляется к местам формирования купроэнзимов. Другим импортером Cu в обоих состояниях окисления, Cu(I)/Cu(II), является DMT1, транспортер двухвалентных ионов металлов. Внутриклеточные маршруты Cu, поступающей через DMT1, не известны. Мы предположили, что Cu, участвующая в сигналинге, возможно, импортируется DMT1. Для проверки предположения, с помощью технологии CRISP/Cas9 были получены клоны клеток линии H1299 с нокаутом генов CTR1 (CTR1 KO), DMT1 (DMT1 KO) и с двойным нокаутом (ДКО). Эффективность нокаута была подтверждена методами количественной ОТ-ПЦР и иммуноблотинга. В клонах CTR1 KO активность гена DMT1 увеличивалась больше, чем в 1,5 раза, но в клонах DMT1 KO увеличения экспрессии гена не наблюдали. Это, по-видимому, связано со способностью DMT1 компенсировать дефицит CTR1; CTR1 не компенсирует дефицит DMT1. В субклеточных фракциях, полученных сочетанием методов дифференциального и изоплотностного центрифугирования (ядра, митохондрии, аппарат Гольджи и цитозоль), методом ААС была измерена удельная концентрация Cu. Во всех клонах, по сравнению с родительскими клетками, концентрация меди снижалась в цитозоле, аппарате Гольджи и во фракции, седиментирующей в низкоскоростном поле. Изменение концентрации меди в митохондриях было незначительным. Для слежения перемещения Cu(I) в этих клонах использовали ионы Ag(I), которые являются изоэлектронными двойниками Cu(I) и, поэтому связываются Cu-транспортными белками. Клоны с нокаутом CTR1 и DMT1 были устойчивее к токсическому действию Ag(I), что свидетельствует об участии обоих транспортеров в импорте Ag(I)/Cu(I). В клонах CTR1 KO накопление Ag в субклеточных фракциях, по сравнению с DMT1 KO клонами, была ниже в 2 – 3 раза ниже. В работе обсуждаются особенности внутриклеточного распределения Cu и Ag в зависимости от природы импортера.

Работа поддержана грантами РФФИ 18-015-00481 и 18-515-7811.



## ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ ТРАНСКРИПТОМНОГО ПРОФИЛЯ ПРИ FUS-ОПОСРЕДОВАННОЙ ПРОТЕИНОПАТИИ

**Резвых А.П.<sup>1,2</sup>, Устюгов А.А.<sup>3</sup>, Морозов А.В.<sup>1</sup>, Мазин П.В.<sup>4</sup>, Мальцев А.В.<sup>3</sup>,  
Чичева М.М.<sup>3</sup>, Вихарева Е.А.<sup>3</sup>, Евгеньев М.Б.<sup>1</sup>, Фуников С.Ю.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГАОУ ВО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия; <sup>3</sup>ФГБУН Институт физиологически активных веществ РАН, Черноголовка, Россия; <sup>4</sup>ФГБУН Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН, Москва, Россия

*aprezvykh@yandex.ru*

Боковой амиотрофический склероз (БАС) - тяжелое неизлечимое нейродегенеративное заболевание, основным патологическим признаком которого является прогрессирующая гибель двигательных нейронов, приводящая к развитию паралича скелетных мышц, и, в дальнейшем, к смерти пациента. Наибольшее количество клинических случаев (90%) приходится на спорадические формы БАС, этиология которых до конца неизвестна. Наследственные формы составляют 10% клинических случаев и связаны с мутациями генов и нарушением функций соответствующих белков. В последнее время при изучении патогенеза БАС наибольшее внимание уделяется РНК-связывающим белкам *FUS* и *TDP43*, следствием мутации которых становятся нарушения их функции и образование нерастворимых внутриклеточных белковых агрегатов. При этом остается неясно, что является первопричиной развития БАС - нарушение РНК-связывающей функции белков или развивающаяся протеинопатия. В данном исследовании мы провели сравнительный анализ профиля экспрессии генов в динамике развития FUS-опосредованной протеинопатии на трансгенной линии мышей  $\Delta FUS(1-359)$ , воспроизводящей основные клинические симптомы БАС у человека.

На пресимптоматической стадии (возраст мышей - 90 дней) в отсутствие клинических проявлений наблюдается образование белковых агрегатов и изменения в альтернативном сплайсинге, выражающиеся в удержании интронов в составе транскриптов. На симптоматической стадии (120 дней) наблюдались стойкие локомоторные нарушения, а число белковых агрегатов увеличивалось многократно. Изменения в профиле экспрессии генов свидетельствовали об активации микроглии с преобладанием провоспалительного фенотипа, нарушениях функций ацетилхолинэргического синапса и синтеза холестерина.

Таким образом, изменения транскриптомного профиля в тканях спинного мозга при FUS-опосредованной протеинопатии, начавшиеся на пресимптоматической стадии, приобретают лавинообразный характер уже через один месяц. Наблюдаемая при этом массивная гибель двигательных нейронов имеет фатальные последствия для организма. Дальнейшее изучение, например, убиквитин-протеасомной системы и функционирования белков-шаперонов позволит расширить наше представление о защитных механизмах клетки при протеинопатии, а также выявить возможные мишени для таргетной терапии заболеваний подобной этиологии.



## ПОЛУЧЕНИЕ ТОЧЕЧНЫХ МУТАЦИЙ АКРИЛИЛ-КОА-РЕДУКТАЗЫ (AcuI) УВЕЛИЧИВАЮЩИЕ СПЕЦИФИЧНОСТЬ ФЕРМЕНТА К КОФАКТОРУ НАД<sup>+</sup>.

**Андриянов П.А.<sup>1</sup>, Мустахимов И.И.<sup>2</sup>, Решетников А.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина ФГБУН  
Федеральный исследовательский центр Пушинский научный центр биологических  
исследований РАН, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Пушинский государственный  
естественно-научный институт, Пушкино, Россия

*mii80@rambler.ru*

Акрилат является широко распространенным соединением, благодаря его использованию в качестве основного химического сырья для акриловых полимеров в красках и других продуктах нефтехимической промышленности. В естественных условиях, акрилат образуется в значительных количествах в результате расщепления диметилсульфопропионата (ДМСП) - широко распространенного осмопротектора морских водорослей и фитопланктона. Образующийся акрилат ингибирует рост бактерий, поскольку превращается ими в токсичную молекулу акрилил-КоА. Ряд бактерий содержат гены кодирующие пропионил-КоА-лигазу (PrpE) и акрилил-КоА-редуктазу (AcuI), снижающие токсический эффект акрилата. Ген prpE катализирует образование акрилил-КоА из акрилата, а утилизация акрилил-КоА до пропионил-КоА осуществляет фермент AcuI. Ранее были охарактеризованы ферменты AcuI из *Ruegeria pomeroyi* DSS-3 и *E. coli* MG1655, и получены их кристаллы. AcuI проявляет высокую специфичность к акрилил-КоА и является НАДФН зависимым ферментом. Анализ опубликованной кристаллической структуры фермента показал, что отрицательно-заряженная фосфатная группа НАДФ в рибозе кофермента вовлечена во взаимодействие с положительной аминогруппой аргинина 180 и 198, а также образует водородные связи с серином 178 и аспарагином 313 полипептидной цепи, что определяет возможную специфичность к кофактору НАДФН. Нами получены мутантные варианты фермента AcuI из *E. coli* MG1655 с точечными аминокислотными заменами в положениях S178A, R180M, R198M, N313L. Анализ мутантного фермента показал снижение удельной активности и  $K_m$  с кофактором НАДФН ( $V_{max} = 3$  Е/мг,  $K_m = 0.15$  мМ), относительно дикого типа AcuI ( $V_{max} = 13$  Е/мг,  $K_m = 0.03$  мМ). Точечная аминокислотная замена в положении S156D привела к увеличению специфичности фермента к кофактору НАДН, что указывает на образование водородных связей карбоксильной группы аспартата и гидроксильной рибозного кольца НАДН. Анализ мутантного фермента S156D выявил снижение удельной активности и  $K_m$  с кофактором НАДФН ( $V_{max} = 0.38$  Е/мг,  $K_m = 0.11$  мМ), и напротив фермент увеличил специфичность к кофактору НАДН и проявлял более высокую удельную активность ( $V_{max} = 4$  Е/мг,  $K_m = 0.12$  мМ). Таким образом, нами получены ряд мутантных форм фермента AcuI с более высокой специфичностью и удельной активностью к НАДН, чем НАДФН. Полученный фермент AcuI с новыми биохимическими свойствами послужит основой для понимания структуры взаимодействия с кофактором НАДН/НАДФН, и альтернативой в метаболической инженерии для НАДФ-зависимых акрилил-КоА-редуктаз.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-29-07044 мк



## ПОЛИМЕРАЗА ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ КАК МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА *HER2* У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА

**Рустамова Ш.О.<sup>1</sup>, Турдикулова Ш.У.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Институт биофизики и биохимии при Национальном Университете Узбекистана, Ташкент, Узбекистан; <sup>2</sup>Центр передовых технологий, Ташкент, Узбекистан

*rustamova.shohista@yandex.ru*

К настоящему времени рак желудка занимает четвертое место по встречаемости, уступая опухолям лёгкого, молочной железы и толстой кишки. Благодаря применению методов молекулярной генетики возможно выявление вариантов злокачественных новообразований, поддающихся таргетной терапии. На сегодняшний день наиболее точным методом оценки активации онкогена *HER2* (*Human epidermal receptor*) является метод иммуногистохимии, позволяющий определить уровень онкопротеина. При этом не все практические лаборатории имеют возможность использовать метод, главным образом из-за отсутствия специального оборудования и высокой стоимости. Для определения статуса гена *HER2* в опухолевых клетках осуществляется интенсивный поиск новых методов *HER2*-тестирования. В частности, исключительно хорошие результаты продемонстрировал протокол оценки статуса *HER2* по уровню его экспрессии на уровне ДНК, основанный на применении полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Гиперэкспрессия *HER2* выявляется в 10-15% случаях рака желудка, причем в 90–95% случаях гиперэкспрессия *HER2* является прямым результатом амплификации гена *HER2*.

После серий испытаний был разработан оптимальный метод проведения ПЦР-РВ с использованием интеркалирующего красителя *SYBR Green* и *TaqMan* гибридационных зондов. При определении статуса *HER2* методом ПЦР-РВ основой является Ст-цикл исследуемых генов. Разработанными методами ПЦР-РВ были проведены испытания на выделенных ДНК из клеточных линий рака желудка, которые ранее были проверены на статус *HER2* методом иммуногистохимии, результат которой был известен: клеточная линия *AGS*(*gastric adenocarcinoma*) – *HER2*-отрицательный и клеточная линия *HGE*(*human gastric epithelial*) – *HER2*-положительный. В результате проведения ПЦР-РВ *SYBR Green* и ПЦР-РВ *TaqMan* в образцах ДНК обеих клеточных линий амплификация генов *HER2* и  $\beta$ -глобин шла на уровне от 18 до 31 цикла. При ПЦР-РВ *SYBR Green* разница между циклами составляла на *AGS*-0,03, на *HGE*-5,16, при ПЦР-РВ *TaqMan* соответственно 1,67 и 5,61. Такой результат позволяет сделать вывод, что результаты ПЦР-РВ *SYBR Green* и ПЦР-РВ *TaqMan* на 100% совпадают с результатами иммуногистохимии.

Гиперэкспрессия гена *HER2* говорит о *HER2* положительном статусе опухолевых клеток, в результате которого увеличивается количество *HER2* рецептора на поверхности опухолевых клеток и, как следствие, запускается процесс туморогенеза. Полученные результаты свидетельствуют о высокой эффективности использования ПЦР анализа в режиме реального времени для выявления *HER2* негативных опухолей, позволяющих минимизировать количество ложно отрицательных результатов при проведении тестирования.



## ИДЕНТИФИКАЦИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ АМИЛОИДОВ В ООЦИТАХ DROSOPHILA MELANOGASTER

**Рыжкова К.В.<sup>1</sup>, Синюкова В.А.<sup>2</sup>, Сопова Ю.В.<sup>1,2</sup>, Белашова Т.А.<sup>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

*kristinaryzhkova.ms@gmail.com*

Амилоиды представляют собой фибриллярные белковые агрегаты, в которых бета-складчатые листы формируются за счёт образования межмолекулярных водородных связей. Первые работы по изучению амилоидов были связаны с их патологической ролью в различных живых организмах, в том числе с их ролью в развитии нейродегенеративных заболеваний человека. Тем не менее, кроме патологических амилоидов, известны белки, выполняющие в амилоидной конформации жизненно важные функции в клетках живых организмов. Есть данные, что ряд структур окрашивается амилоид-специфичными красителями в яичниках различных организмов, однако более детальный анализ был проведен лишь для нескольких из них. В нашей лаборатории был разработан метод протеомного скрининга амилоидов (PSIA-LC-MALDI), основанный на устойчивости амилоидных фибрилл к ионным детергентам. С помощью данного метода мы идентифицировали белки, формирующие SDS-устойчивые агрегаты в яичниках *Drosophila melanogaster*. Нами были проведены окрашивания криосрезов яичников амилоид-специфичными красителями тиофлавином S и Конго красным. Было показано, что тиофлавин S связывается неравномерно со всей поверхностью оболочки яичника, краситель активно связывает структуры pillars (столбики), являющиеся основными структурными компонентами хориона. Окраска Конго красным также показала, что данные столбики демонстрируют зеленое свечение в поляризованном свете, что является типичным свойством амилоидных структур. Сопоставив эти данные с результатами протеомного скрининга, мы составили список наиболее перспективных белков-кандидатов на роль функциональных амилоидов у дрозофилы. Один из них – мажорный белок хориона CH36, в случае делеции гена которого нарушается структура оболочки яйца, не формируется микропиле, что препятствует оплодотворению и в последствии приводит к стерильности мух с данной мутацией. Наличие потенциально амилоидогенных регионов в белке также было предсказано с использованием программы ArchCandy. В настоящее время нами проводится работа по оценке амилоидных свойств этого белка в дрожжевой системе *in vitro*.



## ЦИАНИНОВЫЕ КРАСИТЕЛИ НА ОСНОВЕ АЗОЛОПИРИМИДИНИЕВЫХ СОЛЕЙ - ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ МАРКЕРЫ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

**Самохвалова М.С.<sup>1</sup>, Тилинин М.С.<sup>1</sup>, Якименко Д.Д.<sup>1</sup>, Малышева И.А.<sup>1</sup>, Лысенко А.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

*msamokhvalova48@gmail.com*

В настоящее время борьба с опухолевыми заболеваниями является одной из важнейших задач современной медицины, фармакологии и молекулярной биологии. В этом контексте разработка новых способов экспресс-диагностики онкологической клетки способствует выявлению патологий на ранних стадиях. Мы считаем, что эту задачу можно решить при помощи создания флуоресцентных красителей, которые по-разному окрашивают зрелую клетку и клетку, обладающую мезенхимальными свойствами. Поэтому поиск веществ, по-разному окрашивающих эти клетки - актуальная цель нашей работы.

Для достижения поставленной цели нами были спроектированы и синтезированы цианиновые красители на основе перхлоратов азолопиримидиния, а именно 5-(4-(диметиламино)стирил)-7-метил-3-фенилтиазоло[3,2-а]пиримидин-4-ий перхлората и 2-амино-5-(4-(диметиламино)стирил)-7-метил-[1,3,4]тиадиазоло[3,2-а]пиримидин-4-ий перхлората. Красители были получены в реакции Кневенагеля 4-диметиламинобензальдегида и соответствующих перхлоратов 5,7-диметил-3-фенилтиазоло[3,2-а]пиримидин-4-ия и 2-амино-5,7-диметил-[1,3,4]тиадиазоло[3,2-а]пиримидин-4-ия и идентифицированы с помощью ЯМР спектроскопии.

Для подтверждения нашей гипотезы мы провели тесты на клеточной культуре мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани (стволовая клетка) и буккальном эпителии слизистой щеки человека (зрелая клетка).

Регистрацию флуоресценции клеток проводили при помощи конфокального лазерного сканирующего микроскопа DIGITAL ECLIPSE C1 plus фирмы NIKON (Япония) при длине световой волны 488 нм.

Было установлено, что флуоресцентный краситель проникает через клеточную мембрану и под воздействием лазера 488 нм флуоресцирует при длине волны 515 - 530 нм.

Анализируя полученные изображения, мы видим, что в стволовой клетке произошло интенсивное окрашивание мембран и органелл во внутриклеточном ретикулуме, а ядро не прокрашивается; в то время как в зрелой клетке прокрашивается и ядро, и мембрана, и цитоплазматические органеллы. Такие отличия в окрашивании характерны для обоих красителей. Таким образом, можно предположить, что другие красители азолопиримидиниевых солей обладают схожими свойствами. Это и синтетическая доступность красителей данного ряда позволяет легко создавать целевые библиотеки красителей для работы по различным видам клеточных культур, включающим как стволовые клетки, обладающие мезенхимальными свойствами, так и зрелые клетки.



## ВЛИЯНИЕ ИНФИЦИРОВАНИЯ PSEUDOMONAS SYRINGAE DC3000 НА ИЗМЕНЕНИЕ ДЛИНЫ ТЕЛОМЕР В РАСТЕНИЯХ ARABIDOPSIS THALIANA

**Санникова А.В.<sup>1</sup>, Валеева Л.Р.<sup>1</sup>, Шарипова М.Р.<sup>1</sup>, Шакиров Е.В.<sup>1</sup>**

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

*Nastikfox@mail.ru*

Длина теломер является одним из важнейших показателей репликативного возраста клетки и, таким образом, влияет на продолжительность жизни организма в целом. Теломеры необходимы для сохранения целостности генома, предотвращения слипания концевых участков хромосом и в защите от нуклеаз. С каждым делением клетки теломеры укорачиваются, что в итоге приводит к клеточному старению. В природе существует множество факторов, которые напрямую или косвенно могут влиять на изменение длины теломер. В частности, ранее было показано, что некоторые абиотические факторы могут вызывать укорочение длины теломер у животных, тогда как влияние биотических факторов на длину теломер в настоящее время мало изучено, в том числе и у растений. Целью работы было определение влияния фитопатогенных бактерий *P. syringae* DC3000 на поддержание длины теломер в растениях *A. thaliana*.

Нами было проведено инфицирование растений *A. thaliana* дикого типа (экотип Columbia) и мутантных по гену *NOP2C*, имеющих нормальную длину теломер, штаммом *P. syringae* DC3000. Проникновение бактериальных клеток в ткани растений подтверждали бактериальным посевом из гомогената поверхностно стерилизованных листьев растений на чашки Петри. Отбор ткани растений для анализа теломерной ДНК проводили на 3 и 7 сутки после заражения. Измерение длины теломер проводили высокочувствительным методом амплификации теломерных повторов (PETRA), позволяющим идентифицировать длину теломер на отдельных хромосомных плечах. Нами установлено, что длина теломер правого плеча четвертой хромосомы *A. thaliana* как у мутантных растений второго и третьего поколения, так у дикого типа снижается при инфицировании штаммом *P. syringae* DC3000 по сравнению с контролем.

Таким образом, нами показано, что биотические факторы, в частности, инфицирование патогенными микроорганизмами, оказывают влияние на длину теломер растений. Дальнейшее изучение механизмов данного процесса позволит не только лучше понять регуляторные пути поддержания структуры теломер, но и разработать новые технологии для увеличения продолжительности жизни клетки.

Исследование выполнено при поддержке РФФИ в рамках научного проекта №18-34-00629.

## РОЛЬ ГЕТЕРОХРОМАТИНОВЫХ БЕЛКОВ HP1 В ИМПРИНТИНГЕ ОТДЕЛЬНЫХ АУТОСОМНЫХ ЛОКУСОВ У MUS MUSCULUS

**Сидельников Л.О.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

*l.sidelnikov@g.nsu.ru*

В ходе развития млекопитающих требуется, чтобы определенные гены избирательно экспрессировались только с одного аллеля – отцовского или материнского. Регуляторный механизм, управляющий такой аллель-специфичной экспрессией, называется геномным



импринтингом. В основе подавления экспрессии импринтируемых аллелей лежит избирательное метилирование CpG островков в составе специфических регуляторных локусов. Паттерн ДНК-метилирования изменяется в ходе онтогенеза и играет важную роль в раннем эмбриогенезе, и aberrантное метилирование может приводить к патологиям развития. Гетерохроматиновые белки семейства HP1 задействованы в регуляции импринтинга, и наиболее вероятной их ролью является поддержание метилирования регуляторных локусов импринтированных аллелей в ходе раннего эмбриогенеза.

Роль белков HP1 исследовали в эмбриональных стволовых клетках (ЭСК) мыши. В ходе работы необходимо было получить линии ЭСК мыши с делециями всех трех известных генов, кодирующих гомологи HP1: HP1 $\alpha$ , HP1 $\beta$  и HP1 $\gamma$ . Гомолог HP1 $\alpha$  был удален при помощи системы CRISPR/Cas9. Делеции гомологов HP1 $\beta$  и HP1 $\gamma$  были получены посредством Cre-Lox рекомбинации по внедренным ранее в их окрестности сайтам. В результате были получены клоны ЭСК, несущие различные комбинации делеций по генам гомологов HP1. На следующем этапе было изучено влияние белков HP1 на статус метилирования локусов, подверженных импринтингу, в частности подробно охарактеризованного локуса Dlk1-Dio3. Анализ проводили при помощи метода COBRA-assay и высокопроизводительного секвенирования. Уровень экспрессии импринтированных генов оценивали методом ОТ-кПЦР в реальном времени.

В результате работы было исследовано влияние комбинаций делеций генов, кодирующих гомологи HP1, на статус метилирования в локусах, подверженных импринтингу.

## ПОЛУЧЕНИЕ АДЕНОВИРУСА СЕРОТИПА 6 С КОНТРОЛЕМ РЕПЛИКАЦИИ ПОД ПРОМОТОРОМ ГЕНА ТЕЛОМЕРАЗЫ ЧЕЛОВЕКА

**Сизова М.А.<sup>1</sup>, Осипов И.Д.<sup>1</sup>, Романенко М.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

*sizova.mary.alex@gmail.com*

В настоящее время активно развивается такое направление иммунотерапии как использование онколитических вирусов для борьбы со злокачественными опухолями. На основе вирусов, обладающих онколитическими свойствами, уже создано несколько препаратов, разрешенных для применения в клинической практике или находящихся на различных стадиях клинических испытаний. Одним из вирусных семейств, представители которого широко используются в качестве онколитиков, является *Adenoviridae*.

Уже одобренные или находящиеся в клинических испытаниях препараты сконструированы на основе аденовируса серотипа 5, из-за чего лечение может приводить к гепатотоксичности. Также из-за повсеместной распространенности этого серотипа у населения имеется преобладающий иммунитет. Альтернативный серотип 6 (Ad6) лишен этих недостатков. Работа посвящена конструированию онколитических векторов на основе аденовируса серотипа 6 (Ad6), которые могут служить основой для противоопухолевого препарата.

Для усиления специфичности Ad6 по отношению к опухолевым клеткам в его геном было решено ввести опухолево-специфический промотор гена теломеразы человека (hTERT), который бы контролировал репликацию гена E1A, а, следовательно, и весь репликативный цикл вируса, ограничивая его только клетками с активной теломеразой.





Модифицированный вирус получали методом гомологичной рекомбинации In-Fusion между шаттл-плазмидой, несущей hTERT и фрагменты генома Ad6 и геномной ДНК Ad6 с удаленным начальным фрагментом. Затем из полученной полногеномной плазмиды (pAd6-hTERT) вырезали копию генома и проводили трансфекцию клеток Ad293 для “оживления” вируса. Было показано, что копия генома из pAd6-hTERT способна реплицироваться и вызывать цитопатическое действие. Произвели наработку Ad-hTERT и очистку вируса в градиенте плотности CsCl. Провели измерение титра полученной вирусной суспензии, он составил  $10^{11.55}$  ТЦПД50/мл.

## АНАЛИЗ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ХРОМОСОМНОГО РАЙОНА, КОНТРОЛИРУЮЩЕГО ИЗБИРАТЕЛЬНОЕ ЭЛИМИНИРОВАНИЕ ОТЦОВСКОЙ X- ХРОМОСОМЫ У *SCIARA COPROPHILA*

Скрыпник П.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия

*p.skrypnik@g.nsu.ru*

В ходе эмбриогенеза *Sciara coprophila* происходит запрограммированное элиминирование половых хромосом отцовского происхождения, в результате у самок элиминируется одна отцовская X-хромосома, а у самцов обе. Это явление называется хромосомным импринтингом, полное представление о механизмах которого к настоящему времени не сформировано, однако есть основания полагать, что они имеют эпигенетическую природу.

Ключевую роль в процессе элиминирования играет контролирующий элемент, расположенный в прицентромерном гетерохроматине короткого плеча X-хромосомы. Природа контролирующего элемента, как и точный механизм элиминирования, в котором он принимает непосредственное участие, неизвестны. Поэтому целью данной работы стало секвенирование и анализ нуклеотидной последовательности хромосомного района, содержащего элемент, контролирующий элиминирование отцовской X-хромосомы у *S. coprophila*.

План работы включает в себя первичную сборку генома *S. coprophila*, микродиссекцию фрагмента короткого плеча X-хромосомы с препаратов политенных хромосом *S. coprophila*, секвенирование микродиссекционной библиотеки и картирование полученных последовательностей на первичную сборку всего генома с целью идентификации хромосомного района, содержащего SE, для последующей характеристики и анализа особенностей организации его нуклеотидной последовательности.

Работа поддержана грантом Правительства РФ №14.Y26.31.0024



## СОЗДАНИЕ УНИВЕРСАЛЬНЫХ И РЕГУЛИРУЕМЫХ ХИМЕРНЫХ АНТИГЕННЫХ РЕЦЕПТОРОВ

**Слущкая Е.А.<sup>1</sup>, Степанов А.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

*slutskay@yandex.ru*

Все чаще для лечения рака применяют иммунотерапию, которая использует иммунную систему самого пациента. Одним из направлений является разработка Т-клеток, модифицированных химерным антигенным рецептором (Chimeric antigen receptor, CAR). CAR представляет собой рекомбинантный гибридный белок, состоящий из внеклеточного, трансмембранного, внутриклеточного, а также различных ко-стимулирующих доменов. Т-клетки, модифицированные CAR (CAR-T), специфически распознают свой целевой антиген через связывающий домен, что приводит к активации Т-клеток независимо от главного комплекса гистосовместимости.

Не смотря на успешное применение CAR-T для лечения пациентов с поздними стадиями лейкозов и лимфом (более половины до сих пор живы, сотни полностью излечились), все еще остается ряд побочных эффектов (синдром “цитокинового шторма”, эволюция опухолевых клеток под давлением терапии), в связи с которыми технология нуждается в усовершенствовании.

Актуальность данной работы заключается в решении проблем созданием модульных универсальных CAR. Суть подхода - создание CAR распознающего не саму опухолевую клетку, а адаптер, который вводится отдельно и распознает злокачественные клетки. Такую CAR-T можно использовать против множества различных антигенов. Для создания CAR-T, были использованы рибонуклеаза барназа и ее природный ингибитор - белок барстар, которые способны быстро образовывать очень прочный комплекс, обладая высоким сродством и низкой иммуногенностью.

Целью работы являлось создание лентивирусных плазмидных векторов, кодирующих химерные антигенные рецепторы, конъюгированные с молекулами барстар с различными мутациями. Далее трансфецированные векторными конструкциями клетки линии HEK293T были иммуноцитохимически окрашены антителом  $\alpha$ -Fc IgG1, конъюгированным с PE (для подтверждения экспрессии CAR) и Barnase-DARPIN, конъюгированной с красителем DyLight 650 (подтверждение взаимодействия Barnase с Barstar).

При проведении проточной цитофлуориметрии была подтверждена экспрессия химерного антигенного рецептора на поверхности трансфецированных клеток всеми векторными конструкциями: Bst-WT-Fc-CAR – 12% клеток, несущих на поверхности химерный антигенный рецептор; Bst- $\Delta$ C-Fc-CAR – 47%; Bst-I87E-Fc-CAR – 44%; Bst- $\Delta$ C-I87E-Fc-CAR – 63%. Было обнаружено положительное взаимодействие Barnase с Barstar в двух конструкциях, мутантных по цистеину - Bst- $\Delta$ C-Fc-CAR – 36% (только по C) и Bst- $\Delta$ C-I87E-Fc-CAR – 50% (двойной мутант – по цистеину и изолейцину). Подтвердилось положительное влияние данной мутации по цистеину (замена на аланин) на взаимодействие Barstar-Barnase.



## ФЕРМЕНТЫ ПОДСЕМЕЙСТВ СYP74M И СYP74L ПЛАУНКА SELAGINELLA MOELLENDORFFII HIERON

**Смирнова Е.О.<sup>1</sup>, Горина С.С.<sup>1</sup>, Аскарлова Е.К.<sup>1</sup>, Мухтарова Л.Ш.<sup>1</sup>, Топоркова Я.Ю.<sup>1</sup>, Гречкин А.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия

*yelena.smirnova@aiesec.net*

Результатом функционирования липоксигеназного каскада в живых организмах является синтез низкомолекулярных соединений, объединенных общим названием оксипилены. В растениях эти метаболиты выполняют роль медиаторов сигнальных систем, регуляторов роста, а также участвуют в формировании защитного ответа от биогенных и абиогенных стрессоров. Биосинтез оксипиленов в растениях начинается с превращения линолевой и альфа-линоленовой кислот при участии 9- и 13-липоксигеназ в соответствующие 9- и 13-гидроперекиси, которые в дальнейшем выступают в качестве субстратов для ряда ферментов, в том числе ферментов семейства СYP74 цитохромов P450, к которым относятся АОС, ГПЛ, ДЭС и ЭАС.

Плаунок *Selaginella moellendorffii* Hieron является одним из древнейших сосудистых растений, существующих в настоящее время. В результате аннотирования его генома было обнаружено 10 генов, кодирующих ферменты семейства СYP74. Кроме того, не исключено наличие нескольких дополнительных изоферментов. Гены семейства СYP74 *S. moellendorffii* кодируют белки, относящиеся к четырем новым подсемействам: СYP74J, СYP74K, СYP74L и СYP74M. Подобное разнообразие генов семейства СYP74 является редким. У цветковых растений, которые ранее считались единственными обладателями ферментов данного семейства, такого разнообразия практически не встречается.

Гены ферментов СYP74M1, СYP74M2, СYP74M3, СYP74L1, СYP74L2 были клонированы, соответствующие ферменты охарактеризованы. Анализ ферментов СYP74M1 и СYP74M3 показал, что они являются 13-специфичными дивинилэфирсинтазами, тогда как СYP74M2 – эпоксиалкогольсинтазой.

Ферменты СYP74L1 и СYP74L2 преимущественно обладали алленоксидсинтазной активностью. Обнаружение ферментов СYP74 у самых древних наземных растений, мхов и плаунов, представляет интерес в связи с вопросом о происхождении генов СYP74 у семенных растений. Результаты данной работы свидетельствуют о наличии сложного липоксигеназного пути у плауна *S. moellendorffii*, что, возможно, является одним из факторов, которые обусловили повсеместное распространение Плауновидных и сохранение их до настоящего времени.

Работа поддержана грантами РФФИ [18-04-00508](#) А и [18-34-01012](#) мол\_а.

ИССЛЕДОВАНИЕ АДАПТИВНОГО МУТАЦИОННОГО ПРОЦЕССА В ПОПУЛЯЦИЯХ РЕКОМБИНАНТНЫХ ШТАММОВ *ESCHERICHIA COLI*  
**Аликина О.В.<sup>1</sup>, Сырочева А.О.<sup>1,2</sup>, Глазунова О.А.<sup>1</sup>, Шавкунов К.С.<sup>2</sup>, Озолин О.Н.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия

*chu-chan@bk.ru*

Для изучения процесса адаптивной эволюции бактериальных геномов в ответ на интеграцию чужеродного генетического материала, более трёх лет назад был начат



эволюционный эксперимент. Для этого два гена *E. coli* MG1655, содержащие типичные для горизонтально приобретённых геномных локусов кластеры промотор-подобных последовательностей, были заменены на соответствующие ортологи из генома *Salmonella enterica* Typhimurium 14028S, транскрибируемые с обычных промоторов. Полученные мутантные штаммы непрерывно культивируются с ежедневным пересевом на свежие среды и ежемесячно консервируются для обеспечения возможности восстановления культур и возвращения к любой точке эксперимента.

Конструктивной гипотезой, лежащей в основе эксперимента, было предположение о том, что латеральный перенос провоцирует ускоренный мутагенез в рекомбинантной области, направленный на супрессию посторонних генов специфическим ингибитором H-NS и, одновременно, на создание промоторов, облегчающих ассимиляцию полезных генов. В соответствии с этим, мониторинг мутаций, возникающих в перенесённых генах, выявил повышенную частоту спонтанных замен GC- на AT-пары, которые способствуют формированию и сайтов связывания H-NS, и промоторов. У мутанта с заменой *fumD* на рубеже ~7000 генераций возникла первая точечная замена, фиксированная всей популяцией. Так как расчётное время её случайного появления, исходя из зарегистрированной частоты мутагенеза в этом геноме, должно было быть на порядок более продолжительным, это свидетельствует об ускоренном мутагенезе в рекомбинантной области. По прошествии 13300 генераций, в промоторной области гена *fumD* сформировался протяжённый участок (132 н.п.), глубина прочтения которого не превышает 4% от среднего по всей рекомбинантной области, хотя ни одна из мутаций в нём ещё не фиксирована. Аналогичный участок в промоторной области второго мутанта (замена гена *sfnA*) имеет длину 65 н.п. Кроме точечных замен в нём наблюдаются вставки, делеции и даже инверсия. Наиболее интенсивному адаптивному мутагенезу, следовательно, подвержены промоторные области перенесённых генов, что может способствовать их интеграции в регуляторные сети реципиента.

Работа поддержана грантом РФФИ 16-04-01570.

## ПОЛУЧЕНИЕ МУТАНТНЫХ ФОРМ ГЛИЦИЛ-ТРНК-СИНТЕТАЗЫ ЧЕЛОВЕКА С УЛУЧШЕННЫМИ СВОЙСТВАМИ

**Танцур А.А.<sup>1,2</sup>, Виноградова Е.С.<sup>2</sup>, Никонова Е.Ю.<sup>2</sup>, Никонов О.С.<sup>2</sup>**

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

<sup>2</sup>ФГБУН Институт белка РАН, Пущино, Россия

*tantsura.nastya@mail.ru*

Глицил-тРНК-синтетаза человека (GARS) состоит из трех доменов: WHEP-домена, каталитического корового домена и антикодон-связывающего (ABD) домена. Именно ABD-домен отвечает за специфичность связывания с нуклеотидами антикодона тРНК<sup>Gly</sup>. Основная функция этого фермента – аминоацилирование тРНК. Однако у него была открыта дополнительная неканоническая функция – способность регулировать трансляцию у энтеровирусов [1]. GARS связывается с внутренним сайтом посадки рибосомы (IRES) вирусной РНК в районе доменов V, имитирующего антикодонную шпильку глициновой тРНК.

Сложность изучения механизма регуляции трансляции глицил-тРНК-синтетазой человека возникает уже на стадии ее выделения и заключается в склонности белка к агрегации, которая может быть вызвана неправильным фолдингом при гетерологичной экспрессии, что приводит к низким функциональным выходам. Для решения данной проблемы с помощью программы PROSS были рассчитаны точечные замены



аминокислотных остатков (направленные на увеличение стабильности, растворимости и т.д). Алгоритм вычисления основан на атомистическом моделировании программы Rosetta и информации о филогенетических последовательностях. Для моделирования была использована известная структура GARS (5E6M) (цепь А). Зоны взаимодействия GARS с цепью В, с тРНК, а также с лигандом (GAP) были исключены из областей, пригодных для внесения мутаций. В результате этих расчетов нами был получен набор точечных замен (минимум 6, максимум 20). На данный момент нами получена мутантная форма GARS, содержащая 3 точечные мутации ( Asp573Ser/Ala609Pro/Glu698Pro). В дальнейшем мы планируем ввести еще 3 замены (Val382Met/Tyr416Phe/Ser423Asp) для получения белка с улучшенными свойствами.

Литература:

1. Dmitri E. Andreev, Juliane Hirnet, Ilya M. Terenin, Sergey E. Dmitriev, Michael Niepmann, Ivan N. Shatsky; Glycyl-tRNA synthetase specifically binds to the poliovirus IRES to activate translation initiation, *Nucleic Acids Research*, Volume 40, Issue 12, 1 July 2012, Pages 5602–5614.
2. Xiangjing Qin, Xiangyu Deng, Lei Chen, Wei Xie; Crystal Structure of the Wild-Type Human GlyRS Bound with tRNAGly in a Productive Conformation, *Journal of Molecular Biology*, Volume 428, Issue 18, 11 September 2016, Pages 3603-3614.

## ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА DMNXF1 В ООГЕНЕЗЕ И РАННЕМ ЭМБРИОГЕНЕЗЕ DROSOPHILA MELANOGASTER

**Торопко М.С.<sup>1</sup>, Гинанова В.Р.<sup>1</sup>, Кливер С.Ф.<sup>1</sup>, Голубкова Е.В.<sup>1</sup>, Мамон Л.А.<sup>1</sup>**

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

*t97ms@yandex.ru*

Эволюционно консервативное семейство *Nxf* (nuclear export factor) представлено у многих организмов из групп Fungi и Metazoa, в том числе у человека. Давший название семейству ген *Nxf1* является жизненно необходимым, он экспрессируется во всех тканях и органах. Его главной функцией является контроль экспорта мРНК из ядра в цитоплазму.

Ортологом гена *Nxf1* у *Drosophila melanogaster* является ген *sbr* (“small bristles”, *DmNxf1*). Мутации в гене *sbr* имеют широкий спектр проявлений, что характерно для генов «домашнего хозяйства». Большинство аллелей *sbr* летальны в гомо- или гемизиготном состоянии. Мутации в генах *Nxf* у человека проявляются в виде умственных и психомоторных нарушений и патологических синдромов.

Гену *sbr* соответствует множество транскриптов за счёт альтернативной инициации транскрипции, альтернативного сплайсинга и альтернативного полиаденилирования, что отличает этот ген от других ортологов *Nxf1*. Известно как минимум десяток различных транскриптов *sbr*, им соответствуют, предположительно, 7 разных белков. Функции большинства транскриптов и соответствующих им белков на данный момент не известны.

Особенностью генов *Nxf1* является продукция интрон-содержащих транскриптов. Такие транскрипты показаны у человека, мыши, *Danio rerio*, дрозофилы и у других животных. Транскрипты с сохранённым интроном кодируют белок, из чего предполагается, что данная особенность имеет важное функциональное значение. Ранее были опубликованы данные, говорящие в пользу предположения об особом значении интрон-содержащих продуктов в функционировании нервной системы.

В данной работе исследуется, какие транскрипты присутствуют в ооцитах и ранних эмбрионах *Drosophila melanogaster*, различаются ли они количественно, есть ли различия



между материнским набором транскриптов гена *sbr* у эмбрионов дрозофилы и набором зиготических транскриптов, на каком этапе в эмбриогенезе появляются интрон-содержащие транскрипты, присутствуют ли в эмбрионах укороченные с 5'-конца транскрипты и, предположительно, каким белкам соответствуют найденные транскрипты.

Ответы, полученные в данной работе, способствуют определению функций транскриптов гена *sbr* на разных стадиях развития организма, определению функций интрон-содержащих транскриптов, способствуют пониманию механизмов формирования специализированных функций генов за счёт синтеза альтернативных продуктов у эукариотических организмов. Кроме того, информация о транскриптах гена *DmNxf1* может быть полезна при изучении функций продуктов гена *Nxf1* и его паралогов у человека, а также при изучении патологий, связанных с функционированием данного гена.

## МОЛЕКУЛЯРНОЕ КАРТИРОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ ПРИЗНАКОВ КАЧЕСТВА ВОЛОКНА НА ОСНОВЕ ГАК ПОПУЛЯЦИИ ХЛОПЧАТНИКА

**Тураев О.С.<sup>1</sup>, Нормаматов И.С.<sup>1</sup>, Холмурадова М.М.<sup>1</sup>, Юлдашева Н.Н.<sup>1</sup>, Хусенов Н.Н.<sup>1</sup>, Дарманов М.М.<sup>1</sup>, Кушанов Ф.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Центр геномики и биоинформатики АН РУз, Ташкент, Узбекистан

*ozodturaev@gmail.com*

Улучшение качества волокна хлопчатника вида *G.hirsutum* L., на долю которого приходится 95% мировых посевных площадей, является одной из важнейших задач селекционных программ государств, занимающихся хлопководством. Результатом научных исследований, проведенных в последние годы, явилась идентификация множества ДНК маркеров, ассоциированных с качеством волокна. Однако ввиду того, что большинство этих ДНК маркеров присущи местным сортам и линиям и при скрининге генотипов, имеющих другое географическое происхождение, они не демонстрируют генетическую связь с признаками качества волокна, то ученые мира при молекулярном картировании ценных хозяйственных признаков сельскохозяйственных растений пользуются специально создаваемыми популяциями для гнездового ассоциативного картирования (ГАК).

Научная значимость результатов исследования определяется созданием популяции (ГАК), имеющей очень высокое генетическое разнообразие, оценкой уровня выявленного генетического и фенотипического разнообразия с использованием различных статистических программ, молекулярным картированием QTL локусов, ассоциированных с прочностью и выходом волокна, определением местоположения маркированных локусов на хромосомах, пользуясь генетической картой хлопчатника.

Практическая значимость результатов исследования определяется тем, что генотипы ГАК популяции являются ценным источником при работе по картированию генов хозяйственных признаков хлопчатника; благодаря данным исследованиям создана возможность в относительно сжатые сроки получать новые сорта хлопчатника с высокой прочностью и выходом волокна путем внедрения в программу МАС идентифицированных в работе ДНК маркеров; кроме того, на основе МАС технологии получен новый сорт, несущий целевые маркеры прочности и выхода волокна.

Результаты молекулярное картирование свидетельствуют о наличии генетической связи между “прочностью” волокна и ДНК маркером NAU2140, а также между “выходом” волокна, с одной стороны, и ДНК маркерами BNL1047, BNL4071 и NAU3325, с другой.



## МОЛЕКУЛЯРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К ЖЕЛТОЙ, БУРОЙ И СТЕБЛЕВОЙ РЖАВЧИНЕ С ЦЕЛЬЮ ПРИМЕНЕНИЯ ДНК-МАРКЕРНОЙ ТЕХНОЛОГИИ В СЕЛЕКЦИИ ПШЕНИЦЫ

**Тураев О.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Центр геномики и биоинформатики АН РУз, Ташкент, Узбекистан

*ozod\_bek87@bk.ru*

На сегодня учеными всего мира создано и используется несколько видов химикатов против желтой, бурой и стеблевой ржавчины. Однако эти используемые противомикробные химикаты достаточно дорогостоящие и наносят серьезный вред здоровью людей и окружающей среде. И поэтому, создание устойчивых к болезням сортов являются как экономически, так и экологически важным. Одной из актуальных проблем, стоящих перед учеными-селекционерами, является выявление первичного селекционного материала - высокоурожайных, высококачественных, устойчивых к болезням и вредителям видов и создание на их основе соответствующих новых селекционных сортов.

В связи с этим селекция на основе молекулярных маркеров (МАС) обеспечивает быстрое и точное обнаружение (выявление) участков хромосом с нужными генами, и направленное их использование в селективных процессах, ускоряет создание новых сортов пшеницы. По сравнению с традиционными методами селекции, современная МАС технология сокращает процесс отбора и позволяет значительно сократить количество необходимых затрат.

Достижения в области молекулярной генетики за последнее десятилетие, в частности в области технологии молекулярных ДНК-маркеров, позволяют нам предложить новый подход, известный как Маркер – ассоциированная селекция (МАС) (MAS - Marker Assisted Selection). В этом подходе традиционная схема отбора расширяется за счет использования подобранных для скрещивания родительских образцов и использования на последующих селекционных этапах генетически связанных ценных генов и ДНК-маркеров, и это значительно сокращает время создания новых сортов пшеницы. Выведение и получение (создание) устойчивых к болезням сортов требуют постоянного поиска и привлечения эффективных источников генов высокоустойчивых образцов, которые могут легко передать эту свою особенность во время скрещивания (гибридизации).

Использование генетически идентичных доноров в процессе отбора и селекции сортов с одинаковыми генами устойчивости приводит к быстрой потере свойств устойчивости, поэтому важно регулярно анализировать гены устойчивости к генетически модифицированным заболеваниям у возделываемых на больших площадях сортов.

Изучить сортообразцы пшеницы Узбекистана и Беларуси с помощью молекулярных методов, что позволит определить устойчивость к патогенам у этих сортов, а также гены, ответственные за хозяйственно-ценные признаки. В результате этого будут выделены перспективные для выращивания в обеих республиках генотипы, будут даны рекомендации к использованию для селекционных процессов.



## IN VITRO РЕГЕНЕРАЦИЯ ГРАНАТА (*PUNICA GRANATUM L.*) ИЗ УЗЛОВОГО ЭКСПЛАНТА

**Убайдуллаева Х.А.<sup>1</sup>, Буриев З.Т.<sup>1</sup>, Султонова Ш.А.<sup>1</sup>, Бабаджанова Ф.И.<sup>1</sup>,  
Болкиев А.А.<sup>1</sup>, Абдуллаев А.Н.<sup>1</sup>, Эшмурзаев Ж.Б.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Центр геномики и биоинформатики АН РУз, Ташкент, Узбекистан

*hurshida\_70@mail.ru*

Гранат является экономически важной плодовой культурой тропических и субтропических регионов мира из-за его вкусных съедобных плодов, фармацевтических и декоративных свойств. Фруктовый сок граната является источником сахара, витаминной В и С, пантотеновой кислоты, калия, антиоксидантных полифенолов и железа.

В течение последнего десятилетия методы тканевой культуры широко используется для распространения некоторых важных тропических и субтропических плодовых деревьев [1, 4 и 5]. Микроразмножение граната также является важным шагом в успехе регенерации трансгенных линий и определяет эффективность преобразования граната (*Punica granatum L.*) [2]. Основная цель настоящего исследования заключается в разработке *in vitro* регенерации граната (*Punica granatum L.*) из узловой части растения.

**Материалы и методы исследования.** В настоящий момент в Центре Геномики и биоинформатики АН РУз разработаны индивидуальные среды и методики для *in vitro* размножения следующих перспективных сортов граната (*Punica granatum L.*): «Қаюм анори» и «Қора куюн». Культуральные материалы граната были собраны с высокоурожайных однолетних деревьев, произрастающих в Ферганской долине Кувинского района.

Были протестированы более 15 базальных сред с добавлением различных органических кислот и витаминов, из них были выбраны следующие: сахарозу добавляли до 30.0 г/л, рН был скорректирован между значениями 5.6 – 5.8, агар-агар (Hi-Media) добавляли в количестве 8.0 г/л для затвердевания среды. Для стадии пролиферации растение граната были протестированы следующие вещества: ИВА 0.2-2.0 мг/л, НАА 0.1-1.0 мг/л, ИВА 0.1-0.5 мг/л и НАА 0.1-0.5 мг/л. Также для стадии образования корней были протестированы два разных ауксина – ИВА и НАА с концентрациями 0.25 и 0.50 мг/л.

Результаты исследований показали, что НАА и ИВА показали одинаковые количество укоренений. Однако лучшие результаты наблюдались в среде, содержащей 0.50 мг/л ИВА, длина корня составляла от 0.5 до 2.8 см, тогда как в среде, содержащей 0.50 мг/л НАА длина корня составляла от 0.5 до 2.5 см.

## ИССЛЕДОВАНИЕ КИНЕТИКИ НАКОПЛЕНИЯ ЦИТОТОКСИЧНЫХ АГРЕГАТОВ В ПРОЦЕССЕ АМИЛОИДООБРАЗОВАНИЯ КАРБОКСИАНИГДРАЗЫ

**Фахранурова Л.И.<sup>1</sup>, Балобанов В.А.<sup>2</sup>, Глухов А.С.<sup>2</sup>, Рябова Н.А.<sup>2</sup>, Катина Н.С.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт белка РАН, Пущино, Россия

*lfakhranurova@gmail.com*

Образование амилоидов в органах и тканях связано с развитием ряда серьезных заболеваний человека, таких как болезнь Альцгеймера, Паркинсона и других. Патогенез амилоидозов связан с тем, что агрегаты, образующиеся в процессе амилоидообразования, могут взаимодействовать с клеточной мембраной, вызывая нарушение функционирования





клеток. Для поиска подходов к лечению амилоидных заболеваний важно определить, какие агрегаты являются токсичными для клеток, и от каких факторов зависит степень их цитотоксического действия.

В данной работе методом тиофлавиновой флуоресценции исследована кинетика амилоидообразования модельного белка карбоксиангидразы и ее мутантной формы L139A, содержащей замену в амилоидогенном участке. На клеточной линии фибробластов проведена оценка токсического действия агрегатов, образующихся на различных стадиях агрегационного процесса. Показано, что для карбоксиангидразы дикого типа наиболее токсичными являются амилоидные фибриллы, в отличие от этого цитотоксичные агрегаты белка с заменой L139A являются глобулярными и формируются на начальных этапах амилоидной агрегации.

Для ответа на вопрос о том, какие свойства агрегатов определяют их токсичность, было проведено сравнение структурных характеристик глобулярных агрегатов и фибрилл исследованных белков. С использованием метода динамического рассеяния света показано, что диаметр токсичных глобулярных агрегатов мутантной формы L139A существенно выше по сравнению с диаметром глобулярных агрегатов карбоксиангидразы дикого типа, не проявляющих цитотоксического действия. Также обнаружены различия в структурных характеристиках амилоидов двух белков: амилоиды карбоксиангидразы дикого типа характеризуются более низким процентным содержанием кросс- $\beta$ -структуры по сравнению с фибриллами мутантной формы.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00935 и участия Объединенного Пуццинского центра Электронной микроскопии.*

## СВЕРХЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ КОМПЛЕКСА РАСПОЗНАВАНИЯ МИСМАТЧЕЙ В ДНК MSH2 И MSH6 В КЛЕТКАХ НЕК293Т

**Фефилова Е. А.<sup>1</sup>, Пначина Е. М.<sup>1</sup>, Юдин А. Л.<sup>1</sup>, Велегжанинов И. О.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Детский технопарк «Кванториум», Сыктывкар, Россия; <sup>2</sup>Институт биологии Коми  
НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

*e.fefilova@list.ru*

Механизмы, запускаемые в ответ на стресс в клетках млекопитающих, определяют клеточную устойчивость к стрессовым факторам. Понимание механизмов, регулирующих целостность генома и возможность управления ими, было в центре внимания биологических исследований в последние десятилетия. Способность контролировать устойчивость клеток и организмов к стрессу будет иметь большое значение для совершенствования методов лечения рака, увеличения продолжительности жизни человека, создания новых сельскохозяйственных сортов растений и пород животных. С середины 80-х годов было выполнено множество экспериментальных исследований, изучающих последствия сверхэкспрессии генов стресс-ответа, однако в большинстве случаев это не приводило к значительному увеличению стрессоустойчивости (Velegzhaninov et al., 2018). Для достижения лучших результатов необходимо сверхэкспрессировать гены одновременно в функционально обоснованных комбинациях, что было технически почти не осуществимо до появления технологии CRISPRa (Chavez et al., 2015).

Одним из примеров функционально взаимозависимых генов в рамках системы стресс-ответа являются MSH2 и MSH6. Продукты данных генов образуют комплекс, распознающий неправильно спаренные основания в ДНК (Fishel, 2015). В связи с этим,



целью работы является выявление изменения устойчивости клеток человека HEK293T к ионизирующему излучению при одновременной сверхэкспрессии генов MSH2 и MSH6.

На данном этапе работы достигнут промежуточный результат. Выполнены рестрикция и очистка линейаризованной плазмиды «gRNA Cloning Vector Bbs I ver. 2», а затем клонирование олигонуклеотидов, кодирующих гидовые РНК, к промоторам генов MSH2 и MSH6 в вектор «gRNA Cloning Vector Bbs I ver. 2». Полученные клоны верифицированы с помощью ПЦР и размножены в *E. coli*. Таким образом, выполнены наиболее технически сложные этапы исследования. В настоящий момент мы осуществляем попытки достигнуть сверхэкспрессии генов MSH2 и MSH6 в клетках HEK293T и оценить изменения радиостойчивости. В стендовом докладе будут представлены промежуточные результаты работы.

1. Velegzhaninov, I. O.; Ievlev, V. A.; Pylina, Y. I.; Shadrin, D. M.; Vakhrusheva, O. M. Programming of Cell Resistance to Genotoxic and Oxidative Stress. *Biomedicines* 2018, 6, doi:10.3390/biomedicines6010005.

2. Chavez, A.; Scheiman, J.; Vora, S.; Pruitt, B.W.; Tuttle, M.; Iyer, E.P.R.; Lin, S.; Kiani, S.; Guzman, C.D.; Wiegand, D.J.; et al. Highly efficient Cas9-mediated transcriptional programming. *Nat. Methods* 2015, 12, 326–328.

3. Fishel, R. Mismatch repair. *J Biol Chem.* 2015, 290, 26395-26403.

#### ИЗУЧЕНИЕ CRISPR CASY СИСТЕМЫ

**Французова И.В.<sup>1</sup>, Арсениев А.Н.<sup>1</sup>, Побегалов Г.Е.<sup>1</sup>, Федорова Я.В.<sup>2</sup>, Северинов К.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>Сколковский институт науки и технологий, Сколково, Россия

*irafrantsuzova96@gmail.com*

CRISPR-Cas системы, представляющие собой адаптивный иммунитет прокариот, активно используются для редактирования генома живых организмов.

В бактериальной клетке CRISPR кассета транскрибируется в длинную пре-крРНК, которая затем нарезается на короткие крРНК. Связываясь с крРНК, Cas нуклеазы образуют РНК-белковый комплекс, способный специфически узнавать чужеродную ДНК и вносить в нее двунитевой разрыв, защищая таким образом клетку.

Возможность нацеливать Cas белки на любой сайт ДНК за счет изменения последовательности направляющих РНК сделало их эффективным и удобным инструментом генетической инженерии. SpCas9 из *Streptococcus pyogenes*, Cas белок, впервые в 2013 году использованный для изменения генома клеток человека, остается широко используемым и на сегодняшний день, несмотря на большой размер и другие ограничения (Cong et al, 2013).

Биоинформатические методы позволяют находить новые типы CRISPR-Cas систем (Shmakov et al, 2017). Использование их в биоинженерии требует биохимической характеристики этих систем.

Мы решили исследовать недавно открытый белок CasY, найденный в метагеномной последовательности CPR (Candidate Phyla Radiation)(Danczak RE, et al, 2017), взятой из грунтовых вод. (Burstein et al, 2017)

CasY имеет малый размер и необычный доменный состав, не характерный для других Cas-эффекторов. Кроме того, в состав CRISPR-Cas кассеты CasY системы входят очень короткие 17-19-ти нуклеотидные спейсеры.



Для определения направления транскрипции CRISPR кассеты, а также последовательностей зрелых крРНК, мы провели секвенирование малых РНК, экстрагированных из клеток, несущих систему.

Выяснение последовательности крРНК позволило нам приступить к проверке активности CasY *in vitro*.

Для этого необходимо было воссоздать все компоненты системы: получить рекомбинантный белок и синтезировать направляющие РНК.

Для получения CasY белка была создана плаزمид, кодирующая ген белка, слитый с МВР. Был проведен подбор условий для получения растворимого CasY, выделен рекомбинантный белок, а также *in vitro* синтезированы несколько вариантов крРНК.

В настоящее время проводятся эксперименты для проверки активности системы *in vitro*, а также исследования в бактериях с целью показать, что система способна защищать бактериальные клетки в соответствии с данными, полученными Burstein et al.

Работа поддержана Министерством Образования РФ (соглашение №14.606.21.0006, RFMEFI60617X0006).

## ДИСПЕРСИОННЫЙ АНАЛИЗ ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ РОДИТЕЛЬСКИХ ЛИНИЙ ГАК ПОПУЛЯЦИИ

**Холмурадова М.М.<sup>1</sup>, Нормаматов И.С.<sup>1</sup>, Тураев О.С.<sup>1</sup>, Азимов А.А.<sup>1</sup>, Норбеков Ж.К.<sup>1</sup>, Кушанов Ф.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Центр геномики и биоинформатики АН РУз, Ташкент, Узбекистан

*khalmuradova.maftuna@mail.ru*

Повышение устойчивости новых сортов хлопчатника к жарким климатическим условиям с постоянным дефицитом почвенной влаги и пресной воды, в котором расположены многие хлопковые поля Республики Узбекистан, особенно актуальны и в настоящее время.

Целью данной работы являлся сравнительный анализ и оценка засухоустойчивости нескольких родительских линий генотипов хлопчатника посредством компьютерной программы однофакторного дисперсионного анализа.

В Центре геномики и биоинформатики АН РУз для решения данной задачи были проведены ряд лабораторных экспериментов на посевном материале некоторых сортов родительских генотипов, полученных при создании популяции хлопчатника методом гнездового ассоциированного картирования (ГАК). Посевные материалы – это семена трех разных сортов хлопчатника, посеянных в двух, условно так называемых «оптимальный фон» и «сухой фон», режимах орошения соответственно по схеме 1x2x1 и 0x1x0.

Для оценки статистически значимых различий линии генотипов хлопчатника методом дисперсионного анализа, подсчитаны на каждом отдельном кусте хлопчатника из соответствующего сорта и режима орошения, следующие показатели: высота первой урожайной ветви от поверхности земли, количество неурожайных (моноподиальных) и урожайных (симподиальных) ветвей, количества раскрытых и общих коробочек.

В результате применения однофакторного дисперсионного анализа установлены:

- показатели количество моноподиальных и симподиальных ветвей по значениям критерия Фишера определялись как статистически значимыми;
- статистически достоверное различие сортов с уровнем значимости  $P < 0.05$  осуществлялись только по количеству моноподиальных и симподиальных ветвей;



- более засухоустойчивый сорт среди других генотипов, выращенных на оптимальном и сухом фонах;
- в двух разных фонах выращенные хлопчатники одного и того же сорта статистически достоверно не различались.

## КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ IFITM В КЛЕТКАХ ЛИНИИ НЕК-293

**Хунагов Т.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрав РФ, Санкт-Петербург, Россия

*linius777@gmail.com*

Принципиально важным подходом в изучении иммунной системы организма является оценка иммунокомпетентных факторов, ответственных за реализацию защитных механизмов клеток. В этом плане, - перспективными объектами исследований являются интерферон-индуцируемые белки, обеспечивающие стимуляцию иммунной системы в ответ на вирусную инфекцию. Среди таких белков, - особое место следует уделить интерферон-индуцируемым трансмембранным факторам (IFITM).

Целью данной работы являлось сравнение уровня экспрессии IFITM в клетках со стимуляцией интерфероном гамма (IFN- $\gamma$ ) или вирусом гриппа А (IAV) и без стимуляции. Для достижения поставленной цели использовался метод количественного анализа белков в пробах и метод лазерной сканирующей конфокальной микроскопии с использованием специфичных к данным белкам антител.

Для исследования были взяты клетки линии НЕК 293, предварительно обработанные иммуностимулирующими агентами, IFN- $\gamma$  и IAV. В дальнейшем был проведен количественный анализ IFITM в пробах методом Лоури. Было показано, что в пробах со стимулированными клетками концентрация IFITM выше, чем в контрольной пробе. Кроме того, при помощи метода лазерной сканирующей конфокальной микроскопии с использованием соответствующих антител, нами был получен аналогичный результат, свидетельствующий о том, что IFN- $\gamma$  и IAV способствуют усилению экспрессии генов, ответственных за биосинтез IFITM.

В последнее время ряд исследователей считают IFITM ключевыми участниками иммунного ответа против многих оболочечных вирусов. Полученные нами результаты имеют как фундаментальное значение для изучения иммунной системы, так и прикладное значение. Будущие исследования семейства этих белков будут способствовать разработке лекарственных средств, нацеленных на ряд вирусных заболеваний, несущих угрозу для человека.

Работа была выполнена на базе НИИ гриппа Министерства здравоохранения Российской Федерации.



## G4-СТРУКТУРА В ПРОМОТОРЕ ГЕНА В-ГАЛАКТОЗИДАЗЫ ВЛИЯЕТ НА УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ БЕЛКА В КЛЕТКАХ E. COLI

**Чащина Г.В.<sup>1</sup>, Калюжный Д.Н.<sup>2</sup>, Бениаминов А.Д.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

*uzhny@mail.ru*

G-квадруплексные (G4) структуры представляют собой уникальный класс высокоупорядоченных структур нуклеиновых кислот, характеризующихся большим конформационным разнообразием. Исследования последних лет показали, что G4-структуры образуются в геномной ДНК и влияют на ключевые биологические процессы. В отличие от эукариотических геномов, геномы бактерий известны более низким содержанием потенциальных G4-последовательностей.

Целью настоящего исследования явилось выявление роли G4-структур в транскрипции у бактерий. Влияние положения G4-структуры в промоторе участка гена  $\beta$ -галактозидазы плазмиды pUC19 изучено на бактериальных клетках *E. coli* штамма *XL1-Blue*. Разработаны модельные плазмидные конструкции со вставкой G4-последовательности в промоторе оперона *lacZ* в смысловой и антисмысловой нитях ДНК. Последовательность с однонуклеотидной мутацией, препятствующей образованию квадруплекса, использовалась в качестве контроля влияния вторичной структуры ДНК. Роль вторичных структур ДНК в экспрессии гена оценивали по эффективности ферментативной реакции, катализируемой  $\beta$ -галактозидазой. Внесение G4-последовательности или ее мутантного варианта в антисмысловую нить промотора *LacZ* практически не влияло на уровень экспрессии  $\beta$ -галактозидазы и совпадало с таковым исходной плазмиды pUC19. Уровень экспрессии  $\beta$ -галактозидазы оказался значительно ниже в конструкции с G4-структурой в смысловой нити ДНК по сравнению с мутантной вставкой или исходным вектором pUC19.

Мы показали, что изменение нуклеотидной последовательности в промоторе антисмысловой нити на богатую гуанинами последовательность не изменяет активности промотора. Однако если квадруплекс образующая последовательность присутствует в смысловой нити, уровень экспрессии репортерного белка значительно снижается.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ, проект № 16-14-10396.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОЗОНА ДЛЯ ИНДУКЦИИ ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК В МЕТОДЕ «ДНК-КОМЕТ»

**Чернигина И.А.<sup>1</sup>, Кашина А.Ю.<sup>1</sup>, Щербатюк Т.Г.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

*chernigina.i@mail.ru*

Введение. Большинство исследователей в качестве тестовой генотоксической нагрузки в индивидуальных клетках на одном из этапов метода «ДНК-комет» используют гамма-излучение в определенных дозах (Сирота, 2010; Хаймович, 2010; Тронов, 1991; Chaubey, 2001; Lankoff, 2006; Vorob'eva, 2011). Однако для обеспечения такого подхода необходимо соблюдение ряда требований по СанПиН 2.6.1.2891-11, что существенным



образом ограничивает применение метода в биомедицинских исследованиях. Цель работы - оценить возможность применения озона для индукции повреждений ДНК в индивидуальных клетках. Материалы и методы. Эксперименты выполнены на лейкоцитах цельной крови самцов 30 нелинейных интактных беспородных крыс в возрасте 5 месяцев. Для каждого образца крови было приготовлено по 3 микроскопных слайда, состоящих из двух слоев агарозы, в один из которых были иммобилизованы индивидуальные ядродержащие клетки. Повреждения ДНК в этих клетках индуцировали фосфатно-солевым буфером с pH 7.4, через который предварительно пропускали в течение 5 минут озон-кислородную смесь при концентрации озона в смеси 400 и 900 мкг/л и скорости газотока 0.5 л/мин при помощи медицинского озонатора АОТ-НСК-01-«С (А-16)» ТМ «ТЕОЗОН» (РФЯЦ ВНИИЭФ, Саров). Клетки в составе агарозных слайдов обрабатывали озонированным физраствором в течение 10 минут. Далее проводили процедуры по протоколу метода ДНК-комет: лизис клеток, денатурацию ДНК, электрофорез нуклеоидов, ренатурацию ДНК, окрашивание ДНК флуоресцентным красителем, анализ флуоресцентной микроскопией и обработку изображений «ДНК-комет». Для количественной оценки уровня повреждений ДНК использовали процентное содержание ДНК в "хвосте кометы" (TDNA%). Уровень повреждений клеточной ДНК напрямую коррелирует с величиной TDNA% (Olive et al., 1990). Результаты. Уровень индуцированных повреждений ДНК при воздействии О<sub>3</sub> с концентрацией 900 мкг/л в озон-кислородной смеси в течение 10 минут составил TDNA=12.4±0.8%, что сопоставимо с уровнем повреждений ДНК, индуцированных гамма-излучением <sup>60</sup>Со в дозе 3 Гр (TDNA=12.1±0.8%).

Закключение. Таким образом, установлено, что концентрация озона 900 мкг/л оптимальна для детекции повреждений ДНК и их анализа.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-02-00667.

## ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ РЕЦЕПТОРПОДОБНОЙ КИНАЗЫ RLK4 РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ ВО ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С PECTOBACTERIUM CAROTOVORUM

**Шруб Е.В.<sup>1</sup>, Колубако А.В.<sup>1</sup>, Николайчик Е.А.<sup>1</sup>**

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

*shinksgirl13@gmail.com*

Изучение закономерностей развития заболеваний сельскохозяйственных растений является важным направлением работы в целях повышения урожайности. Объектом исследований нашей лаборатории является культурный картофель *Solanum tuberosum*, все сорта которого подвержены пектобактериальной инфекции, которая в неблагоприятные годы уничтожает до 50% урожая. Одним из факторов вирулентности *Pectobacterium carotovorum* является эффекторный белок DspE, доставляемый в клетку растения посредством системы секреции третьего типа (ССТТ). Для родственных пектобактериям *Erwinia amylovora*, патогенов яблони, показано взаимодействие эффектора ССТТ DspA/E с четырьмя рецепторподобными киназами подсемейства LRRIII растений. Поиск похожих последовательностей в геномах пасленовых дал положительные результаты, а эксперименты на модельном растении семейства Пасленовые, *Nicotiana benthamiana*, показали, что взаимодействие эффектора DspE патогена с рецепторподобными киназами RLK2 и RLK5 растения вызывает изменения в уровнях экспрессии некоторых генов в пользу пектобактерий и запуск программируемой гибели клеток в области первичного контакта с патогеном. Такая реакция может быть эффективна против биотрофных



патогенов, но благоприятно сказывается на развитии заболеваний, вызываемых некротрофами, в числе которых и *P. carotovorum*.

Такие результаты показали необходимость проверки роли других киназ подсемейства LRRIII в иммунном ответе растений картофеля. С этой целью последовательность киназного домена рецепторподобной киназы RLK4 растений *S. tuberosum* сорта Скарб была клонирована в мультикопийном векторе и секвенирована. Выравнивание последовательности относительно референсного генома картофеля показало наличие 17 нуклеотидных замен: 10 транзиций и 7 трансверсий, 8 из которых приводит к замене аминокислотного остатка. Последовательность киназного домена RLK4 затем клонирована в векторе pJG4-5 для проверки взаимодействия с DspE в двухгибридной дрожжевой системе. Планируется проверка функции RLK4 в растениях дикого мексиканского картофеля *S. bulbocastanum* с использованием методики вирус-индуцированного сайленсинга генов.

### СОЗДАНИЕ CRISPR ASCPF1 БЕЛКА, УЗНАЮЩЕГО АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ РАМ-ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ

**Щеглова Н.В.<sup>1</sup>, Колчина Н.В.<sup>1,2</sup>, Васильева А.А.<sup>1</sup>, Федорова Я.В.<sup>1</sup>, Петухов М.Г.<sup>1,2</sup>, Северинов К.В.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБУ Петербургский институт ядерной физики НИЦ Курчатовский институт, Гатчина, Россия; <sup>3</sup>Сколковский институт науки и технологий, Сколково, Россия

*shcheglovanatasha@yandex.ru*

Cpf1 является эффекторным белком-эндонуклеазой системы CRISPR/Cpf1 II класса. На сегодняшний день CRISPR/Cpf1 наряду с CRISPR/Cas9 используются для направленного редактирования генома прокариотических и эукариотических клеток. Использование crRNA соответствующей последовательности позволяет “направлять” Cpf1 белок на желаемый сайт в изменяемом геноме и вносить в него двунитевой разрыв (Zetsche et al, 2015).

Для успешного узнавания Cpf1 белком ДНК-мишени, кроме комплементарного спаривания crRNA, необходимо наличие РАМ (protospacer adjacent motif) – последовательности из нескольких нуклеотидов, фланкирующих мишень. Каждый эффекторный Cas белок характеризуется своим специфическим РАМ, что накладывает ограничения на применение системы. Так, для работы AsCpf1, Cpf1 белка из бактерий *Acidaminococcus*, требуется присутствие “TTTN” последовательности с 5’ конца ДНК-мишени. Такие длинные тимидин-богатые последовательности редко встречаются в ДНК человека, что ограничивает выбор целевых сайтов в геноме.

Для расширения спектра использования эндонуклеазы AsCpf1 было решено создать мутантные формы этого белка, узнающие альтернативные или укороченные РАМ последовательности.

С помощью анализа кристаллической структуры AsCpf1 (Yamano et al, 2016) были определены аминокислоты, взаимодействующие с РАМ-регионом мишени. Аминокислотные замены в этих позициях могут изменить РАМ-специфичность AsCpf1.

Для проверки этой гипотезы, нами были получены мутантные формы рекомбинатного AsCpf1 из клеток *E.coli*. Кроме того, были созданы эукариотические генетические векторы, несущие мутантные версии AsCpf1.



Проверка активности мутантных форм в порезке “ТТТН”-фланкированных мишеней показала, что белки не потеряли свою нуклеазную активность *in vitro* и в клетках человека.

Проведение *in vitro* РАМ скринингов с рекомбинантными белками выявило изменение спектра узнаваемых РАМ у мутантных форм AsCpf1: помимо исходного ТТТН РАМ, рекомбинантные белки показали способность узнавать дополнительные РАМ-последовательности. Для дальнейшего расширения спектра РАМ, узнаваемых мутантными белками, были синтезированы белки-рекомбинанты, несущие комбинации из нескольких найденных мутаций.

Дальнейшие исследования позволят определить точную РАМ последовательность, распознаваемую мутантными версиями AsCpf1-нуклеазы.

Работа поддержана Министерством Образования РФ (соглашение №14.606.21.0006, уникальный идентификатор RFMEFI60617X0006).

## СЕКЦИЯ "БИОФИЗИКА И БИОИНФОРМАТИКА"

### ИССЛЕДОВАНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОВРЕЖДЕНИЙ В ТКАНЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС, ПОДВЕРГНУТЫХ ВОЗДЕЙСТВИЮ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

**Абдуллаев С.А., Губина Н.Е., Евдокимовский Э.В., Митрошина И.Ю.**  
ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино,  
Россия

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

Исследования молекулярно-клеточных нарушений, возникающих на начальных этапах после воздействия ионизирующих излучений (ИИ) на головной мозг, представляется важными для поиска путей снижения индукции онкогенеза и когнитивных дисфункций. Мы исследовали репарацию ядерной ДНК (яДНК) и количественные изменения копий митохондриальной ДНК (мтДНК), а также модуляции экспрессии нескольких генов, поддерживающих митохондриальные функции в трех регионах мозга (в гиппокампе, в коре и в мозжечке) крыс после их X-облучения в дозе 5 Гр. В экспериментах использованы методы количественной ПЦР на длинных участках ДНК и ПЦР в реальном времени, метод расщепления гетеродуплексов продуктов ПЦР мтДНК Surveyor нуклеазой.

Результаты показывают, что репарация яДНК (в трех областях мозга крыс) протекает медленно в течение 24 часов. Гораздо медленнее происходит репарация яДНК в гиппокампе. Количество копий мтДНК в трех областях мозга быстро восстанавливается с одновременным увеличением доли ее мутантных копий. Наибольшее количество общих копий мтДНК и ее мутантных копий выявляется в гиппокампе. Результаты анализов показывают различные профили модуляций транскриптов генов окислительного фосфорилирования (ND2, CytB, ATP5O), генов регуляции биогенеза и динамики митохондрий (TFAM, PGC-1 $\alpha$ , Mfn1, Fis1) в регионах мозга облученных крыс. Эти модуляции происходят в трех областях мозга дифференцированно и зависят от времени после облучения крыс.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что активность репарации яДНК, синтез мтДНК и уровень ее мутантных копий, модуляция экспрессии генов, поддерживающих митохондрии, различаются в гиппокампе, коре и мозжечке мозга





X-облученных крыс. Эти изменения могут привести к митохондриальной дисфункции с повышением окислительного стресса в регионах головного мозга, и могут быть сопряжены с развитием отдаленных последствий воздействия ИИ.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 17-29-01007 офи\_м.*

## ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ В МОЧЕ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ИНДИКАТОРЫ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ФИЗИЧЕСКИХ И ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

**Абдуллаев С.А., Минкабирова Г.М.**

ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино,  
Россия

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

Клеточная гибель в тканях человека и животных представляет собой активный процесс, поддерживающий обновление клеточных популяций, функциональную целостность и гомеостаз тканей. С активностью клеточной гибели сопряжены уровни содержания фрагментов внеклеточной ДНК (вк-ДНК) в биологических жидкостях млекопитающих.

Ранее в нашей лаборатории было показано значительное повышение содержания вк-ядерной ДНК (вк-ядДНК) и митохондриальной ДНК (вк-мтДНК) в плазме/сыворотке мышей, подвергнутых воздействию ионизирующей радиации. В настоящее время качественные и количественные изменения вк-ДНК в кровотоке человека рассматриваются как биомаркер для быстрой оценки лучевой реакции и как диагностическая и прогностическая «жидкая биопсия» в процессе радио-, химиотерапии опухолей. Учитывая интерес к данной проблеме, мы исследовали возможность повышения экскреций вк-ядДНК и вк-мтДНК с мочой облученных крыс, а также после введения цитостатического препарата – блеомицина. Крыс подвергали рентгеновскому облучению в дозах 3, 5 и 8 Гр. Блеомицин вводили внутрибрюшинно в концентрациях 3, 7, и 10 мг/кг. Количественные анализы содержания вк-ядДНК и вк-мтДНК были проведены методом ПЦР-РВ. Результаты анализов показали, что уровень общего количества мтДНК и яДНК в моче облученных крыс зависит как от пострadiационного времени, так и от дозы облучения.

Показано, что содержание вк-ядДНК и вк-мтДНК имеет линейную зависимость от дозы рентгеновского излучения. Так, самые большие количества копий мтДНК и яДНК регистрировались в период от 6 до 24-х часов после облучения. Количество продуктов ПЦР-амплификации вк-мтДНК в 2-3 раза выше, по сравнению таковым вк-ядДНК. Данные анализов содержания вк-ядДНК и вк-мтДНК в моче у крыс после введения блеомицина также показали их повышенные уровни по сравнению с контрольными животными. Показано, что содержание вк-ядДНК и вк-мтДНК линейно зависит от дозы препарата. Таким образом, результаты проведенного исследования показали возможность преодоления у животных вк-мтДНК и вк-ядДНК трансрениального (почечного) барьера и их перехода в мочу после рентгеновского облучения, а также после введения блеомицина. Удалось выяснить дозовую зависимость этого процесса. Таким образом, повышенное содержание циркулирующей внеклеточной ДНК в моче можно рассматривать как потенциальный биомаркер для оценки уровня генотоксического груза при радиационном поражении организма, а также при воздействии других генотоксических агентов.



*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научных проектов № 16-34-00832.*

## РЕПАРАЦИЯ ЯДЕРНОЙ ДНК И УРОВЕНЬ МУТАНТНЫХ КОПИЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК В РАЗНЫХ УЧАСТКАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС, ОБЛУЧЕННЫХ ПРОТОНАМИ 150 МЭВ

**Абдуллаев С.А., Евдокимовский Э.В., Губина Н.Е.**  
ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН

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

Развитие радиационных синдромов при действии тяжелых заряженных частиц на структуры головного мозга, дают основания рассматривать центральную нервную систему как «критическую» систему при оценке риска радиационного воздействия на организм космонавтов при осуществлении межпланетных полетов.

В настоящей работе мы исследовали репарацию ядерной ДНК (ядДНК) и изменения общего количества копий митохондриальной ДНК (мтДНК), а также гетероплазмацию (уровень мутантных копий) мтДНК в трех регионах мозга (в гиппокампе, коре и мозжечке) крыс, облученных протонами в дозе 3 и 5 Гр ( $E=150$  МэВ) на установке фазотрон медико-технического комплекса Лаборатории ядерных проблем ОИЯИ, Дубна. В работе использованы методы количественной ПЦР на протяженных фрагментах ДНК (ПЦР-ПФ) и ПЦР в реальном времени, а также метод расщепления гетеродуплексов продуктов ПЦР мтДНК Surveyor нуклеазой.

Результаты показывают, что репарация яДНК (в трех областях мозга крыс) протекает медленно в течение 24 часов после облучения. Гораздо медленнее происходит репарация яДНК в гиппокампе. Восстановление мтДНК в трех участках мозга крыс после их облучения происходит более активно, по сравнению с яДНК. Наблюдаемое резкое восстановление мтДНК, возможно, обусловлено пострадиационной активацией биогенеза митохондрий с синтезом мтДНК в тканях мозга облученных крыс. Предполагаемая пострадиационная активация биогенеза митохондрий согласуется с результатами анализов, полученных методом ПЦР в реальном времени, которые показывают, что количества копий мтДНК увеличиваются относительно яДНК в трех регионах мозга в течение 24-х часов после облучения. При инициации репликативного синтеза с вовлечением поврежденных мтДНК, посредством ДНК-полимеразы  $\gamma$ , можно было ожидать появление новых копий мтДНК с мутациями и делециями в клетках головного мозга крыс после их облучения. Для оценки мутантных копий мтДНК после облучения крыс в дозе 3 Гр дополнительно использовались временные точки – через 2 недели, 1 и 2 месяца. От исследований после облучения в дозе 5 Гр в эти же сроки воздержались так, как возможна гибель животных. Результаты этих анализов показывают, что во всех трех участках головного мозга облученных крыс возникает резкое увеличение количества мутантных копий мтДНК. Так, к 24 часам после облучения в дозе 5 Гр количество мутантных копий мтДНК в участках мозга достигает около 25-35% от общего количества копий мтДНК в этих тканях. При облучении крыс в дозе 3 Гр максимальный уровень мутантных копий мтДНК регистрируется через 2 недели и составляет около 20-30%, в последующие же сроки после облучения крыс количество мутантных копий существенно снижается. В регионе гиппокампа наблюдается самый большой уровень мтДНК с мутациями.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что активность репарации яДНК, синтез мтДНК и уровень ее мутантных копий, различаются в



гиппокампе, коре и мозжечке головного мозга крыс, облученных протонами в различных дозах и в разное время после их облучения. Эти изменения могут привести к митохондриальной дисфункции с повышением окислительного стресса в регионах головного мозга, и могут быть сопряжены с развитием отдаленных последствий воздействия ИИ.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 17-29-01007 офи\_м.*

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГИБЕЛИ КЛЕТОК ГЛИОМЫ ПРИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ С ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРАМИ РАЗНОЙ ПРИРОДЫ

**Альзеибак Р.<sup>1</sup>, Пескова Н.Н.<sup>1</sup>, Турубанова В.Д.<sup>1</sup>, Мищенко Т.А.<sup>1</sup>, Митрошина Е.В.<sup>1</sup>, Ведунова М.В.<sup>1</sup>, Балалаева И.В.<sup>1</sup>, Крысько Д.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>Ghent University, St. Pietersnieuwstraat 33, 9000 Ghent, Belgium; Cancer Research Institute Ghent, Belgium

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

Опухоли мозга стоят на втором месте по частоте среди причин смертности от злокачественных новообразований и наиболее часто встречающийся тип опухолей головного мозга — это глиомы. Полное хирургическое удаление опухоли как правило затруднено, а применение химиотерапии и иммунотерапии не обеспечивает достаточно эффективного лечения. В связи с этим активно ведется разработка новых методов лечения глиомы мозга, в частности, фотодинамической терапии (ФДТ).

Целью работы является определение эффективных концентраций фотосенсибилизаторов (ФС) разной природы для индукции фотодинамического ответа клеток глиомы мыши и анализ путей клеточной гибели. Работа выполнена на клетках линии глиомы мыши GL261. Были использованы следующие фотосенсибилизаторы: фотосенс, фотодитазин, гиперидин и соединения собственной разработки из группы тетра(арил)тетрацианопорфиразинов (Pz I-IV). Анализ скорости поступления исследуемых ФС в клетки глиомы и особенностей их субклеточной локализации выполнен методом конфокальной микроскопии с использованием флуоресцентных красителей, специфических к клеточным органеллам, таким как лизосомы, митохондрии, эндоплазматический ретикулум (ЭПР) и аппарат Гольджи. Была проанализирована возможность индукции гибели клеток для всех исследуемых красителей в темноте, а также при облучении в дозе 20 Дж/см<sup>2</sup>. Оценка цитотоксичности соединений осуществлялась методом МТТ-теста. С целью предварительного установления типа клеточной смерти, индуцируемой при ФДТ, был проведен ингибиторный анализ, с использованием ингибиторов, селективно блокирующих развитие апоптоза, некроптоза или ферроптоза.

Результаты показали, что исследуемые фотосенсибилизаторы существенно отличаются по скорости поступления и внутриклеточной локализации. Среди ФС наибольшую скорость интернализации показал Pz I и наименьшую скорость – фотосенс. Основным местом локализации фотосенса являются лизосомы. Подтверждена локализация гиперидина в ЭПР клеток. В случае остальных фотосенсибилизаторов их присутствие отмечено в аппарате Гольджи и ЭПР. При инкубации с исследуемыми ФС в темноте не было выявлено негативного влияния на жизнеспособность культуры. Облучение приводило к гибели клеток при концентрациях фотосенсибилизаторов, не



превышающих ~1 мкМ. По результатам ингибиторного анализа показано вероятное участие разных типов регулируемой клеточной смерти в гибели клеток после облучения. В дальнейшем планируется более детальный анализ типа клеточной гибели клеток глиомы при фотодинамическом воздействии в разных режимах.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (проект 18-15-00279).*

## МОДЕЛЬ ВОЗДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА ЭРИБУЛИН НА МИКРОТРУБОЧКУ

**Анисимов М.Н.<sup>1</sup>, Гудимчук Н.Б.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва, Россия

[amih199898@gmail.com](mailto:amih199898@gmail.com)

Микротрубочки – цитоскелетные полимеры белка тубулина, которые играют важную роль в поддержании структуры клетки и её подвижности, внутриклеточном транспорте и процессе митоза. Ингибирование динамики микротрубочек останавливает деление клеток, в том числе раковых. Эрибулин является одним из новых и перспективных препаратов-ингибиторов тубулина. Известно, что он замедляет рост микротрубочки и подавляет гидролиз тубулин-связанной молекулы гуанозинтрифосфата. Он связывается с теми концами микротрубочек, которые принято называть плюс-концами, причем всего одной связанной молекулы эрибулина достаточно для получения сильного эффекта на динамику микротрубочки [1]. Молекулярные принципы влияния на динамику микротрубочки такой низкой концентрацией эрибулина, как и низкими концентрациями других ингибиторов, непонятны.

Мы поставили перед собой цель теоретически описать возможный механизм воздействия малых концентраций эрибулина на сборку микротрубочек. Для этого мы разработали кинетическую модель динамики микротрубочки в присутствии эрибулина, в которой могли происходить пять видов событий: присоединение и отсоединение димеров тубулина, переключение свойств димеров в результате гидролиза гуанозинтрифосфата в составе тубулина, выпрямление и искривление димеров тубулина. Каждое событие характеризовалось определенной константой, все события удовлетворяли предложенной нами схеме, а их последовательность во времени описывалась с помощью метода Монте-Карло. Эрибулин моделировался как модификатор свойств тубулина в месте его связывания. Мы сопоставили поведение модели в присутствии и отсутствии эрибулина с опубликованными данными о динамике микротрубочек [1, 3] с целью провести калибровку её параметров. Нам удалось сформулировать ограничения на константы присоединения тубулина к концу микротрубочки и значения энергий взаимодействия димеров тубулина в составе микротрубочки. Используя откалиброванную модель, мы описали существующие эксперименты [1].

Результаты моделирования позволили теоретически обосновать возможность влияния всего одной молекулы ингибитора на динамику всей микротрубочки. Сравнивая в данном контексте нашу модель с предложенной в работе [2], нам удалось показать значимость искривления димеров тубулина в составе микротрубочки. Работа была поддержана грантом РФФ, проект № 17-74-20152.

Литература:

1. Doodhi et al. // Current Biology. 2016. V. 26 (13). P. 1713-1721.
2. VanBuren et al. // PNAS. 2002. V. 99 (9). P. 6035-6040.



3. Walker et al. // The Journal of Cell Biology. 1988. V. 107 (4). P. 1437-1448.

## КОМПАКТИЗАЦИЯ И АГРЕГАЦИЯ ПРОТИМОЗИНА АЛЬФА РАЗЛИЧНОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ В ОБЛАСТИ pH БЛИЗКИХ К ЕГО ИЗОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ ТОЧКЕ

**Антифеева Ю.А.<sup>1</sup>, Поварова О.И.<sup>1</sup>, Фонин А.В.<sup>1</sup>, Карасев М.М.<sup>2</sup>, Сулацкий М.И.<sup>1</sup>, Кузнецова И.М.<sup>1</sup>, Туроверов К.К.<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>University of Helsinki, Хельсинки, Финляндия; <sup>3</sup>ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

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

Протимозин альфа (ПроТа) – ядерный белок с молекулярной массой 12.6 кДа, имеющий при физиологических условиях практически полностью неупорядоченную структуру. Аминокислотная последовательность ПроТа обладает низкой степенью сложности. Белок содержит в своем составе 53 остатка отрицательно заряженных глутаминовой и аспарагиновой кислот и только 10 положительно заряженных аминокислот. При низких значениях pH вследствие компенсации электростатического отталкивания боковых групп глутаминовой и аспарагиновой кислот при их протонировании происходит коллапс полипептидной цепи и сворачивание белка с образованием структуры, характерной для предшественника расплавленной глобулы. Известно, что для некоторых полимеров коллапс полимерных цепей в условиях плохого растворителя связан с разделением раствора полимера на фазы при высокой концентрации полимера. Поэтому, нами были исследованы структурные переходы ПроТа, происходящие при изменении pH, в растворах с различной концентрацией белка. Показано, что при T = 4 °C и низких концентрациях ПроТа (0.1 мг/мл) раствор остается гомогенным в широком диапазоне значений pH вне зависимости от конформации белка. Увеличение концентрации ПроТа до 1.3 мг/мл при T = 4 °C и pH 3.0, способствует преципитации части молекул белка. Следует отметить, что при этом значении pH в разбавленных растворах структура ПроТа компактизуется. Полученные агрегаты имеют аморфную структуру и обладают слабой способностью связывать флуоресцентный зонд тиофлавин Т (ThT). Интенсивность флуоресценции ThT при встраивании в эти агрегаты возрастает в 8 раз, что на два порядка ниже увеличения флуоресценции этого красителя при его связывании с амилоидными фибриллами.

Инкубирование полученных агрегатов при 37 °C приводит к частичному растворению агрегированного белка, изменению размера и морфологии агрегатов и увеличению аффинности связывания агрегатов с ThT. Это проявляется в увеличении интенсивности флуоресценции ThT при взаимодействии с этими агрегатами ПроТа в 1.5 раза, и неполном восстановлении флуоресценции связанного с агрегатом ThT, при его фотообесцвечивании.

Показано, что для ПроТа существует взаимосвязь между коллапсом его полимерной цепи при низких значениях pH в разбавленных растворах и преципитацией белка с образованием плотной фазы в концентрированных растворах белка. Величина критической концентрации белка, при которой происходит такое фазовое превращение, зависит от температуры раствора. Установлено, что изменение температуры раствора также влияет на структуру агрегатов ПроТа.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 18-34-00975)*



## ОПТИЧЕСКОЕ КАРТИРОВАНИЕ ВОЛН ВОЗБУЖДЕНИЯ В СЕРДЕЧНОЙ ТКАНИ БЕЗ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КРАСИТЕЛЕЙ

**Балашов В.А.<sup>1,2</sup>, Горбунов В.С.<sup>1</sup>, Гурия К.Г.<sup>1</sup>, Агладзе К.И.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Московская область, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

[viktor.balashov@phystech.edu](mailto:viktor.balashov@phystech.edu)

Волны возбуждения в сердце человека координируют синхронные движения его отделов и их различных областей, необходимые для нормальной физиологической перекачки крови. Нарушения распространения волн возбуждения могут вызывать нарушения ритма сердца, фибрилляцию и внезапную сердечную смерть. Поэтому исследование особенностей распространения волн возбуждения в сердечной ткани имеет большое значение.

В настоящее время для визуализации распространения возбуждения в сердечной ткани чаще всего используются два типа методов: многоэлектродные матрицы (МЭМ) и флуоресцентное оптическое картирование. Методы оптического картирования могут быть более гибко настроены для различных экспериментальных условий и обеспечивают лучшее пространственное разрешение по сравнению с МЭМ. В то же время их главный недостаток – токсичность для тканей. В настоящей работе мы предлагаем новый метод, который позволяет исследовать распространение возбуждения в культуре сердечной ткани без использования красителей. Метод основан на оптическом мониторинге изгибов тонкой гибкой мембраны из полидиметилсилоксана (ПДМС), засеянной кардиомиоцитами.

Метод показал хорошее соответствие с методом флуоресцентного картирования, основанного на  $Ca^{2+}$ -зависимых красителях. Не оказывая токсического воздействия на клетки, данный метод может применяться для длительного непрерывного мониторинга волн возбуждения в культурах сердечной. Данное обстоятельство открывает возможность для применения метода в системах тестирования новых лекарственных препаратов, а также в работах по исследованию созревания и дифференцировки стволовых клеток.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант 16-34-60225\_мол\_а\_дк.*

## АНАЛИЗ СИНЕРГЕТИЧЕСКОГО УМЕНЬШЕНИЯ АКТИВНОСТИ АНТИБИОТИКА МИТОКСАНТРОНА В ПРИСУТСТВИИ ГИДРАТИРОВАННОГО ФУЛЛЕРЕНА C<sub>60</sub>

**Бучельников А.С., Сало В.А.**

ФГАУ ВО Севастопольский государственный университет, Севастополь, Россия

[asbuchelnikov@sevsu.ru](mailto:asbuchelnikov@sevsu.ru)

В работе [1] была выдвинута гипотеза о наличии принципиальной взаимосвязи между физико-химическими параметрами нековалентного взаимодействия ароматических биологически активных веществ (БАВ) и откликом биологической системы на воздействие смеси этих БАВ. Анализ этой взаимосвязи через расчет так называемого фактора  $A_D$  позволяет предсказывать реакцию биологической системы на введение смеси БАВ на основании знания равновесной константы ассоциации.

Последнее десятилетие отмечено активным изучением способности углеродных наночастиц, в частности, фуллеренов C<sub>60</sub>, и их производных к образованию



нековалентных комплексов с ароматическими БАВ, что может обуславливать их биологическую активность. Изучению биологической активности гидратированного фуллерена C<sub>60</sub> в смеси с антибиотиком митоксантроном на непролиферирующих клетках букального эпителия человека посвящено настоящее исследование.

Эксперимент состоял из двух этапов: биологического и физико-химического. На биологическом этапе эксперимента было зафиксировано восстановление нормального клеточного отклика (статистически значимое уменьшение количества гранул гетерохроматина (КГГ; маркер апоптоза)) по мере увеличения концентрации фуллерена C<sub>60</sub>. Анализ данных физико-химического эксперимента титрованием при помощи методов спектрофотометрии и диффузионно-упорядоченной <sup>1</sup>H ЯМР-спектроскопии позволил определить значение константы ассоциации молекул гидратированного фуллерена C<sub>60</sub> и митоксантрона, необходимое для расчета фактора A<sub>D</sub>.

Сопоставление теоретической концентрационной зависимости фактора A<sub>D</sub> с экспериментальной концентрационной зависимостью КГГ показало справедливость гипотезы, предложенной в работе [1]. Молекулы гидратированного фуллерена C<sub>60</sub> опосредованно влияют на клеточный апоптоз через нековалентное взаимодействие с митоксантроном, чем и проявляют свою биологическую активность. Гидратированный фуллерен C<sub>60</sub> является потенциальным регулятором внутриклеточной эффективной концентрации ароматических БАВ в режиме комбинированной химиотерапии.

*Работа выполнена в рамках гранта Президента РФ для государственной поддержки ведущих научных школ № НШ-5889.2018.3.*

Литература:

1. M.P. Evstigneev et al. Quantitation of the molecular mechanisms of biological synergism in a mixture of DNA-acting aromatic drugs // Biophys. Chem. 132, 2008. P. 148-158.

## IN SILICO ДИЗАЙН ИСКУССТВЕННЫХ РИБОПЕРЕКЛЮЧАТЕЛЕЙ

**Галченкова М.А.**

ФГБУ Национальный исследовательский центр Курчатовский институт, Москва,  
Россия

[galchenkova.mari@gmail.com](mailto:galchenkova.mari@gmail.com)

Одним из важнейших условий для жизнедеятельности микроорганизмов в меняющихся условиях окружающей среды является способность точного и своевременного контроля экспрессии их генов для обеспечения нормального роста и развития. Традиционно считалось, что функцию генетических регуляторов в клетке могут выполнять либо РНК-связывающие белки, либо другие типы РНК. В последнее время, появляется все больше данных, свидетельствующих о том, что молекулы РНК обладают широким спектром регуляторных функций в контроле клеточного метаболизма у бактерий: с молекулой мРНК может связываться другая молекула РНК и регулировать ее активность — транс-регуляция, но помимо этого сама молекула мРНК может регулировать свою функцию, что называется цис-регуляцией. В данной работе пойдет речь о цис-регуляции, в которой задействованы РНК, которые относятся к классу так называемых рибопереключателей, располагающихся в 5'-лидерных областях мРНК генов, экспрессию которых они модулируют.

Типичный рибопереключателъ включает два основных домена: аптамерный домен, осуществляющий распознавание специфического лиганда или target-РНК и связывание с ним, что приводит к изменениям конформации молекулы мРНК,- и платформу экспрессии, которая взаимодействует с белками транскрипции или трансляции.



Аптамерный домен и платформа экспрессии перекрываются в области так называемой переключающей последовательности, которая и отвечает за сворачивание РНК в две взаимоисключающие вторичные структуры, за счёт чего и осуществляется регуляция.

В данной работе будет обсуждаться алгоритм, который позволит путем вставки определенной рибопоследовательности из входной последовательности РНК, в которой закодирован целевой конечный метаболит, чей уровень в клетке необходимо контролировать путем связывания с target-РНК, переводя из состояния ON (когда будет происходить экспрессия гена) в выключенное состояние OFF, тем самым решая терапевтические задачи. Основная идея алгоритма заключается в использовании связей, возникающих в канонических парах нуклеотидов, в принципе минимума энергии системы-молекулы, а также применяется тот факт, что сила взаимодействия с target-РНК должна быть выше взаимодействия вставки с закрытой частью области входной РНК, в которой закодирован целевой метаболит. В дальнейшем предполагается расширение функционала до связывания переключателя с любым типом лиганда и для любого типа клеток.

## СЕРОТОНИН СТИМУЛИРУЕТ РОСТ РЕГЕНЕРАЦИОННОЙ БЛАСТЕМЫ У ПЛАНАРИЙ

**Гребенщиков Н.И.<sup>1</sup>, Гребенщикова Е.В.<sup>2</sup>, Карпов А.Н.<sup>2</sup>, Крещенко Н.Д.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Национальный исследовательский университет «Московский энергетический институт», Москва, Россия; <sup>2</sup>ФИЦ ПНЦ РАН, Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

[n.grebenschikov@rambler.ru](mailto:n.grebenschikov@rambler.ru)

Планарий *Schmidtea mediterranea* (Turbellaria, Platyhelminthes), размером 5-6 мм отбирали в опыт, тонким глазным скальпелем отсекали головной конец тела, и помещали в раствор серотонина гидрохлорида (Sigma). Подопытных животных содержали в группе (n=24) в 50 мл раствора серотонина (10-6М) или воды в затемненных условиях, при температуре 20±1°C в течение всего эксперимента. Опыт повторяли несколько раз.

Регенерирующих планарий подопытной и контрольной групп фотографировали через 48 ч и 72 ч после операции с помощью цифровой фотокамеры Scopetek DCM 130E (Микромед), соединенной с бинокулярным микроскопом МБС-10 (СССР) при увеличении объектива x2. Файлы изображений, размером 1280x1024 пкс и хранили в формате JPEG. Изображения анализировали с помощью программы AxioVision Rel 4.8 (Zeiss) для микроскопии. Измеряли площадь головной регенерационной бластемы, находили ее среднее значение и стандартное отклонение. С помощью программы GraphPad Prism проводили статистический анализ данных. Для сравнения двух групп использовали Т-критерий Стьюдента.

Результаты опытов показали, что серотонин в концентрации 10-6М стимулировал образование и рост головной регенерационной бластемы у планарий. Так, площадь бластемы через 48 ч после операции в подопытной группе составила 0.03321±0.007344 мм<sup>2</sup>, в то время как в контрольной – 0.02405±0.005538 мм<sup>2</sup>, различия были достоверными при p<0.0001 (\*\*\*). Через 72 ч после удаления головного конца тела положительный эффект серотонина сохранялся: средний размер регенерационной бластемы в подопытной группе был равен 0.05224±0.002466 мм<sup>2</sup>, а в контрольной – 0.04398±0.002299 мм<sup>2</sup>, p=0.0410 (\*). Таким образом, серотонин проявлял морфогенетическое действие в отношении процесса регенерации у планарий *S. mediterranea*.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №18-04-00349а.*





## АНАЛИЗ ВКЛАДА ГОМОЛОГИЧНОЙ РЕКОМБИНАЦИИ В РЕПАРАЦИЮ ДВУНИТЕВЫХ РАЗРЫВОВ ДНК В ФИБРОБЛАСТАХ ЧЕЛОВЕКА ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ В ДОЗАХ 0-1000 МГР

**Грехова А.К.<sup>1</sup>, Яшкина Е.И.<sup>2</sup>, Пустовалова М.В.<sup>2</sup>, Осипов А.Н.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимической физики им.Н.М.Эмануэля РАН, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУ ГНЦ Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна, Москва, Россия

*Annagrekhova1@gmail.com*

Ответ клеток на радиационно-индуцированные повреждения ДНК зависит от числа накопленных двунитевых разрывов, стадии клеточного цикла, на которой произошло повреждение, его сложности, эффективности работы систем репарации. В настоящее время известны два основных пути репарации двунитевых разрывов ДНК: негомологичное соединение концов и гомологичная рекомбинация. Негомомологичное соединение концов является основным путем репарации двунитевых разрывов ДНК в клетках человека и может осуществляться на любой стадии клеточного цикла. В свою очередь гомологичная рекомбинация является более медленным, но точным (с меньшей вероятностью возникновения мутаций) способом репарации двунитевых разрывов ДНК. Однако его протекание ограничено S и G2-фазами клеточного цикла, когда для восстановления поврежденной цепи ДНК в качестве матрицы в наличии имеется сестринская хроматида.

Цель данной работы состояла в изучении вклада гомологичной рекомбинации в репарацию двунитевых разрывов ДНК в фибробластах человека после воздействия на них рентгеновского излучения в дозах 0-1000 мГр. Для оценки эффективности и корректности работы систем репарации провели анализ изменений количества фокусов биологического маркера двунитевых разрывов ДНК -  $\gamma$ H2AX совместно с фокусами ключевого белка гомологичной рекомбинации - Rad51. По экспериментальным данным были построены экспоненциальные кривые, аппроксимирующие эти значения, и методом наименьших квадратов подобрано характерное время жизни фокусов  $\gamma$ H2AX и Rad51. Для расчета вклада гомологичной рекомбинации в репарацию двунитевых разрывов ДНК использовали отношение площадей под кривыми изменения количества фокусов Rad51 и  $\gamma$ H2AX, рассчитанные методом трапеций, деленное на отношение характерных времен жизни фокусов Rad51 и  $\gamma$ H2AX. Установлено, что наибольший вклад гомологичная рекомбинация вносит в восстановление двунитевых разрывов ДНК необлученных фибробластов (~22%). После облучения клеток в дозах малого диапазона (20–80 мГр) относительный вклад гомологичной рекомбинации снижается с 22 до 16%. Увеличение дозы облучения клеток до средних значений приводит к дальнейшему снижению вклада гомологичной рекомбинации в репарацию двунитевых разрывов ДНК. Так, после облучения фибробластов в дозе 1000 мГр вклад гомологичной рекомбинации составил 9%.

Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что после облучения в малых дозах двунитевые разрывы ДНК в фибробластах кожи человека репарируются более корректно, чем после воздействия радиации в средних дозах.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (РФФИ) в рамках научного проекта №18-34-00003.



## ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ В МАЛЫХ ДОЗАХ НА ПАРАМЕТРЫ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

**Гринберг М.А.<sup>1</sup>, Громова Е.Н.<sup>1</sup>, Гудков С.В.<sup>1,2,3</sup>, Воденев В.А.<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 общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва, Россия; <sup>3</sup>ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия

*mag1355@yandex.ru*

В естественной среде обитания растения, в том числе произрастающие в условиях повышенного радиационного фона, постоянно подвергаются действию различных стрессовых факторов. Известно, что хроническое низкоинтенсивное ионизирующее излучение вызывает ряд перестроек не только в физиологических и биохимических процессах растения, но и в функционировании сигнальных систем различного уровня. Одним из значимых дистанционных стрессовых сигналов, возникающих в ответ на краткосрочные раздражители высокой интенсивности, является переменный потенциал (ВП), представляющий собой самоподдерживающийся комбинированный сигнал из волн АФК,  $Ca^{2+}$  и изменения электрического потенциала. Предполагается, что за счёт изменения редокс-статуса клеток и проницаемости мембраны для отдельных ионов хроническое ИИ способно модифицировать параметры ВП и вызываемых им функциональных ответов.

Исследования проводились на проростках пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L.). В качестве источника ИИ использовался <sup>90</sup>Sr с активностью 0,1 МБк, мощность дозы источника составляла примерно 31,3 мкЗв/час. Общее время облучения растений 15 дней. Максимальная накопленная доза 11,3 мГр. ВП индуцировался нагревом кончика листа в кювете с водой. Параметры ВП регистрировались посредством стеклянных макроэлектродов. Измерение величины мембранного потенциала производилось при помощи микроэлектродной техники. Активность фотосинтеза измерялась при помощи инфракрасного газоанализатора и РАМ-флуориметра.

У облучённых растений достоверно возрастает амплитуда и скорость распространения электрического сигнала. Показано также, что амплитуда фотосинтетических ответов на ВП (временное подавление ассимиляции и  $Y(II)$ , а также возрастание NPQ) после облучения также возрастает. Возможными причинами обнаруженных изменений параметров ВП может являться увеличение активности  $H^+$ -АТФазы, на что указывает большая величина мембранного потенциала у облучённых растений, а также изменение баланса АФК.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 19-04-01141\_A).*



ИССЛЕДОВАНИЯ ФОРМИРОВАНИЯ ПОСТРАДИАЦИОННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ  
МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК И ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, ПОДДЕРЖИВАЮЩИХ  
МИТОХОНДРИИ В РАЗНЫХ УЧАСТКАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС,  
ОБЛУЧЕННЫХ ПРОТОНАМИ 150 МЭВ

**Губина Н.Е., Евдокимовский Э.В., Абдуллаев С.А.**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино,  
Россия

*saabdullaev@gmail.com*

Достигнутые в последнее время успехи в области радиобиологии показывают, что митохондриальная ДНК (мтДНК) является важной мишенью для ионизирующего облучения. Помимо непосредственного повреждения структуры мтДНК, вызванного действием ионизирующего излучения, в клетках могут происходить изменения и на эпигенетическом уровне, даже спустя значительный срок с момента воздействия ионизирующего излучения. Такие изменения могут иметь важные последствия для нормального функционирования клеток.

Мы исследовали изменение уровня метилирования мтДНК, а также изменения в экспрессии митохондриальных и ядерных генов, контролирующих функции митохондрий в гиппокампе, коре и мозжечке крыс, облученных протонами в дозе 3 и 5 Гр ( $E=150$  МэВ) на установке фазотрон медико-технического комплекса Лаборатории ядерных проблем ОИЯИ, Дубна. Для исследования были выбраны митохондриальные гены ND2, CytB, ATP6, кодирующие субъединицы I и III комплекса дыхательной цепи митохондрий, а также субъединицу митохондриальной АТФ-синтазы. Также для исследования были выбраны ядерные гены, считающиеся критически важными для полноценного функционирования митохондрий: TFAM (митохондриальный транскрипционный фактор), PGC-1 $\alpha$  (коактиватор биогенеза митохондрий), Fis1 (белок-регулятор слияния митохондрий), Mfn1 (белок-регулятор деления митохондрий). Результаты, полученные нами с помощью метода ПЦР в реальном времени, показали, что во всех трёх исследованных тканях, происходит снижение экспрессии митохондриальных генов через 6 и 24 часа после облучения протонами, независимо от дозы облучения. При этом снижения количества транскриптов ядерных генов в исследованных тканях не происходит. Это может говорить о нарушении целостности мтДНК, являющейся основной мишенью для воздействия ионизирующего излучения.

Для того, чтобы изучить отдалённые последствия воздействия тяжелых заряженных частиц на функционирование мтДНК, нами исследовался уровень метилирования мтДНК во всех трёх тканях головного мозга крыс после облучения их протонами в дозе 3 Гр, а также рентгеновским облучением в дозе 5 Гр. Нами обнаружено, что в мозжечке не происходит значимых изменений в уровне метилирования мтДНК по сравнению с контролем, как при облучении протонами, так и рентгеновским излучением. В коре головного мозга, а также в гиппокампе, происходит снижение уровня метилирования мтДНК на 30% через 4 и 8 недель после облучения, независимо от типа ионизирующего излучения. Полученные нами результаты могут представлять интерес при изучении отдалённых последствий влияния ионизирующего излучения на эпигенетические факторы регуляции митохондриального генома, в частности при изучении последствий лучевой терапии при облучении онкобольных.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 17-29-01007 офу\_м.*



## ИССЛЕДОВАНИЕ СВЯЗЫВАНИЯ ЛИПОСОМ С ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРАМИ ИЗ ТЕТРА(АРИЛ)ТЕТРАЦИАНОПОРФИРАЗИНОВОЙ ГРУППЫ

**Дьякова Д.В.<sup>1</sup>, Сухова В.А.<sup>1</sup>, Лермонтова С.А.<sup>1,2</sup>, Клапшина Л.Г.<sup>1,2</sup>, Юдинцев А.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>ФГБУН Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН, Нижний Новгород, Россия

[daryadyakova@mail.ru](mailto:daryadyakova@mail.ru)

В последние годы наблюдается значительный прогресс в лечении онкологических заболеваний. Среди современных терапевтических методов особый интерес представляет фотодинамическая терапия (ФДТ). Этот метод основан на селективном накоплении фотосенсибилизатора (ФС) в опухолевой ткани, который под воздействием света генерирует цитотоксические агенты, вызывающие гибель опухолевых клеток. ФС из группы тетра(арил)тетрацианопорфиразинов являются перспективными красителями для ФДТ и имеют уникальные свойства, такие как высокая фотодинамическая активность, низкая темновая токсичность, высокий квантовый выход. Однако, данные ФС при системном введении могут накапливаться не только в опухоли, но и в нормальных тканях, что существенно ограничивает их использование в ФДТ. Одним из наиболее эффективных способов решения данной проблемы является применение систем для направленной доставки – липосом.

Цель данной работы заключалась в исследовании ассоциации фотосенсибилизаторов Pz1 и Pz2 из группы тетра(арил)тетрацианопорфиразинов с однослойными липосомами, сформированными из яичного фосфатидилхолина. Исследуемые красители представляют собой порфиразиновые макроциклы с бензилоксифенильными и фторфенильными группами по периферии, соответственно.

Исследование ассоциации ФС с липидным бислоем показало, что связывание красителей с липосомами зависит от химической структуры соединений. Обнаружено, что фторфенильный ФС в 3 раза эффективнее связывается с мембранами везикул по сравнению с бензилоксифенильным ФС. Возможно, это связано с тем, что молекулы Pz2 способны проникать более глубоко внутрь липидного бислоя, в то время как молекулы Pz1, вероятно, локализуются на поверхности липосом.

С помощью метода динамического рассеяния света показано, что загрузка ФС в липосомы не оказывает влияния на их размер. Гидродинамический диаметр липосом до загрузки ФС составил  $92 \pm 15$  нм. При загрузке Pz1 и Pz2 размер везикул менялся незначительно (в пределах 7%). При этом индекс полидисперсности пустых и загруженных ФС липосом принимал значения, соответствующие умеренно полидисперсным образцам (0,10-0,18).

Полученные данные свидетельствуют о том, что данные ФС эффективно связываются с липидной мембраной липосом и существенным образом не влияют на размер везикул, что дает предпосылки для дальнейших исследований в данной области.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации проект № 6.7083.2017 / 9.10 и №14.Z50.31.0022.



## ИЗУЧЕНИЕ КОМПЛЕКСОВ ПЕРОКСИРЕДОКСИНА 6 С ТИОЛАМИ В УСЛОВИЯХ IN SILICO И IN VITRO

**Захарова Е.В.<sup>1,2</sup>, Кондратьев М.С.<sup>1</sup>, Гончаров Р.Г.<sup>1</sup>, Шарапов М.Г.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН ФИЦ Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*zakharovaekaterina.97@yandex.ru*

Пероксиредоксин 6 (Prx6) является небольшим (28кДа) антиоксидантным ферментом. В связи с высоким потенциалом применения Prx6 в медицине, мы предположили, что различные тиоловые соединения (такие как каптоприл, унитиол, цистамин, сукцимер и цистеинсодержащие пептиды) могут быть использованы в качестве потенциальных восстановителей. Мы изучили взаимодействия пероксиредоксина 6 и тиолсодержащих соединений в компьютерном и реальном экспериментах.

Результаты расчёта гибкого докинга в пакете AutoDock Vina позволили предположить, что эффективным восстановителем Prx6 может являться каптоприл, т.к. его полная энергия связывания была наибольшей (-4,7 ккал/моль с учётом воды), с характерным (типичным) сайтом связывания вблизи каталитического центра. Для унитиола и цистамина мы наблюдали аналогичную картину связывания с энергиями -3,4 и -3 ккал/моль соответственно. Сукцимер проявлял наибольшее сродство к атипичному сайту связывания, находящемуся на удалении от кармана активного центра. Для коротких пептидов (5 а.к.) показаны наиболее высокие значения энергии связывания вблизи типичного сайта, однако ввиду стерических препятствий, они не смогут выступить в качестве восстановителей без конформационных перестроек кармана активного центра Prx6.

Для проведения экспериментов *in vitro* нами были отобраны используемые в современной медицине соединения - каптоприл и унитиол. Проведена оценка влияния данных молекул на активность Prx6, в качестве контроля был использован восстановитель дитиотреитол (ДТТ). Инкубация каптоприла и унитиола с Prx6 проводилась в течении 30 мин, с последующим диализом и полным удалением несвязавшихся молекул. Затем определялась остаточная активность Prx6 в присутствии ДТТ. Каптоприл показал незначительное ингибирование активности Prx6, в то время как унитиол оказывал существенное влияние – наблюдалось снижение активности Prx6 более чем в 5 раз, по сравнению с контролем. Мы предполагаем, что такое различие в действии каптоприла и унитиола может быть объяснено особенностью их структуры и различными значениями восстановительного потенциала, что в конечном счёте влияет на константы связывания с каталитическим центром Prx6.

*Работа поддержана грантом РФФИ 19-04-00080-а.*



## МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТИПА ВОЗБУДИМОСТИ НЕЙРОНА ПО СТАТИСТИКЕ ЕГО СПАЙКОВОГО ОТКЛИКА НА ИНЖЕКТИРУЕМЫЙ ИМПУЛЬС ТОКА

**Земскова Т.С.<sup>1</sup>, Параскевов А.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия; <sup>2</sup>Национальный исследовательский центр "Курчатовский институт", Москва, Россия

*zemsanova.ts@phystech.edu*

В 1948 году Алан Ходжкин, в результате классических экспериментов по стимуляции изолированного аксона постоянным током, предложил классифицировать спайковую возбудимость аксона на три следующих типа/класса. 1-й тип: средняя частота генерации спайков, как функция постоянного стимулирующего тока, может быть сколь угодно малой. 2-й тип: средняя частота генерации спайков, как функция стимулирующего тока, скачком принимает ненулевое минимальное значение. 3-й тип: аксон не способен периодически генерировать спайки, безотносительно к силе стимулирующего тока.

В дальнейшем эта классификация без изменений была перенесена на весь нейрон и в настоящее время общепринята. Однако возникает естественный вопрос - есть ли физиологический смысл в классификации Ходжкина с учетом того, что *in vivo* нейрон всегда стимулируется импульсами тока? В данной работе мы показываем, что ответ на этот вопрос - да, есть. В частности, зависимость минимальной амплитуды от характерной длительности импульса входящего тока (т.н. «кривая реобазы» или *strength-duration curve*), при котором нейрон откликается спайком, позволяет придать физиологический смысл 1-му и 2-му типам возбудимости.

Мы провели численные эксперименты, исследовав спайковый отклик модельного нейрона при его стимуляции одним импульсом тока в зависимости от формы импульса, с двумя наиболее ходовыми биофизическими моделями спайкового нейрона – моделью Моррис-Лекара и моделью Ходжкина-Хаксли. Обе модели, в зависимости от своих параметров, могут демонстрировать как 1-й, так и 2-й тип возбудимости. Для каждой формы стимулирующего импульса была построена кривая реобазы и показано, что, при условии непрерывности восходящей части импульса, наличие локального минимума на кривой реобазы для обеих моделей характерно исключительно для 2-го типа возбудимости [1]. Это позволяет предложить использование кривой реобазы в качестве альтернативного маркера типа возбудимости реального нейрона. Такой маркер никак не связан со стимуляцией нейрона постоянным током, поэтому способствует осмыслению биологической значимости типов возбудимости нейрона. В частности, он показывает, что нейроны 2-го типа возбудимости могут избирательно реагировать на сравнительно слабые единичные импульсные стимулы, в то время как нейроны 1-го типа возбудимости на это принципиально не способны.

Литература:

1. Paraskevov, The rheobase curves of a single impulse of conductance for the Hodgkin-Huxley model of different excitability classes, Bernstein Conference 2015 (DOI: 10.12751/nncn.bc2015.0078).



## КОМПЛЕКСЫ НАНОКЛАСТЕРОВ МЕТАЛЛОВ С БЕЛКОМ БЫЧЬЕГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА: СИНТЕЗ, ОПТИЧЕСКИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

**Ивлева Е.А.<sup>1</sup>, Павлова Е.Р.<sup>1</sup>, Образцова Е.А.<sup>1,2</sup>, Кононихин А.С.<sup>3</sup>, Клинов Д.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального Медико-биологического Агентства, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Филиал института биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пушкино, Россия; <sup>3</sup>ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля, Москва, Россия

*ivleva@phystech.edu*

Металлические нанокластеры (НК) представляют собой новый класс флуорофоров, обладающих уникальными оптическими, электрическими и магнитными свойствами. НК состоят из нескольких десятков или сотен атомов и имеют диаметр менее 2 нм. Вследствие малого размера свободные электроны в такой системе пространственно ограничены и имеют дискретные уровни энергии. Электронные переходы между энергетическими уровнями приводят к флуоресценции комплекса. Таким образом, НК могут быть использованы в качестве биосенсоров и флуоресцентных маркеров для биовизуализации.

В данной работе с помощью «зеленого» синтеза были синтезированы флуоресцентные НК золота и кадмия, конъюгированных белком бычьего сывороточного альбумина (БСА). Стабилизация белком защищает НК от агрегации в металлические наночастицы, сохраняя их флуоресцентные свойства. Золотые и кадмиевые НК флуоресцируют в красной (испускание на 650 нм) и зеленой (испускание на 500 нм) областях спектра соответственно. При этом возбуждение флуоресценции для обоих типов кластеров происходит в широком диапазоне. При возбуждении комплексов на 280 нм (максимум возбуждения триптофана) флуоресценция НК также наблюдалась, что может указывать на механизм ферстеровского резонансного переноса энергии между белком и металлическим НК.

С помощью спектроскопии кругового дихроизма было показано, что в процессе синтеза белок частично денатурирует, что вызвано жесткими щелочными условиями синтеза. Методом сканирующей микроскопии был определен средний размер НК, который составил 0.7–0.8 нм для золотых и 0.9–1.1 нм для кадмиевых НК. Масс спектр исходного белка и комплекса белок-НК показал сдвиг пика, соответствующий 16 атомам золота, в то время как масс спектр кадмиевых НК показал широкое распределение по размерам, соответствующий от 30 до 40 атомов кадмия на молекулу белка. Методом элементного анализа было показано, что процентное содержание атомов золота и кадмия в белке составляют 0.29 и 0.84%, что соответствует 15 и 45 атомам золота и кадмия.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант №17-75-30064).*



## ОПТИМАЛЬНЫЕ ОБЛАСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ СИЛИКАТЕИНА-А И МОЛЕКУЛЫ ОРТОКРЕМНИЕВОЙ КИСЛОТЫ

**Изотова Е.Д., Акберова Н.И.**

ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань, Россия

*izotova.e.d@gmail.com*

Ключевым ферментом в процессе биосилификации для классов Demospongiae и Hexactinellida является группа ферментов – силикатеины. Преобладающей подфракцией является силикатеин- $\alpha$ . Силикатеины выполняют две большие роли, осуществляя ферментативный процесс конденсации молекул кремниевых кислот, а так же выступая в качестве структурной основы депонирования кремниевых кислот и построения аксиального филамента спикул губок [1]. На основе данных сайт направленного мутагенеза, авторы предполагают, что олигомеризация, возможно, идет за счет взаимодействия гидрофобных остатков на поверхности белка и за счет изменения пространственной структуры фермента [2].

В работе изучалась энергия и области взаимодействия поверхности фермента силикатеина- $\alpha$  с молекулами ортокремниевой кислоты. В качестве структуры фермента использовалась  $\alpha$ -субъединица модели из PDB (2VHS). Структура фермента, была реконструирована на основе первичной аминокислотной последовательности, а так же по степени гомологии. Для предсказания пространственной структуры были отобраны 10 перспективных моделей, построенных в пакете Robetta и 10 моделей, построенных в системе QUARK, после оценки качества выбрали лучшую модель, координаты которой использовали при моделировании. Модель ортокремниевой кислоты была предварительно оптимизирована с помощью пакета GAMESS-US в базисе 6-31G(d)//6-311++G(2d,p) с использованием модели поляризованного континуума.

Области оптимальные для взаимодействия молекулы ортокремниевой кислоты и силикатеина- $\alpha$  определялись методом молекулярного докинга субстрата относительно фермента, используя сервисы сервисов BSP-SLIM и ROSIE.

В результате энергетически возможно лишь 15 ориентаций субстрата относительно фермента, 5 из которых располагаются в полости каталитической триады, а остальные образуют отдельный кластер, локализованный с противоположной стороны фермента, во внутренней полости структуры. Вблизи  $\alpha$ -спирали, образованной из 17 аминокислотных остатков, включающей как гидрофильные, так и гидрофобные радикалы.

Литература:

1.Rahman, A. *Frontiers in Stem Cell and Regenerative Medicine Research/ A. Rahman, S. Anjum//Bentham eBooks mprint.- 2017.- Vol. 5.- pp. 130-178.*

2.Povarova, N.V. *Efcient silica synthesis from tetra(glycerol) orthosilicate with cathepsin- and silicatein-like proteins / N.V. Povarova, N. A. Barinov, M. S. Baranov, N. M. Markina, A. M. V., G. E. Pozmogova, D. V. Klinov, V. B. Kozhemyako, K. A. Lukyanov//Scientific Reports.- 2018.- Vol. 8.- No 16759.- pp. 1-9.*





## КЛЕТОЧНО-АВТОМАТНАЯ МОДЕЛЬ ПРОЦЕССА МАЛИГНИЗАЦИИ КЛЕТКИ

**Калмыков В.Л.<sup>1</sup>, Калмыков Л.В.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН ФИЦ Институт биофизики клетки РАН; <sup>2</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН

*lev.kalmykov@gmail.com*

Разработана клеточно-автоматная модель малигнизации различных типов клеток под влиянием постоянно действующего повреждающего фактора. Такая модель дает общий взгляд на происхождение рака и позволяет более интегрировано разрабатывать меры по профилактике и лечению раковых заболеваний. Определено, что центральным фактором, позволяющего логически связать воедино все процессы малигнизации от начальных стадий пролиферации до злокачественного перерождения является средний потенциал клеточной мембраны (потенциал покоя). Изменения потенциала покоя позволяет соединять в виде единой оси всю совокупность функциональных состояний, последовательно сменяющих друг друга при малигнизации. Эта последовательность представляет собой универсальный ряд состояний клетки.

Происходят все эти изменения на фоне постоянно действующего альтерирующего фактора, ухудшающего состояние, энергетику и метаболизм клетки. Важным является то, что клетка в ответ на повреждающий фактор вначале активируется, затем переходит в состояние напряжения и последующего перенапряжения, которое постепенно истощает ей ресурсы. Истощение ресурсов приводит к постепенному угнетению метаболизма, падению трансмембранного потенциала, упрощению структуры клетки и ее частичной дедифференцировке. Постепенно включаются позитивные сигналы пролиферации и выключаются негативные сигналы, подавляющие пролиферацию, подавляются механизмы апоптоза, нарушается нормальный процесс межклеточного связывания, активируется экспрессия стресс-белков и онкогенов. Параллельно идет угнетение метаболизма и энергетики клетки, блокируется нормальный метаболизм фосфолипидов мембран. Это приводит к накоплению лизофосфолипидов, прямо деполаризующих клеточную мембрану, десенситизирующих рецепторы клетки, вызывающих приобретение ею амeboидных свойств и способствующих инфильтрации измененных клеток в соседние ткани. Постепенно нарастающее угнетение метаболизма и энергетики блокируется механизмы репарации ДНК, нарушает механизмы митоза вплоть до его перехода в амитоз. В результате накопления перечисленных метаболических и генетических перестроек под постоянным действием повреждающего воздействия клетка постепенно малигнизируется.

Подтверждено, что меры по увеличению потенциала покоя клетки (усредненного потенциала ее мембраны) способны не только затормозить и обратить пролиферацию, но и уменьшить инвазивность раковых клеток. Сделан вывод, что меры поддержания нормального потенциала покоя клеток являются перспективным путем не только профилактического предупреждения малигнизации, но и терапии раковых заболеваний.



## СТАДИИ РАЗВОРАЧИВАНИЯ МУТАНТНЫХ ФОРМ КАРБОКСИАНГИДРАЗЫ Б С ВВЕДЕННЫМИ ДИСУЛЬФИДНЫМИ СВЯЗЯМИ: АНАЛИЗ ПО ВРЕМЕНАМ ЖИЗНИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ

**Карузина Н.Е.<sup>1</sup>, Суковатый Л.А.<sup>1</sup>, Мельник Б.С.<sup>2</sup>, Немцева Е.В.<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup>ВГАОУ ВО Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт белка РАН, Россия, Пущино; <sup>3</sup>ФГБУН ФИЦ Институт биофизики СО РАН, г. Красноярск

*karuzina1994@gmail.com*

Работа направлена на развитие экспериментальных методов определения стадийности сворачивания/разворачивания белков. Цель исследования – оценка влияния введенных дисульфидных связей на путь разворачивания карбоксиангидразы Б с помощью метода время-разрешенной спектроскопии.

Стадии денатурации карбоксиангидразы Б анализировали по временам жизни триптофановой флуоресценции. Объектами исследования являлись белок карбоксиангидраза Б дикого типа и мутантные формы с введенным дисульфидным мостиком A53C/A76C, A154C/S181C и D188C/K211C, полученные в группе спектроскопии белка Института белка РАН (г. Пущино). Белки инкубировали в растворах мочевины (0–8,5 М) в течение не менее 20 часов при комнатной температуре, после чего проводились измерения оптических характеристик. Для регистрации флуоресценции белков при стационарном и импульсном возбуждении использовали спектрофлуориметр Fluorolog 3–22 (Horiba Jobin Yvon, США). Измерения проводили в диапазоне 305–419 нм. Спады флуоресценции описывали как сумму экспоненциальных компонент, определяя таким образом времена жизни флуоресценции белка.

Для каждого белка были получены три времени жизни триптофановой флуоресценции:  $\tau_1 = 4,9\text{--}5,5$  нс,  $\tau_2 = 1\text{--}2$  нс,  $\tau_3 < 0,3$  нс. Проанализированы кривые перехода, построенные по  $\tau_1$  и  $\tau_2$ . Найденные по временам жизни середины переходов для дикого типа находятся в хорошем соответствии с кинетическими данными, согласно которым разворачивание карбоксиангидразы Б проходит через образование двух промежуточных состояний. Установлено, что переходы мутантных форм белка происходят при более высоких концентрациях мочевины, чем дикого типа, что подтверждает стабилизирующую роль дисульфидных мостиков. Кроме того, в отличие от дикого типа у белков A154C/S181C и A53C/A76C оба времени жизни флуоресценции отражают один и тот же переход. Это говорит о том, что введенная мутация возможно изменила стадийность разворачивания белка.

Пространственная структура мутантных форм в нативном состоянии была промоделирована методом молекулярной динамики. Было проанализировано микроокружение триптофановых остатков и получено, что в сравнении с диким типом в белке D188C/K211C наблюдается сдвиг иона цинка от Trp207 к Trp243, а для мутантной формы A53C/A76C – более плотная упаковка белка вокруг Trp207 и Trp243. Полученные результаты объясняют различия в спектральных характеристиках изученных белков.



## ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ МУТАЦИИ T330V НА СТРУКТУРУ ВТОРОГО ВНЕКЛЕТОЧНОГО ДОМЕНА (EMD4) НАТРИЙ-ЗАВИСИМОГО ФОСФАТНОГО ТРАНСПОРТЕРА NaPi2b

**Козлова А. С., Акберова Н. И., Киямова Р. Г., Богданов М. В.**  
ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт  
фундаментальной медицины и биологии, Казань, Россия

*kozlovaas.93@gmail.com*

Натрий зависимый фосфатный транспортер 2b (NaPi2b) – мембранный белок, который участвует в переносе фосфатов через мембрану клеток и играет важную роль в поддержании фосфатного гомеостаза в организме человека. Транспортер NaPi2b экспрессируется в ряде нормальных и опухолевых тканей и является мишенью для терапевтических антител Rebmaб 200, созданных на основе антител МХ35, распознающих эпитоп пределах 312-338 аа. Известно, что мутация T330V в четвертом экстрамембранном домене NaPi2b (EMD4 - extramembrane domaine 4) (234-362 аа) препятствует распознаванию NaPi2b с антителами. Для изучения влияния мутации T330V EMD4 была предсказана структура EMD4 и методом молекулярной динамики проведено сравнение динамики EMD4 и EMD4 с мутацией замены треонина на валин в позиции 330 (T330V).

Для определения границ EMD4 NaPi2b использовали базу данных Uniprot и программу CSTOP. Для предсказания трехмерной структуры EMD4 использовали подход de novo с помощью программы Robetta. Качество полученных моделей оценивали с помощью программы Qmeap. К границам EMD4 были добавлены аминокислоты PRO 233 и ALA 363, расположенные в прилежащих к EMD4 трансмембранных доменах, для имитации связи EMD4 с соседними трансмембранными регионами.

Были подготовлены 2 системы EMD4 без модификаций и EMD4 с мутацией T330V. Молекулярная динамика обеих систем проводилась в явном растворителе, ионы NaCl добавляли в концентрации 0,15М и нейтральном рН. Размер водной коробки составлял 80\*80\*80 А, использовали силовые поля CHARMM36. Динамику проводили в программе NAMD\_CHARMMRUN. Каждая система предварительно была стабилизирована в течение 130 нс, после чего проводили симуляцию равновесной молекулярной динамики длиной 300 нс. Общее время симуляции составило 860 нс.

Было показано, что мутация T330V меняет вторичную структуру EMD4: происходит расплетание альфа-спирали в регионе 288-310 аа. Было выявлено увеличение площади поверхности, доступной для растворителя (SASA), как в районе эпитопа (311-340аа), так и всего EMD4 при наличии T330V, анализ главных компонент и флуктуации аминокислот (RMSF) также показал разницу в подвижности EMD4. Таким образом, проведенный конформационный анализ траекторий молекулярной динамики трехмерных структур EMD4 NaPi2b демонстрирует что мутация T330V влияет на структуру и подвижность EMD4.

Расчеты производились на вычислительном кластере КФУ.

*Работа выполнена при финансовой поддержке программы повышения конкурентоспособности КФУ.*



## ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ АДЕНОЗИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ В МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА

**Кочкина Е.Н., Черкашин А.П., Котова П.Д.**

ФГБУН ФИЦ Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

*kate-kochkina@yandex.ru*

Мезенхимные стромальные клетки (МСК) представляют собой недифференцированные мультипотентные клетки, которые способны дифференцироваться в клетки как минимум костной, хрящевой и жировой тканей. В настоящей работе исследовалась функциональная экспрессия аденозиновых рецепторов в МСК. МСК выделяли из жировой ткани человека, поддерживали в культуре и изучали с использованием микрофотометрии и  $\text{Ca}^{2+}$  зондов.

Ранее нами было показано, что популяция МСК содержит субпопуляцию клеток, отвечающих на аденозин мобилизацией внутриклеточного  $\text{Ca}^{2+}$ , доля таких клеток в среднем составляла 10%. Также нами было показано, что все МСК, полученные от 8 доноров, содержали транскрипты  $A_1$ -,  $A_{2A}$ - и  $A_{2B}$ - аденозиновых рецепторов, тогда как  $A_3$ -рецептор не был выявлен ни в одном из образцов.

Однако вопрос о том, какие именно аденозиновые рецепторы ответственны за генерацию  $\text{Ca}^{2+}$ -ответов на аденозин оставался открытым. Мы провели ряд физиологических экспериментов, в которых использовали специфические агонисты и антагонисты аденозиновых рецепторов. Некоторые аденозинергические МСК ( $n=16$ ) генерировали  $\text{Ca}^{2+}$ -ответы на специфический агонист  $A_1$ -рецепторов (2'-MeCCPA, 2 мкМ). Другие ( $n=12$ ) – отвечали на агонист  $A_{2A}$ -рецепторов (CGS 21680, 20 мкМ), при этом ответы таких клеток на аденозин полностью блокировались в присутствии антагониста этих рецепторов (SCH58261, 1 мкМ). Еще одна группа клеток ( $n=9$ ) генерировала ответы на агонист  $A_{2B}$ -рецепторов (BAУ 60-6583, 20 мкМ), тогда как их антагонист (PSB1115, 30 мкМ) полностью подавлял ответы этих клеток на аденозин. Агонист же  $A_3$ -рецепторов (HEMADO) в различных концентрациях не вызывал  $\text{Ca}^{2+}$ -ответов, а их антагонист (MRS3777) никогда не влиял на способность МСК отвечать на аденозин ( $n=8$ ), что согласуется с результатами ОТ-ПЦР, свидетельствующими об отсутствии этого рецептора в популяции МСК.

Таким образом, нами показано, что все экспрессирующиеся в МСК аденозиновые рецепторы ( $A_1$ ,  $A_{2A}$ , и  $A_{2B}$ ) функционально активны, и их активация приводит к генерации МСК  $\text{Ca}^{2+}$ -ответа.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 18-34-00365 мол\_а.*



ОЦЕНКА ПОПУЛЯЦИОННОЙ СТРУКТУРЫ, А ТАКЖЕ РЕЗИСТОМОВ ШТАММОВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*, ПРОДУЦЕНТОВ КАРБАПЕНЕМАЗЫ NDM-ТИПА, ЦИРКУЛИРОВАВШИХ В СТАЦИОНАРАХ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА В ПЕРИОД С 2012 ПО 2016 ГГ.

**Лихолетова Д.В.<sup>1</sup>, Лукашина Н.Б.<sup>2</sup>, Капанина А.С.<sup>3</sup>, Бакин Е.А.<sup>4</sup>, Станевич О.В.<sup>5</sup>, Лазарева И.В.<sup>6</sup>, Сидоренко С.С.<sup>6</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия; <sup>3</sup>ООО «JetBrains», Санкт-Петербург, Россия; <sup>4</sup>Институт биоинформатики, Санкт-Петербург, Россия; <sup>5</sup>ФГБОУ ВО Первый Санкт-Петербургский медицинский университет имени академика И.П.Павлова, Санкт-Петербург, Россия; <sup>6</sup>ФГБУ Детский научно-клинический центр инфекционных заболеваний, Санкт-Петербург, Россия

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

В настоящее время *Klebsiella pneumoniae* является наиболее значимым нозокомиальным патогеном, с которым связано подавляющее большинство вспышек внутрибольничных инфекций в реанимационных отделениях стационаров Санкт-Петербурга. Основной проблемой, связанной с *K. pneumoniae*, является множественная устойчивость бактерии к большинству групп антибиотиков. Карбапенемы зачастую остаются одними из немногих вариантов лечения тяжелых инфекций, и резистентность к ним у *K. pneumoniae* может быть опосредована целым рядом карбапенемаз. В Санкт-Петербурге подавляющее большинство *K.pneumoniae*, продуцентов карбапенемаз, относятся к NDM-типу (Агеевец В.А., 2015). Известны клональные комплексы (clonal complex, CC) и сиквенс-типы (sequence type, ST), с которыми связано глобальное распространение продуцентов карбапенемаз в мировой популяции *K. pneumoniae*.

Целью нашего исследования было определение популяционной структуры штаммов *K. pneumoniae*, циркулирующих в стационарах Санкт-Петербурга и анализ их резистомов. В ходе работы была проведена сборка и биоинформатический анализ полногеномных сиквенсов 22 штаммов *K. pneumoniae*, продуцентов карбапенемаз NDM-1, собранных в период с 2012 по 2016 гг. Оценка принадлежности к определенным STs и CC, и анализ резистомов был проведен с помощью программного средства *Kleborate* (<https://github.com/katholt/Kleborate>).

Установлено, что исследованные штаммы принадлежали к распространенным европейским и азиатским STs: ST147, ST11, ST340 и ST395. В ходе анализа резистомов было обнаружено, что все изоляты (n=22) продуцируют ген карбапенемазы NDM-1, а также ряд других генов устойчивости к бета-лактамам антибиотикам: OXA-1 (n=11), OXA-48 (n=1), OXA-9 (n=4); к фторхинолонам - ген ParC-80I (n=22); к сульфаниламидам - ген *sull* (n=5); к диаминпирамидам - DfrA1(n=4), DfrA5 (n=11), DfrA12 (n=6), DfrA14(n=1), и к ряду других групп антибиотиков.

Таким образом, в период с 2012 по 2016 гг. в стационарах Санкт-Петербурга в популяции *K.pneumoniae*, продуцентов карбапенемазы NDM-типа, циркулировало ограниченное количество STs. Большинство из них принадлежало к глобально распространенному CC258. Кроме стационаров Санкт-Петербурга, ST395 встречается во многих других городах РФ (данные <https://pubmlst.org/>). Было установлено, что все проанализированные штаммы продуцируют карбапенемазу NDM-1. Кроме того, один изолят является ко-продуцентом NDM-1 и OXA-48-типа карбапенемаз. Наличие генов, связанных с резистентностью к ряду групп антибиотиков, объясняет



мультирезистентность штаммов, а также определяет группы предположительно неэффективных антибиотиков.

СЕРОТОНИН И НЕЙРОПЕПТИД FMRFАМИД В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ  
TETRAONCHUS MONENTERON (MONOGENEA, PLATYHELMINTHES):  
ИММУНОЦИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

**Нефёдова Д.А.<sup>1</sup>, Мочалова Н.В.<sup>1</sup>, Крещенко Н.Д.<sup>2</sup>, Кучин А.В.<sup>2</sup>, Теренина Н.Б.<sup>1</sup>**  
<sup>1</sup>ФГБУН Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва,  
Россия; <sup>2</sup>Институт биофизики клетки ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ РАН

*Nefedova9593@gmail.com*

Развитие иммуноцитохимических и гистохимических методов дало возможность исследовать наличие и распределение в нервной системе паразитических плоских червей ряда нейрональных сигнальных веществ, холинергических, серотонинергических, пептидергических. Предполагается их важная роль в регуляции различных функций паразита, включая мышечную активность. В то же время менее изученными в этом отношении до сих пор являются представители подкласса моногений.

Задачей нашей работы явилось исследование с помощью иммуноцитохимического метода и конфокальной сканирующей лазерной микроскопии локализации классических нейромедиаторов – серотонина и нейропептида FMRFамида в нервной системе моногении *Tetraonchus monenteron* - жаберного паразита щуки *Esox lucius*. Наряду с нервной системой фаллоидин-флуоресцентным методом изучалась мышечная система паразита.

Полученные данные показали наличие хорошо выраженных кольцевых, продольных и диагональных мышечных волокон в стенке тела моногении. Обильно снабжена мышечными элементами околоротовая воронка, идущая от ротового отверстия, а также некоторые отделы репродуктивных протоков. Серотонин-иммунореактивные нервные клетки и волокна выявлены в головных ганглиях, в связывающей их центральной комиссуре, в продольных нервных стволах, в нескольких клетках, расположенных по ходу нервных стволов, а также в нервных отростках, идущих от ганглиев в передний отдел тела паразита. Отмечено наличие серотонинергических нервных клеток вблизи протоков репродуктивной системы. Позитивное FMRFамид–иммунореактивное окрашивание наблюдалось в центральных отделах нервной системы (область головных ганглиев, центральная комиссура, вентральные нервные стволы), а также в нервных волокнах, направляющихся к протокам репродуктивной системы.

Полученные данные дополняют и расширяют имеющиеся данные о нервной системе и нейрональных сигнальных веществах у представителей моногений и предполагают важную роль серотонинергических и пептидергических (FMRFамидергических) компонентов нервной системы в жизнедеятельности исследованного паразита.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-04-00349а..*



## БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЦВЕТОМЕТРИЯ – НОВЫЙ НЕИНВАЗИВНЫЙ МЕТОД РЕГИСТРАЦИИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

**Нефедова С.Е.<sup>1,2</sup>, Чешаева А.О.<sup>3</sup>, Тирас Х. П.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Пущинский государственный естественно-научный институт; <sup>3</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

*Nefedova-S.E.lady@yandex.ru*

Различные физиологические процессы, протекающие *in vivo*, приводят к изменению макроморфологических показателей биологических объектов, в том числе - цвета поверхности тела. Цветометрия – это наука о способах измерения цвета и его количественном выражении. Компьютерная цветометрия дает возможность объективно оценить цвет биообъекта как характеристику отраженных электромагнитных волн. Она позволяет получить количественное выражение цвета, выявить его динамику во времени для последующего статистического анализа и сохранения в базах данных. До настоящего времени цветометрия практически не использовалась в биологических исследованиях.

Целью исследования является разработка методики регистрации процессов морфогенеза при пищеварении (фагоцитоза) и регенерации плоских червей планарий *Girardia tigrina* через динамику их макроморфологических показателей: размерных характеристик и цветовых показателей поверхности тела планарий *in vivo*.

В ходе исследования была разработана методика неинвазивного биофизического контроля процессов морфогенеза планарий - фагоцитоза и регенерации - с применением системы приемов цифровой морфометрии и биологической цветометрии в сочетании с регистрацией сверхслабой фотонной эмиссии (ССФЭ).

Морфологические и цветовые характеристики поверхности тела планарий регистрировали в стандартных условиях в ходе анализа изображения, созданного с помощью микроскопа Stemi 2000 («Zeiss»), оборудованного видеокамерой AxioCam MRc с матрицей 1.2 Мп. Это изображение сохраняли из потокового видео с помощью пакета программ AxioVision Rel.4.8. Размерные показатели (площадь и длину) оцифрованных изображений планарий определяли с помощью программы Plana 5.0, а цветовые характеристики - в программе Adobe Photoshop CS.

Для регистрации цветовых параметров были использованы цифровые электронные цветовые модели HSB, RGB, Lab, дающие наиболее полную и всестороннюю характеристику цвета поверхности тела планарий через показатели его тона, насыщенности и яркости.

Комплекс неинвазивных методов, включающий измерения размеров и цвета поверхности планарий в сочетании с регистрацией сверхслабой фотонной эмиссии был апробирован в ходе регистрации морфогенеза при пищеварении и регенерации планарий. Применение данного подхода позволило выявить особенности динамики протекания физиологических процессов в различных условиях через изменение морфометрических (размерных и цветовых) характеристик тела планарий.



## ТОЧЕЧНЫЙ МУТАГЕНЕЗ ПРОМОТОРА БАКТЕРИОФАГА SP6: ИЗМЕНЕНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ДНК И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ СИЛА ПРОМОТОРА

**Орлов М.А., Сорокин А.А.**

ФИЦ ПНЦ ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия

*orlovmikhailanat@gmail.com*

Промоторная функция определяется рядом характеристик промоторных областей ДНК: как более популярных текстовых характеристик (позиционные весовые матрицы и т.д.), так и ряда физико-химических детерминант. Такие свойства ДНК сложным образом зависят от последовательности ДНК и требуют рассмотрения широкого генетического контекста. Именно они напрямую определяют ДНК-белковые взаимодействия различного типа. В настоящее время накоплен большой объем данных о связи первичной структуры участка ДНК и величиной промоторной силы. Например, для бактериофага SP6 получены все возможные мутации консенсусной последовательности промотора (22 пары оснований), которые были клонированы в плазмиду. Для каждой мутации количественно выявлена сила промотора [Shin et al., 1999].

В данной работе с помощью вычислительных методов получены профили склонности к изгибанию [Brukner et al., 1995] и электростатического потенциала [Polozov et al., 1999] мутированных промоторов SP6. При этом рассмотрены протяженные области ДНК (200 пар оснований). В случае профилей склонности к изгибанию отмечено, что влияние точечных мутаций распространяется не более чем на 5-7 пар оснований, причем только в downstream-направлении. По-видимому, это связано с особенностями работы алгоритма. Минимумы профиля исходного консенсусного промотора в положении -10 и 0, а также его максимумы в -2 и +4 претерпевает сильные изменения. Такие изменения могут иметь как противоположное, так и совпадающее направление. Примечательно, что некоторые мутации в downstream области промотора вызывают сильное углубления минимума за пределами консенсуса в +10, который при этом становится новым глобальным минимумом. Нуклеотид, на который заменяется исходный, также важен. Замена 3A > 3T сопровождается инверсией значительного минимума в положении -10 с его сдвигом при пятикратном снижении силы промотора. Замена 3A > 3G не меняет силу промотора при выпадении этого минимума. В случае профилей электростатического потенциала внесение однонуклеотидных замен может оказывать влияние на расстоянии до 50 пар оснований. Долина в области -15 и пик в -10 также могут быть усилены или удалены мутациями. Примечательны более отдаленные эффекты мутаций: в downstream-области они способны сильно изменить наклон профиля и пик в -35, в upstream-области - вызвать возникновения значительных долин или пиков и их инверсию на расстоянии до 40 пар оснований от места мутации.

Таким образом, исследована связь однонуклеотидных замен промоторной последовательности фага SP6 с его физико-химическими свойствами и изменением экспериментальной силы промотора.





## МЕТОД ОПТИЧЕСКОЙ ДИФфуЗИОННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ ДЛЯ IN VIVO ОЦЕНКИ СОДЕРЖАНИЯ ГЕМОГЛОБИНА И УРОВНЯ ОКСИГЕНАЦИИ ОПУХОЛЕЙ

**Павлова К.Г.<sup>1</sup>, Шилягина Н.Ю.<sup>1</sup>, Воловецкий А.Б.<sup>1</sup>, Клешнин М.С.<sup>2</sup>, Орлова А.Г.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия; <sup>2</sup>ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики РАН, Нижний Новгород, Россия

*780pavlova@gmail.com*

Сосудистая сеть опухолей, в отличие от нормальной сосудистой сети, характеризуется неоднородностью, вялостью тока, наличием петель и артериоло-венозных шунтов. Такие особенности сосудов новообразования обуславливают невозможность полноценного снабжения быстро растущей опухолевой ткани кислородом и формирование гипоксии. Наличие зон гипоксии снижает эффективность лечения злокачественных новообразований, в том числе лучевой терапии, и способствует прогрессии опухоли. Метод оптической диффузионной спектроскопии (ОДС) позволяет неинвазивно и без использования контрастирующих веществ исследовать опухоль и диагностировать гипоксию тканей. Суть метода заключается в определении концентраций биологических хромофоров, таких как дезокси- (ННб), оксигемоглобин (НвО<sub>2</sub>), вода, липиды на основе характеристик излучения, прошедшего через исследуемую ткань. По соотношению концентраций ННб и НвО<sub>2</sub> косвенно оценивают уровень оксигенации ткани. Целью работы было исследование изменений содержания гемоглобина и уровня оксигенации экспериментальных опухолей в различные сроки их роста методом ОДС.

В данном исследовании были использованы 10 мышей линии balb/c-nude с экспериментальной опухолью SKBR-3 (аденокарцинома молочной железы человека). Эксперимент начинали через 14 дней с момента введения опухолевых клеток. Спектры снимались каждые 2-3 дня в течение 16 дней. Регистрация проводилась установкой для спектроскопии обратного рассеяния с оптическим зондом, включающим в себя четыре оптических волокна диаметром 200 мкм, расположенными на расстоянии 1,5 мм друг от друга. В качестве источника использована галогеновая лампа LS-1-LL (Ocean Optics Inc, США). Спектр излучения регистрируется спектрометром QE65000 (Ocean Optics Inc, США). Расчет сатурации крови производился в два этапа: восстанавливали спектры коэффициента поглощения и транспортного коэффициента рассеяния, далее в восстановленном спектре коэффициента поглощения определяются парциальные вклады коэффициентов поглощения основных биологических хромофоров.

В ходе работы показано медленное снижение оксигенации тканей в процессе роста опухоли с 14 по 30 день после введения опухолевых клеток. Статистически значимые изменения были выявлены только на 30 день эксперимента. Снижение сатурации объясняется снижением концентрации оксигемоглобина в опухоли. При этом кровенаполнение опухоли (суммарное содержание ННб и НвО<sub>2</sub>) не изменялось.



## ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРНОЙ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РОЛИ АМИНОКИСЛОТНЫХ ОСТАТКОВ «ЧЕРНОГО» И «СЕРОГО» КЛАСТЕРОВ В БЕЛКЕ S100P

**Пермякова М.Е., Вологжанникова А.А., Пермяков С.Е., Казаков А.С., Денесюк  
А.И., Денесюк К.А., Уверский В.Н., Пермяков Е.А.**

ФИЦ ПНЦ РАН, Институт биологического приборостроения РАН, Пущино, Россия

*permyakova-masha@rambler.ru*

Белок S100P относится к семейству кальцийсвязывающих белков S100 суперсемейства «EF-руки». Повышенная экспрессия S100P обнаруживается в различных линиях раковых клеток (молочная железа, поджелудочная железа, легкие и яичники).

Анализ структур кальцийсвязывающих белков суперсемейства «EF-руки» позволил нам обнаружить два высоко консервативных структурных мотива, расположенных на противоположных концах центрального  $\beta$ -листового линкера, каждый из которых представляет собой кластер из трех аминокислотных остатков. Кластер I («черный») состоит преимущественно из ароматических аминокислотных остатков, взаимодействующих друг с другом за счет слабых водородных связей. Кластер II («серый») более вариабельный и включает смесь ароматических, гидрофобных, полярных аминокислот и, предположительно, определяет способность белка к кальций-индуцируемым перестройкам в структуре белка. В белке S100P «черный» и «серый» кластеры состоят из аминокислотных остатков F15, F71, F74 и L33, L58, K30, соответственно. Чтобы оценить влияние данных кластеров на структуру и функциональные свойства белка S100P, мы последовательно заменяли эти аминокислотные остатки на остаток аланина.

Физические свойства полученных мутантов были изучены с помощью спектральных, теплофизических и биохимических методов. Сродство к  $\text{Ca}^{2+}$  у этих мутантов оценивали методом собственной флуоресценции. Этот анализ показал, что точечные замены на аланин в кластерах I и II вызывали сопоставимые изменения вторичной структуры S100P. Тем не менее, анализ устойчивости S100P и его кластерных мутантов к тепловой денатурации и к денатурации гуанидингидрохлоридом показал, что замены на аланин в кластере I вызывают более выраженное снижение стабильности белка по сравнению с изменениями, вызванными заменами в кластере II. Это позволяет заключить, что кластер I S100P более важен для конформационной стабильности белка, чем кластер II. Спектрофлуориметрическое титрование белка S100P дикого типа ионами кальция показало, что димерная форма S100P имеет 1-2 сильных центра связывания кальция ( $K_1 = 3,5 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ ) и два кооперативных центра связывания с низким сродством к кальцию ( $K_2 = 3,8 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ). Кластерные мутанты также имеют два сайта связывания к кальцию с высоким и низким сродством. Применение алгоритма PONDR<sup>®</sup> VLXT, PONDR<sup>®</sup> VL3, PONDR<sup>®</sup> VSL2, PONDR<sup>®</sup> FIT для оценки вероятностей нахождения отдельных аминокислотных остатков в неупорядоченном участке белка показало, что, мутации в «черном» кластере вызывают более заметные изменения вероятности нахождения в неупорядоченной области по сравнению с мутациями в «сером» кластере.



## ИЗМЕНЕНИЕ КОНФОРМАЦИИ ЖИРНЫХ КИСЛОТ И УРОВНЯ ПОЛ ПРИ ТРАВМЕ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА ПРИ ДЕЙСТВИИ РЕСВЕРАТРОЛА

**Пиняев С.И., Пронин А.С., Аверкина Е.В., Степушкина О.Г., Кузьменко Т.П.**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва, Саранск, Россия

*proninbio@gmail.com*

Ресвератрол – биологически активное вещество, относится к группе полифенолов стильбенового ряда, обладающее многочисленными положительными эффектами, такими как нормализация клеточного обмена, регуляция жирового обмена в печени, противоаллергическое, противовоспалительное, противораковое.

В данной работе с помощью спектроскопии комбинационного рассеяния установлено, что ресвератрол влияет на конформацию жирных кислот миелинового нервного волокна (МНВ), на уровень ПОЛ и суммарной пероксидазной активности в нерве при его повреждении. В ходе эксперимента моделировалась травма нерва путем наложения лигатуры, с последующим введением ресвератрола. В концентрациях  $1 \cdot 10^{-3}$  и  $1 \cdot 10^{-5}$  моль/л установлено, что исследуемые показатели дозозависимо стабилизируются, хотя и отличаются от контрольных значений.

Предполагается, что обнаруженные эффекты ресвератрола многокомпонентны, и определяются, с одной стороны, его полифенольной природой, способностью связывать и нейтрализовать свободные радикалы, уменьшая концентрацию пероксида водорода, гидроксильных и супероксид анион-радикалов, снижая интенсивность процессов перекисного окисления липидов, усиливая действие антиоксидантных ферментов, с другой стороны стабилизирующий эффект ресвератрола может быть опосредован инактивацией мембраносвязанных ферментов, таких как, фосфолипаза А2 и протеинкиназа С. Вполне возможно, что ингибирование данных ферментов при действии ресвератрола сопровождается изменением внутримолекулярного порядка липидов. Не исключено прямое стереохимическое влияние ресвератрола на упорядоченность жирнокислотных цепей в фосфолипидах мембраны, и на снижение количества «кинков» в объеме липидного бислоя.

Таким образом, действие ресвератрола в различных концентрациях оказывает влияние на конформацию жирных кислот миелинового нервного волокна и уровень протекания процессов ПОЛ.

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ И АНАЛИЗ ХОТСПОТОВ В ГЕНАХ KRAS ПРИ КОЛОРЕКТАЛЬНОМ РАКЕ

**Резапова В.А.<sup>1</sup>, Серебрянский И.Г.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань, Россия; <sup>2</sup>Fox Chase Cancer Center, Филадельфия, США

*rezapova.valeriy@mail.ru*

Рак толстой кишки на сегодняшний день остается одной из основных проблем здравоохранения во всем мире. В Российской Федерации ежегодно данный диагноз ставится 57000 человек. Согласно прогнозам, число вновь заболевших к 2035 г. составит примерно 1,36 млн мужчин и 1,08 млн женщин. Больные с КРР нуждаются в определении статуса мутаций гена KRAS для выбора дальнейшей стратегии химиотерапевтического лечения, так как мутации влияют на ответ на химио- и таргетную терапию. Соматические



мутации в генах KRAS, PIK3CA и BRAF обуславливают нечувствительность клеток колоректального рака к терапии анти EGFR моноклональными антителами. Таким образом, обнаружение активирующих мутаций в генах KRAS, BRAF и PIK3CA важно для прогноза КРР и эффективности его терапии в современной клинической онкологии. Обнаружение критических мутаций гена рака в клинических образцах опухоли может предсказать исход пациента и определить стратегии лечения. В связи с этим целью работы являлась выработка четкого технологического процесса идентификации неслучайных мутаций и новых, до этого не обнаруженных, хотспотов в генах KRAS, предположительно определяющих предрасположенность к колоректальному раку.

В ходе работы были обработаны данные с открытых источников protein data bank и protein.bio.unipd.it/ring/ по 5 структурам KRAS, функционально связанных с колоректальным раком, с набором мутаций из Foundation Medicine. Биоинформатический анализ проводился как по одной, так и по двум цепям KRAS, с учетом и без учета линейных хотспотов, которые были получены так же обработкой данных из Foundation Medicine, для оценки статистической значимости. В результате были обнаружены новые трехмерные хотспоты, сохраняющие статистическую значимость и не описанные на 3Dhotspots.org.

В результате работы были проанализированы структуры KRAS и обнаружены новые хотспоты, которые в будущем могут стать терапевтическими мишенями при лечении колоректального рака.

## ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ БЕНЗИЛПЕНИЦИЛЛИНА НАТРИЕВОЙ СОЛИ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ ВЫСОКОЙ НАПРЯЖЕННОСТИ

**Роденко Н.А., Беляева И.А., Васильева Т.И.**

ФГАОУ ВО Самарский национальный исследовательский университет им. акад.  
С.П. Королева, Самара, Россия

*t.rodenko@mail.ru*

Зафиксировано усиление антибактериального воздействия бензилпенициллина натриевой соли, облученной импульсным электромагнитным полем (ИМП) при определенных его параметрах: напряженности  $H$ , частоте  $f$ , количестве импульсов  $n$ .

Бензилпеницилина натриевая соль относится к бетта-лактамам антибиотикам, их объединяет наличие в структуре бетта-лактамного кольца. На сегодняшний день бетта-лактамы антибиотиков обладают высокой клинической эффективностью, низкой токсичностью и составляют основу антимикробной химиотерапии. Активность антибиотиков определяется их сродством к пенициллинсвязывающим белкам. Чем ниже сродство взаимодействующих молекул, тем более высокие концентрации антибиотика требуются для подавления функции фермента.

Цель исследования – изучение влияния ИМП высокой напряжённости на антибактериальную активность бензилпенициллина натриевой соли.

Методика проведения экспериментов. Воздействие ИМП на бензилпенициллина натриевую соль производилось в стандартном флаконе. Был собран экспериментальный стенд, включающий все составляющие магнитно-импульсного воздействия на бензилпенициллина натриевую соль.

Последовательность процесса подготовки и проведения экспериментов:

1. Воздействие ИМП на порошок или раствор антибиотика.
2. Разведение антибиотика до нужной концентрации, распределение по поверхности чашки Петри по 0,1 мл инокулянта *Escherihia coli*.



3. Размещение дисков на поверхности чашки и нанесение на них 10 мкл раствора антибиотика.

4. Размещение чашек Петри в термостат при температуре 30С в течение 18 часов.

5. Замер «диаметров зон лизиса» производили следующими образом, чашки помещали кверху дном на темную поверхность так, чтобы свет падал на них под углом в 45°. Диаметр зон задержки роста измеряли с помощью штангенциркуля с точностью до 1 мм.

Анализ полученных результатов.

- Показано достоверное увеличение диаметров зон подавления роста *E. coli* по сравнению с контролем при воздействии на порошок бензилпенициллина ИМП с напряженностями от  $0,09 \cdot 10^6$  А/м до  $1,23 \cdot 10^6$  А/м при количестве импульсов 1 с одновитковым индуктором.

- Получено достоверное снижение диаметров зон подавления роста *E. Coli* по сравнению с контролем при воздействии на раствор бензилпенициллина. ИМП с напряженностями  $0,20 \cdot 10^6$  А/м,  $0,65 \cdot 10^6$  А/м  $1,02 \cdot 10^6$  А/м при количестве импульсов 1 и  $7,65 \cdot 10^6$  А/м,  $13,38 \cdot 10^6$  А/м,  $17,2 \cdot 10^6$  А/м при количестве импульсов 3 с одновитковым ч (частота  $f = 40$ кГц), многовитковым индуктором ( $f = 10$  кГц).

- При увеличении времени хранения облученного порошка бензилпенициллина натриевой соли до 1 суток возрастание антибактериальной активности сохраняется только в условиях его облучения ИМП с напряженностями  $0,50 \cdot 10^6$  А/м и  $0,82 \cdot 10^6$  А/м при количестве импульсов 1 с одновитковым индуктором, при воздействии ИМП с напряженностями  $0,09 \cdot 10^6$  А/м и  $0,50 \cdot 10^6$  А/м диаметры зон подавления роста *E.coli* не отличались от контроля.

- Выдвинута гипотеза повышения антибактериальной активности бензилпенициллина натриевой соли под воздействием ИМП, связанная с изменением конформации молекулы пенициллина.

## КУМАРИН С-334 КАК СУБСТРАТ ЛИПОПЕРОКСИДАЗНОЙ РЕАКЦИИ, КАТАЛИЗИРУЕМОЙ КОМПЛЕКСОМ ЦИТОХРОМА С С КАРДИОЛИПИНОМ

**Ромодин Л.А.<sup>1,2</sup>, Владимиров Ю.А.<sup>2</sup>, Лысенко Н.П.<sup>1</sup>, Зарудная Е.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени им. К.И. Скрябина; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*rla2904@mail.ru*

Российскими и зарубежными учёными установлено, что ключевую роль при запуске апоптоза по митохондриальному пути играет комплекс цитохрома *c* с кардиолипином (ЦитС-КЛ) за счёт липопероксидазной активности, приводящей к разрушению мембран митохондрий и выходу цитохрома *c* в цитозоль с последующим запуском каскада апоптотических реакций [1,2]. Свойства ЦитС-КЛ изучаются методом активированной хемилюминесценции (ХЛ). При проведении фундаментальных исследований ЦитС-КЛ необходимо использовать физический активатор ХЛ, усиливающий ХЛ за счёт перехвата электронно-возбуждённых состояний участников и продуктов реакции, а не химический, вступающий в реакции с компонентами реакционной смеси; до наших исследований кумарины считались физическими активаторами ХЛ [3].

Однако нами путём регистрации серии спектров поглощения реакционной смеси: 10 мкМ ЦитС, 300 мкМ 1,1',2,2'- тетраолеилкардиолипин, 25 мкМ кумарин С-334, 215 мкМ



H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в 20 мМ водном растворе КН<sub>2</sub>РО<sub>4</sub> (рН 7,4), – по более чем 4-кратному уменьшению значения оптической плотности в пике поглощения С-334 (460 нм [4]) было показано, что С-334 является субстратом липопероксидазной реакции, катализируемой ЦитС-КЛ.

Таким образом, нами был сделан вывод о том, что в контексте изучения свойств ЦитС-КЛ считать кумарин С-334 физическим активатором ХЛ некорректно, так он проявляет свойства классического химического активатора. Это делает необходимым в дальнейших исследованиях ЦитС-КЛ либо искать по-настоящему физический активатор ХЛ, либо корректировать поправочными коэффициентами результаты ХЛ-измерений при использовании кумарина С-334.

Литература:

1. Владимиров Ю.А., Проскурнина Е.В., Алексеев А.В. Молекулярные механизмы апоптоза. Структура комплекса цитохрома *c* с кардиолипином. Обзор // Биохимия / 78, 10, 2013. С.: 1391 - 1404.
2. Mandal A., Hoop C.L. end etc. Structural Changes and Proapoptotic Peroxidase Activity of CardiolipinBound Mitochondrial Cytochrome *c* // Biophys J. / 109, 9, 2015, p.: 1873-1884.
3. Vladimirov Y.A., Sharov V.S., Driomina E.S., Reznitchenko A.V., Gashev S.B. Coumarin derivatives enhance the chemiluminescence accompanying lipid peroxidation // Free Radic Biol Med / 18, 4, 1995. p.: 739-745.
4. Ромодин Л.А., Владимиров Ю.А., Лысенко Н.П., Зарудная Е.Н. Принципиальная возможность использования метанольных растворов кумаринов С-314, С-334 и С-525 при изучении свойств комплекса цитохрома *c* с кардиолипином // Известия Международной академии аграрного образования. - 2018. - №42, том 1, с.: 102-106.

## ИССЛЕДОВАНИЕ КОНЬЮГАТОВ АНТИСТОКСОВЫХ НАНОФОСФОРОВ В КАЧЕСТВЕ АГЕНТОВ ДЛЯ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

**Сенча Л.М.<sup>1</sup>, Гурьев Е.Л.<sup>1</sup>, Костюк А.Б.<sup>1</sup>, Шилягина Н.Ю.<sup>1</sup>, Звягин А.В.<sup>1,2</sup>, Балалаева И.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород, Россия; <sup>2</sup>Университет Маккуори, Сидней, Австралия

*luda-sencha@mail.ru*

Оптическая диагностика играет важную роль в биомедицинских исследованиях, направленных на выявление и визуализацию онкологических заболеваний. Использование контрастирующих материалов с фотолюминесценцией в так называемом терапевтическом окне прозрачности биотканей обеспечивает наиболее глубокое проникновение зондирующего излучения. В качестве нового поколения многообещающих наноматериалов, работающих в этой области спектра, выступают антистоксовые нанофосфоры, имеющие уникальные оптические свойства.

Целью работы являлось исследование конъюгатов люминесцентных нанофосфоров с направляющим белковым модулем DARPIn, специфичным к рецептору-онкомаркеру HER2, (НАФ-DARPIn) в качестве агентов для визуализации злокачественных новообразований.

Работа выполнена на иммунодефицитных мышях с подкожно привитой ксенографтной опухолью человека – аденокарциномой молочной железы с



гиперэкспрессией рецептора HER2. Для исследования возможности селективной визуализации экспериментальных опухолей с использованием НАФ-DARPin конъюгаты вводились однократно внутривенно в хвостовую вену в трех различных дозах. Затем через различные промежутки времени получали флуоресцентные изображения лабораторных животных с помощью оптической томографической системы для визуализации биологических тканей. Помимо этого, было проведено исследование фармакокинетики и биораспределения НАФ-DARPin в органах и тканях животных. Для этого здоровым мышам конъюгаты вводились внутривенно в хвостовую вену однократно в трех различных дозах, а также трехкратно для исследования возможности накопления НАФ-DARPin в организме. Через различные промежутки времени у животных забиралась проба крови для анализа содержания НАФ-DARPin. Часть животных выводилась из эксперимента для анализа содержания конъюгатов в органах.

Показано, что достигаемое значение контраста флуоресцентного сигнала между опухолевыми и нормальными тканями после введения НАФ-DARPin позволяет визуализировать опухоль. Результаты исследования фармакокинетики и биораспределения конъюгатов показали, что выведение НАФ-DARPin из организма животных происходило по экспоненциальному закону. Полное выведение конъюгатов из крови животных происходило в течение суток, наибольшее содержание НАФ-DARPin наблюдалось в печени и селезенке. Многократное введение приводило к накоплению НАФ-DARPin в печени животных, сходная тенденция наблюдалась в селезенке.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки (проект RFMEFI58418X0033) и Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 17-00-00119).*

## РОЛЬ АТФ В РЕГУЛЯЦИИ И РАСПРЕДЕЛЕНИИ ГЕМОГЛОБИНА В ЭРИТРОЦИТЕ

**Слатинская О.В., Максимов Г.В.**

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

*slatolya@mail.ru*

В настоящее время, одной из задач биофизики является исследование роли структурных изменений цитоплазмы («краудинг») в регуляции объема и гемодинамики эритроцитов в сосудах, а также, изучение механизмов упорядоченности гемоглобина (Гб) в эритроците. Известно, что в примембранной области (связь с белком полосы 3) существует определенный порядок в распределении Гб. Однако, упорядоченность Гб в цитоплазме изучена недостаточно. Известно, что изменение содержания пуриnergических соединений (АТФ) в крови контролирует кислород-транспортную функцию эритроцитов. Данный механизм обусловлен активацией специфических ионных каналов, локализованных на плазматической мембране эритроцита. Фосфатазы и трансфорилазы плазмы крови регулируют уровень экстраклеточного АТФ, а также эктоАТФазами и эктонуклеотидазами, на поверхности эритроцитов. Известно, что при активации пуриnergических P2X7-рецепторов эритроцита происходит изменение конформации гемоглобина эритроцита и доли комплексов Гб с оксидом азота (тип I). Так, кратковременная активация пуриnergических P2X7-рецепторов эритроцита приводит к увеличению концентрации внутриклеточного  $Ca_{2+}$  и, как следствие, деполяризации мембраны клетки. Продолжительная активация P2X7-рецепторов приводит к



экстернализации фосфатидилсерина в плазматической мембране и образованию активных форм кислорода.

Целью нашей работы было исследование изменения распределения и конформации Гб при активации P2X7-рецепторов в цельной крови. Для этого с помощью спектроскопии комбинационного рассеяния, атомно-силовой микроскопии и триптофановой флуоресценции исследовали динамику изменения таких молекулярно-клеточных параметров эритроцита, как конформация гемоглобина, амплитуда рельефа поверхности и мгновенные спектры флуоресценции триптофана Гб и комплексов Fura2 + Ca<sup>2+</sup> в цельной крови в присутствии экстраклеточного АТФ.

В итоге, было установлено, что при увеличении концентрации АТФ в крови наблюдается увеличение плотности упаковки гемоглобина в эритроците и конформации гемопорфирина Гб: к 5-й минуте увеличивается плотность упаковки гемоглобина и содержание Ca<sup>2+</sup> в эритроците, но снижается вклад цитоскелета в рельеф поверхности эритроцита, к 10-й минуте, наблюдается изменение конформации гемопорфирина Гб, приводящая к увеличению доли комплексов Гб с O<sub>2</sub> и к снижению способности Гб связывать лиганды, к 15-й минуте выявлено обратимое изменение конформации пирролов гемопорфирина Гб, приводящее к увеличению доли комплексов Гб с NO.

## СОЗДАНИЕ ТЕРАНОСТИЧЕСКИХ НАНОКОМПЛЕКСОВ НА ОСНОВЕ АНТИСТОКСОВЫХ НАНОФОСФОРОВ И БИФУНКЦИОНАЛЬНЫХ БЕЛКОВ

**Смышляева А. С.<sup>1</sup>, Гурьев Е. Л.<sup>1</sup>, Костюк А. Б.<sup>1</sup>, Воденев В. А.<sup>1</sup>, Деев С. М.<sup>1,2</sup>, Звягин А. В.<sup>1,3</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 имени М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия; <sup>3</sup>Университет Маккуори, Сидней, Австралия

*smysh.anita@gmail.com*

Тераностика как интенсивно развивающееся направление требует поиска всё новых материалов и методов для ранней диагностики и терапии онкологических заболеваний. Перспективную нишу в данной области заняли наночастицы за счёт программируемости их свойств и возможности создания на их платформе мультифункциональных комплексов. На сегодняшний день наиболее активно используются биогбридные наноструктуры на основе фотолюминесцентных наночастиц и бифункциональных белков, реализующих таргетный и терапевтический потенциал.

Целью данной работы являлось создание тераностических наноконплексов (ТН) на основе антистоксовых нанофосфоров (НАФ) и адресно-терапевтических модулей белковой природы. Обладая уникальными фотолюминесцентными свойствами, НАФ представляют собой эффективный агент для оптического биоимиджинга. В работе были использованы НАФ состава NaYF<sub>4</sub>, легированные элементами трёхвалентных лантаноидов - иттербием (Yb<sup>3+</sup>) и туллием (Tm<sup>3+</sup>), с наибольшей интенсивностью фотолюминесценции в ИК-области, которая позволяет осуществлять высокочувствительную регистрацию в слое биоткани. Исследование фотофизических свойств и гидродинамического диаметра НАФ проводилось методами динамического светорассеяния и оптическими методами регистрации фотолюминесценции. Функция адресности и терапевтический эффект реализовывались за счёт присоединения к НАФ рекомбинантного белка DARPIn-LoPE, состоящего из адресного и токсического модулей. Данный бифункциональный белок способен «узнавать» рецептор HER2 с высокой





аффинностью, а также проявлять высокую токсичность в отношении HER2-гиперэкспрессирующих клеток рака молочной железы как *in vitro*, так и *in vivo*. Присоединение DARPin-LoPE осуществляли методом химического перекрёстного связывания. Оценку эффективности связывания ТН с поверхностью клеток и анализ их токсических свойств проводили на клетках аденокарциномы молочной железы линии SK-BR-3 (гиперэкспрессирующих HER2) и клетках яичника китайского хомячка CHO (HER2 - негативные клетки). Показано, что полученные ТН селективно связываются с рецептором HER2 и с высокой эффективностью вызывают гибель HER2-гиперэкспрессирующих клеток рака молочной железы в культуре путем индукции апоптоза.

Таким образом, в данной работе были получены и охарактеризованы ТН на основе НАФ и белкового иммунотоксина DARPin-LoPE. Предложенная схема сборки позволяет рассматривать НАФ как универсальную платформу для оптической тераностики и открывает новые возможности для дальнейшей работы *in vivo*.

*Работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ (Госзадание №20.6515.2017/9.10) и РФФИ (грант № 18-29-0105 мк).*

## СОЗДАНИЕ МОДЕЛЕЙ СТРУКТУРА-АКТИВНОСТЬ ДЛЯ ПРЕДСКАЗАНИЯ ПАР ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ С СИНЕРГЕТИЧЕСКОЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТЬЮ

**Соина Л.О., Лагунин А.А.**

ГБОУ ВПО Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова Министерства здравоохранения РФ, Москва

*mauscat3465@gmail.com*

**Введение.** В одной опухоли могут быть дефектны множественные регуляторные пути. Такая гетерогенность среди отдельных раковых клеток ограничивает эффективность одного противоопухолевого препарата. Комбинирование нескольких лекарств повышает эффективность терапии по сравнению с монотерапевтическим подходом. Основным обоснованием комбинированной терапии является подавление более чем одного пути и, следовательно, синергетическое уничтожение клеток. Чтобы определить наилучшие комбинации лекарственных пар можно использовать компьютерные методы, основанные на анализе "структура-активность" с учетом известных экспериментальных данных о синергетическом действии лекарств в отношении опухолевых клеток.

**Цель.** Создание модели "структура-активность" для предсказания синергетического действия противоопухолевых лекарств на основе базы данных NCI-ALMANAC (National Cancer Institute A Large Matrix of Anti Neoplastic Agent Combinations).

**Материалы и методы.** База данных NCI-ALMANAC (<https://dtp.cancer.gov/ncialmanac/initializePage.do>) содержит результаты экспериментального тестирования 5232 лекарственных пар в 60 опухолевых клеточных линиях панели NCI-60. Создание моделей "структура-активность" проводилось с помощью модифицированных версий программ PASS и GUSAR. Эти программы в качестве описания структур используют подструктурные MNA (Multilevel Neighborhoods of Atoms) и электро-топологические QNA (Quantitative Neighbourhoods of Atoms) дескрипторы. Для выявления зависимостей между структурами соединений и синергетическим действием были использованы методы, основанные на Байесовском подходе и самосогласованной регрессии ([www.way2drug.com](http://www.way2drug.com)). Для анализа и подготовки обучающих выборок использовался язык программирования R 3.5.1.



Результаты. На основе базы данных NCI-ALMANAC с использованием языка R были созданы обучающие выборки пар лекарств, проявляющие синергизм в определенных клеточных линиях. В программах PASS и GUSAR из обучающих выборок построены модели, которые прогнозируют синергетическое действие лекарственных пар в определенных клеточных линиях. Точность прогноза AUC (Area Under Curve), рассчитанная по методу скользящего контроля с исключением по одному, составляет более 0.80.

Заключение. Полученные модели могут быть использованы для поиска новых комбинаций лекарственных соединений, проявляющих синергетический противоопухолевый эффект, что может быть полезно для создания новых рациональных терапевтических подходов к лечению опухолей.

## ОПТИЧЕСКИЙ ПИНЦЕТ КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ НЕИНВАЗИВНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ МИКРОМЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ НУКЛЕОПЛАЗМЫ ООЦИТОВ МЫШИ

**Сырчина М.С., Шахов А.М., Айбуш А.В., Надточенко В.А.**

ФГБУН Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Москва, Россия

*wrongclue@gmail.com*

С применением оптического лазерного пинцета было исследовано содержимое нуклеоплазмы GV-ооцитов мышей линии C57Bl/6J, возрастом 5-9 недель. Среди всех GV-ооцитов наибольший интерес представила группа NSN-ооцитов, при окрашивании флуоресцентным красителем Hoechst 33342, демонстрировавшая диспергированный хроматин, заполняющий всё пространство ядра. Ядрышко было использовано нами в качестве эндогенного микророзда, который и захватывался оптическим пинцетом. Перемещая его внутри ядра и наблюдая за его релаксацией, мы получили кинетики, свидетельствующие об анизотропных свойствах нуклеоплазмы ооцитов данной стадии развития, а так же выявили две субпопуляции среди NSN-ооцитов, различающихся между собой вязкоупругими характеристиками содержимого зародышевого пузырька, что, возможно, является существенным для расширения представлений о физиологических состояниях ооцитов, их способности к успешному достижению стадии МП и последующему оплодотворению.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-33-01080.*

## ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ ГОЛУБЯ ПРИ ДЕЙСТВИИ ВЫСОКОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ МЕТОДОМ КР-СПЕКТРОСКОПИИ

**Сюсин И.В., Лоскутова А.Ю., Кильдеева А.Г.**

ФГБОУ ВПО Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва, Саранск, Россия

*ilya.sysin@gmail.com*

Одним из уникальных ионов играющих важную роль в функционировании клетки и в регуляции широкого числа реакций и физико-химических процессов является кальций. Увеличение внутриклеточного содержания кальция может привести к угнетению



активности флипазы и случайному перераспределению фосфолипидов (ФЛ) мембран. Вследствие этого может происходить нарушение работы клетки и изменение свойств мембраны, таких как деформируемость и вязкость. Можно полагать, что наблюдаемые изменения морфологических свойств и структуры эритроцитов связаны с изменением свойств ФЛ, входящих в состав клеточной мембраны. Поэтому целью нашей работы было исследование влияния высокой концентрации ионов  $\text{Ca}^{2+}$  на свойства мембран эритроцитов голубя.

Объектом исследования служили эритроциты периферической крови голубя (*Columba livia*). Эритроциты получали путем центрифугирования цельной крови при 1500g. Нагрузку эритроцитов ионами  $\text{Ca}^{2+}$  проводили путем выдерживания эритроцитов в среде, содержащей 3,5 мМ  $\text{CaCl}_2$ . Инкубацию вели при температуре 37 °С. Анализ свойств мембран проводили с помощью микроскопа InVia Raman Microscope (Renishaw, Великобритания).

Для анализа текучести липидного бислоя проводили расчет отношения интенсивностей при 2885  $\text{cm}^{-1}$  и 2845  $\text{cm}^{-1}$ . В начальный момент времени инкубирования значение отношения интенсивности в образце, инкубируемом в присутствии высокой концентрации кальция, при 2885  $\text{cm}^{-1}$  и 2845  $\text{cm}^{-1}$  превышало на 6 % значение в контрольном варианте опыта. Наибольшее изменение происходило при 20 мин инкубации, значение отношения интенсивностей при 2885  $\text{cm}^{-1}$  и 2845  $\text{cm}^{-1}$  было меньше контрольного на 8 %.

Также была оценена мера насыщенности ЖК-состава ФЛ мембраны, для этого проводили анализ отношения интенсивностей при 1650  $\text{cm}^{-1}$  и 1450  $\text{cm}^{-1}$ . Инкубация в течении 10 мин приводила к увеличению данного отношения на 14% по сравнению со значением в контрольном образце. Однако, при увеличении времени инкубации до 20 мин значение отношения интенсивности при 1650  $\text{cm}^{-1}$  и 1450  $\text{cm}^{-1}$  уменьшается и становится меньше на 12 % относительно контроля.

Таким образом, методом КР-спектроскопии показано, что действие высокой концентраций ионов  $\text{Ca}^{2+}$  вызывает изменение степени насыщенности жирных кислот, входящих в состав ФЛ, и соответственно микровязкости мембран эритроцитов.

## СВЯЗЫВАНИЕ ИОНОВ КАЛИЯ ВЫЗЫВАЕТ ФЛУОРЕСЦЕНЦИЮ G-КВАДРУПЛЕКСНЫХ СТРУКТУР

**Тевонян Л.Л.<sup>1</sup>, Калюжный Д.Н.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Московская область, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

*liantevonyan@gmail.com, uzhny@mail.ru*

Структура нуклеиновых кислот в клетке представлена главным образом двойной спиралью В-формы. Однако, некоторые последовательности обогащённые гуанином способны образовывать альтернативную структуру ДНК называемую G-квадруплексами. Возможность образования таких структур ассоциируется с регуляцией важных биологических процессов. Для некоторых последовательностей ДНК было обнаружено явление автофлуоресценции, связанное с определенной конформацией ДНК [1]. Исследование свойств собственной флуоресценции G-квадруплексных структур может послужить толчком к новым способам обнаружения альтернативных структур ДНК.

В данной работе нами исследованы флуоресцентные характеристики G-квадруплексной структуры, образованной нуклеотидной последовательностью



(G<sub>3</sub>T)<sub>4</sub>. Получены спектры собственной флуоресценции и возбуждения ДНК. Изучено изменение спектральных характеристик в присутствии различных катионов в растворе, как стабилизирующих (K<sup>+</sup> и Na<sup>+</sup>), так и разрушающих квадруплексную структуру (Cs<sup>+</sup> и Li<sup>+</sup>). Оказалось, что только в присутствии ионов калия возникает заметная флуоресценция с максимумом около 400 нм при возбуждении в области поглощения ДНК. Полученные спектральные характеристики позволяют предположить, что связывание G-квадруплексной структуры ионами калия является ключевым фактором возникновения явления собственной флуоресценции G-квадруплексных структур. С использованием спектроскопии кругового дихроизма показано, что наблюдаемая флуоресценция возникает при больших концентрациях ионов калия, чем необходимо для формирования G-квадруплексной структуры. Параметры взаимодействия ионов калия с квадруплексной структурой определены аппроксимацией уравнением Хилла зависимости флуоресценции от концентрации ионов калия в растворе. Оказалось, что параметр кооперативности Хилла равен 3, а константа связывания зависит от концентрации олигонуклеотида, что позволяет предположить межмолекулярную природу возникновения флуоресценции ДНК.

Настоящая работа вносит вклад в исследование альтернативных структур геномных нуклеотидных последовательностей, а также в способы их обнаружения.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ, проект № 16-14-10396.*

Литература:

1. Dao NT, Haselsberger R, Michel-Beyerle M-E, Phan A T. Following G-quadruplex formation by its intrinsic fluorescence. // FEBS Letters 585 (2011) 3969–3977.

## ПРОЯВЛЕНИЕ СИНЕРГИЗМА ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ДЕЙСТВИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И РАЗЛИЧНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

**Филимонова А.Н.<sup>1</sup>, Евстратова Е.С.<sup>1</sup>, Воробей О.А.<sup>2</sup>, Толкаева М.С.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Москва, Россия; <sup>2</sup>МРНЦ им. А.Ф. Цыба филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск, Россия

*filimonowa.af@gmail.com*

Различные физические факторы используются в ядерной медицине в комбинации с гипертермией, которая синергически усиливает действие физических и химических агентов. Ранее были установлены закономерности проявления синергизма на клеточном уровне при комбинированном действии гипертермии с ионизирующим излучением, ультрафиолетовым светом и ультразвуком. Было отмечено, во-первых, синергизм наблюдается не при любых, случайно выбранных «дозах» воздействующих агентов. Во-вторых, существуют как оптимальная действующая температура, так и оптимальная интенсивность физических факторов, которые приводят к максимальному синергическому взаимодействию. В-третьих, синергизм зависит от интенсивности применяемых агентов, причем, чем меньше интенсивность физического фактора, тем при меньшей действующей температуре регистрируется максимальный синергический эффект. Эта закономерность указывает на принципиальную возможность синергического взаимодействия небольших интенсивностей вредных факторов окружающей среды, реально встречающихся в биосфере. В настоящее время отсутствуют систематические данные, которые подтверждали бы выявленные универсальные закономерности для комбинированного действия тяжелых металлов с различными физическими факторами. Представляет интерес изучить закономерности комбинированного действия тяжелых металлов и различных физических факторов, с целью поиска оптимизации методов сочетанной терапии.



В опытах использовали диплоидные дрожжевые клетки *Saccharomyces cerevisiae*, штамм XS800. Клетки облучали  $\gamma$ -квантами  $^{60}\text{Co}$  (10,80 Гр/мин). Гипертермическую обработку (43-55°C) осуществляли в термостате. Были исследованы следующие образцы:  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ,  $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{PbI}_2$ .

Получены результаты определения выживаемости диплоидных дрожжевых клеток после одновременного и отдельного применения тяжелых металлов с гипертермией, а также и с ионизирующим излучением. Рассчитаны теоретические кривые, при условии независимого сложения эффектов используемых факторов. На основании полученных результатов, мы рассчитали зависимость коэффициента синергического усиления от действующих физических факторов. Характер взаимодействия этих агентов является синергическим. Из этого следует, что с возрастанием действия физического фактора на тяжелый металл, степень синергического взаимодействия увеличивается до максимального значения и затем уменьшается. Продолжается дальнейший поиск минимальных интенсивностей (концентраций) тяжелых металлов и применяемых физических факторов, при которых будет обеспечиваться максимальное значение коэффициента синергического усиления.

## ДИПОЛЬНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ МЕМБРАНЫ ВЛИЯЕТ НА ПОРООБРАЗУЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ ПОЛИМИКСИНА Б

Халенёва Д.А.<sup>1,2</sup>, Ефимова С.С.<sup>2</sup>, Захарова А.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

*daryakhaleneva@mail.ru*

Полимиксин Б (ПМБ) является хорошо изученным антибиотиком липопептидной природы с выраженными антибактериальными свойствами. ПМБ связывается с мембраной грам-отрицательных бактерий, увеличивает ее проницаемость, вызывает утечку цитоплазматических компонентов и клеточную смерть [Vaara, *Microbiol Rev*, 1992]. Согласно литературным данным, ПМБ формирует в липидных бислоях ионные каналы [Schroder et al., *Biochem.*, 1992].

Целью работы было изучение механизмов увеличения проницаемости мембран в присутствии ПМБ. Использовали одноламеллярные липосомы и плоские липидные бислои, сформированные по методу Монтала и Мюллера [Montal and Muller, *PNAS*, 1972].

Методом оценки изменений граничного потенциала мембран установлено, что ПМБ в концентрации до 3 мкМ не оказывает влияния на стационарный неактин-индуцированный калиевый ток, протекающий через пальмитоолеилфосфохолин (ПОФХ)- или ПОФХ: пальмитоолеилфосфоэтаноламин (ПОФЭ): пальмитоолеилфосфоглицерол (ПОФГ): эргостерин (20:20:50:10 мол%)-бислои, а, следовательно, не вызывает изменений граничного потенциала как незаряженных, так и отрицательно заряженных бислоев. С помощью конфокальной микроскопии липосом показано, что добавка ПМБ в суспензию до концентрации 3 мкМ не изменяет сценарий фазовой сегрегации как в ПОФХ-, так и в ПОФХ:сфингомиелин (80:20 мол%)-бислоях. Увеличение концентрации ПМБ до 5 мкМ вызывает лизис везикул независимо от их липидного состава.

Электрофизиологическим методом обнаружено, что в отрицательно заряженных бислоях в эквимолярном соотношении из диолеилфосфосерин:диолеилфосфоэтаноламин или ПОФГ:ПОФЭ положительно заряженный ПМБ формирует ион-проницаемые трансмембранные поры при



концентрациях в омывающих растворах от 1 до 10 мкМ, а в незаряженном диолеоилфосфохолин-бислоях введение 15 мкМ ПМБ не индуцирует появления ступенеобразных флуктуаций тока. Дальнейший рост концентрации ПМБ вызывает разрыв бислоя. Изучено влияние модификаторов мембран на мультиканальную активность ПМБ: добавка флоретина и триодтирониона вызывает 30% и 50%-снижение ПМБ-индуцированного трансмембранного тока соответственно. Введение RH421 и тетракаина сопровождается 50% и 20%-ростом проводимости бислоя. Проведен сравнительный анализ действия тестируемых модификаторов на порообразующую активность ПМБ, дипольный потенциал бислоев, а также сценарий фазовой сегрегации мембран липосом. Сделан вывод о значимой роли дипольного потенциала бислоя в регуляции порообразующей активности ПМБ. Проводится исследование влияния кофеина и пентоксифиллина на мембранную активность ПМБ.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№ 18-34-20047).*

## МЕЗЕНХИМНЫЕ СТРОМАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА ЭКСПРЕССИРУЮТ A1-, A2A-, A2B-АДЕНОЗИНОВЫЕ РЕЦЕПТОРЫ

**Черкашин А.П., Кочкина Е.Н., Котова П.Д.**

ФГБУН ФИЦ ПНЦ Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

*a.p.cher@yandex.ru*

Мезенхимные стромальные клетки (МСК) представляют собой гетерогенную популяцию пролиферирующих недифференцированных клеток, включающую мультипотентные стволовые клетки. Хотя МСК активно исследуются во многих лабораториях, существующие представления об их рецепторных и сигнальных системах весьма ограничены. В данной работе исследовалась  $Ca^{2+}$ -сигнализация, инициируемая в МСК внеклеточным аденозином. МСК выделяли из жировой ткани человека, поддерживали в культуре, и изучали с использованием микрофотометрии,  $Ca^{2+}$ -зондов и ингибиторного анализа.

Ранее в нашей лаборатории было показано, что популяция МСК гетерогенна по чувствительности к агонистам различных рецепторов. В настоящей работе мы анализировали сигнальные каскады, которые обеспечивают сопряжение аденозиновых рецепторов с мобилизацией внутриклеточного  $Ca^{2+}$ . Выяснилось, что МСК генерируют нормальные по амплитуде и кинетике ответы на аденозин в отсутствие внешнего  $Ca^{2+}$ , что однозначно указывает на то, что основной вклад в эти ответы вносит выброс депонированного  $Ca^{2+}$ . Ингибитор PLC U73122 полностью подавлял ответы на аденозин, в то время как его неактивный аналог U73343 ожидаемо был неэффективен. Это свидетельствовало о том, что аденозиновые рецепторы в МСК сопряжены с фосфолипазой C, которая гидролизует PIP<sub>2</sub> до IP<sub>3</sub> и DAG. Образовавшийся IP<sub>3</sub> стимулирует IP<sub>3</sub> рецепторы  $Ca^{2+}$ -депо, о чем свидетельствуют эксперименты, в которых было показано, что антагонист IP<sub>3</sub>-рецепторов 2-APB полностью подавлял ответы на аденозин, тогда как ингибитор риадиноновых рецепторов Ryanodine не влиял на способность МСК генерировать  $Ca^{2+}$ -ответы на аденозин.

Перечисленные данные свидетельствуют о том, что МСК генерируют  $Ca^{2+}$ -ответы на аденозин при участии классического фосфолипазного пути. Следует отметить, что для клеточных ответов на аденозин была характерна весьма необычная дозозависимость – амплитуда ответов фактически не зависела от концентрации апплицируемого аденозина. Этот необычный факт свидетельствует о том, что сигнальные процессы, запускаемые в



МСК аденозином, не ограничиваются активацией только фосфолипидного сигнального каскада, и для их детализации требуются дальнейшие исследования.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 18-34-00365 мол\_a*

## СТАБИЛИЗАЦИЯ АНТИСТОКСОВЫХ НАНОФОСФОРОВ ПОКРЫТЫХ АЛЬБУМИНОМ ПУТЕМ ЛИОФИЛИЗАЦИИ

**Шанвар С.<sup>1</sup>, Liang L.<sup>2</sup>, Звягин А. 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>Университет Маккуори (Австралия), Macquarie University, 2109, Australia, Balaclava Road, North Ryde NSW

*samahshanwar@gmail.com*

В настоящее время наночастицы широко исследуются для применения в тераностике, и среди них антистоксовые нанофосфоры (НАФ) выделяются своими уникальными оптическими свойствами, например, антистоксовой эмиссии фотонов. Они обычно покрыты полимерами для получения водорастворимых НАФ. Однако, водорастворимые НАФ имеют значительную тенденцию к агрегации в растворах, содержащих электролит. Альбумин обладает превосходными свойствами, включая биосовместимость, биоразлагаемость и длительное время циркуляции в крови, что делает его идеальным стабилизатором для наночастиц. Адсорбция альбумина на поверхности наночастиц объясняется его способностью образовывать ковалентные связи и электростатические связи. Электростатическое соединение не выдерживает центрифугирования при удалении несвязавшихся молекул альбумина во время синтеза наночастиц покрытых альбумином и, как следствие, это приводит к агрегации и седиментации наночастиц. В связи с этим, была предложена лиофилизация наночастиц, поскольку доказано, что альбумин является отличным лиопротектором.

Целью данного исследования являлась оптимизация инкубационной концентрации денатурированного бычьего сывороточного альбумина (д-БСА) с положительно заряженными НАФ покрытыми нитрозония тетрафторборат (NOBF<sub>4</sub>) для образования монослойной короны д-БСА вокруг НАФ. Помимо этого, целью являлась оценить коллоидную стабильность лиофилизированного д-БСА-НАФ после повторного рассеивания в различных буферах и биологических средах.

Сначала оптимизация концентрации д-БСА была необходима, потому что стратегия лиофилизации не позволяет удалять избыточные белки. Тем не менее, это позволяет очень спокойный процесс сушки наночастиц и предотвращает их агрегацию. Идеальной инкубационной концентрацией д-БСА является 10 мМ, для формирования д-БСА короны на НАФ и поддержания стабильности НАФ в воде в течение 24 часов со средним диаметром ~ 127.5 нм. Лиофилизированные д-БСА-НАФ повторно рассеивали в деионизированной воде, натрий-фосфатном буфере (PBS) и средах для культивирования клеток. д-БСА-НАФ демонстрируют нестабильность в воде, RPMI или DMEM, где они образуют большие кластеры наночастиц (> 1000 нм). Однако д-БСА-НАФ показывают высокую стабильность в PBS, RPMI и в DMEM содержащей 10% фетальной бычьей сыворотки.

Таким образом, покрытие антистоксовых нанофосфоров денатурированным бычьим сывороточным альбумином, является хорошей стратегией для повышения коллоидной стабильности НАФ. И лиофилизация была очень эффективной в поддержании стабильности, обеспечиваемой д-БСА, в присутствии белков сыворотки.



## КУМАРИН С-525 КАК СУБСТРАТ ЛИПОПЕРОКСИДАЗНОЙ РЕАКЦИИ, КАТАЛИЗИРУЕМОЙ КОМПЛЕКСОМ ЦИТОХРОМА *c* С КАРДИОЛИПИНОМ

**Шангин С.В.<sup>1</sup>, Ромодин Л.А.<sup>1,2</sup>, Владимиров Ю.А.<sup>2</sup>, Лысенко Н.П.<sup>1</sup>, Храмов А.П.<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>ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*stas19982010@gmail.com*

В основе митохондриального пути развития апоптоза лежит липопероксидазная активность комплекса цитохрома *c* с кардиолипином, приводящая к разрушению мембран митохондрий [1]. Такие липопероксидазные реакции изучаются методом активированной хемилюминесценции (ХЛ).

В произведенных ранее исследованиях С-525 был определен как физический активатор ХЛ, возникающей в результате липопероксидазных реакций [2]. Такие вещества усиливают свечение за счёт перехвата электронно-возбуждённых состояний участников реакции, поэтому их использование даёт наиболее достоверные результаты хемилюминесцентных исследований. В ходе эксперимента изучалась возможность проявления кумарином С-525 свойств химического активатора ХЛ в контексте изучения функций комплекса цитохрома *c* с кардиолипином: является ли он субстратом катализируемой этим комплексом липопероксидазной реакции.

В процессе исследования мы регистрировали спектр оптической плотности для смеси, растворенной в фосфатном буфере, и содержащей 10 мкМ цитохром *c*, 300 мкМ тетраолеилкардиолипин, 25 мкМ кумарин С-525, 215 мкМ Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>.

Значение оптической плотности в области спектра, соответствующей пику поглощения кумарина С-525, уменьшалось на протяжении эксперимента: в течение часа – примерно в 5 раз. В полосе Соре, в пике поглощения цитохрома *c*, значения оптической плотности уменьшились более чем в 2 раза, следовательно, цитохром *c* разрушается в ходе катализируемой им реакции.

Таким образом, экспериментально доказано проявление кумарином С-525 в контексте изучения липопероксидазных свойств комплекса цитохрома *c* с кардиолипином химического хемилюминесцентного зонда, так как он является субстратом липопероксидазной реакции, катализируемой данной наночастицей. Установленное разрушение цитохрома *c* в процессе катализируемой им реакции по уменьшению поглощения в полосе Соре, по нашей гипотезе, защищает клетки от самопроизвольного запуска апоптоза.

Литература:

1. Владимиров Ю.А., Ноль Ю.Ц., Волков В.В. Белково-липидные наночастицы, от которых зависит “быть или не быть” живой клетке // Кристаллография / 56, 4, 2011. с.: 712-719.
2. Vladimirov Y.A., Sharov V.S., Driomina E.S., Reznitchenko A.V., Gashev S.B. Coumarin derivatives enhance the chemiluminescence accompanying lipid peroxidation // Free Radic Biol Med / 18, 4, 1995. p.: 739-745.





## ДВА ТИПА АМИЛОИДНОЙ АГРЕГАЦИИ ТИТИНА IN VITRO

**Якупова Э.И.<sup>1</sup>, Шоно Я.А.<sup>2</sup>, Вихлянцев И.М.<sup>1,2,3</sup>, Бобылёв А.Г.<sup>1,2,3</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия

*yakupova.mira@mail.ru*

Проведено сравнительное изучение свойств амилоидных агрегатов гладкомышечного титина (ГМТ), сформированных в двух растворах: 0,15 М глицина, pH 7.2-7.4 (1 тип) и 0.2 М KCl, 10 мМ имидазола, pH 7.2-7.4 (2 тип). Амилоидная природа агрегатов 1 и 2 типов была подтверждена методом рентгенодифракционного анализа. Несмотря на наличие кросс-бета структуры у обоих типов агрегатов ГМТ, были выявлены отличительные особенности.

Методом динамического светорассеяния обнаружено, что амилоидные агрегаты ГМТ 2-го типа способны дезагрегировать до мономеров/димеров, в то время как агрегаты 1-го типа не обладали такой способностью. У амилоидных агрегатов ГМТ 2-го типа была выявлена низкая способность связываться с красителем тиофлавин Т по сравнению с таковой у агрегатов 1-го типа, в присутствии которых флуоресценция красителя увеличивалась в ~10 раз. С помощью рентгеновской дифракции было обнаружено наличие у агрегатов ГМТ 1-го типа предположительно более упорядоченной структуры. Этот вывод был сделан на основании полученного диффузного рефлекса в области 8 ангстрем, указывающего на расстояние между  $\beta$ -листами, который у агрегатов ГМТ 2-го типа имел более широкую область размытия. Это указывает на более широкий интервал расстояний между  $\beta$ -листами у агрегатов 2-го типа и, следовательно, на менее упорядоченную структуру.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что титин в зависимости от ионной силы раствора способен формировать различные по структуре агрегаты. При более низкой ионной силе ГМТ формирует необратимые агрегаты с более упорядоченной внутренней структурой, которые не способны дезагрегировать при увеличении ионной силы. Учитывая полученные нами ранее данные о негативном эффекте амилоидных агрегатов ГМТ на гладкомышечные клетки (Bobylev et al., Biosci Rep., 2016), можно предположить, что первый тип агрегатов ГМТ может вносить вклад в развитие мышечных амилоидозов. Второй тип агрегатов ГМТ из-за способности к дезагрегации может играть функциональную роль *in vivo*. Мы предполагаем, что титин способен локально формировать временные амилоидо-подобные структуры между рядом лежащими соседними молекулами для обеспечения дополнительной жесткости.

*Данная работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-04-00125.*



## ВЛИЯНИЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПУЧКА ИОНОВ УГЛЕРОДА НА МЫШЕЙ ПРИ РАЗНЫХ РЕЖИМАХ ОБЛУЧЕНИЯ

**Дюкина А.Р., Шемяков А.Е., Сорокина С.С., Наумов А.А.**

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия.

[dyukina@rambler.ru](mailto:dyukina@rambler.ru)

Существуют некоторые типы опухолей – радиорезистентные, плохо поддающиеся лучевому лечению на стандартных ускорителях электронов. Для лечения таких новообразований в настоящее время стало возможным использовать лучевую терапию пучками протонов и ионов углерода. Основное преимущество ускоренных ионов углерода связано с особенностями энерговыделения: максимум энерговыделения достигается в конце пробега – в опухоли (пик Брэгга) при этом окружающие, здоровые ткани, практически не поражаются, в отличие от рентгеновского излучения.

Целью работы являлось получение дозовых зависимостей количества цитогенетических повреждений в костном мозге, определение индекса массы органов (тимуса и селезенки), формулы крови и уровня продукции АФК в цельной крови при облучении мышей ускоренными ионами углерода с энергией 450 МэВ/нуклон до, после и в пике Брэгга и рентгеновским излучением в диапазоне доз от 0.1 до 1.5 Гр.

Исследования проводили на двухмесячных самцах мышей линии SHK *in vivo* в помещении временного радиобиологического стенда ускорительного комплекса У-70 (г. Протвино). Облучение пучком ионов углерода до-, в- и после пика Брэгга проходило в режиме медленного вывода 1 раз в 8 сек, длительность выпуска – 0,6 сек при сопровождении каждой экспозиции дозиметрической пленкой «ЕВТ 3» (Gafchromic® film), а рентгеновскими лучами - на установке РУТ при напряжении 200 кВ и средней мощности дозы 1 Гр/мин. На каждую экспериментальную точку использовали не менее 6 мышей. Животных выводили из эксперимента методом декапитации через 28 ч после воздействия. Критерием цитогенетических повреждений служил процент полихроматофильных эритроцитов с микроядерами в костном мозге. Индексы массы тимуса и селезенки были рассчитаны по отношению среднего абсолютного веса органа к среднему весу животного в группе. Формулу крови определяли с помощью гемоанализатора АСТ8. Уровень продукции АФК в цельной крови измеряли методом люминол-зависимой зимозан-индуцированной хемилюминесценции.

В результате проведенных экспериментов получены следующие результаты: в диапазоне доз 0.1 - 1.5 Гр до и после пика Брэгга зависимости количества клеток с цитогенетическими повреждениями и значения индекса масс тимуса и селезенки были в два раза ниже, чем при облучении рентгеном; в пике Брэгга наблюдалась нелинейная дозовая зависимость количества цитогенетических повреждений при значении относительной биологической эффективности 1.3 - 2.4; индекс активации хемилюминесценции снижался с увеличением дозы облучения, что свидетельствует об истощении резерва защитных систем организма; по формуле крови отличий не выявлено.

Таким образом, полученные данные указывают на более высокую эффективность облучения ионами углерода по сравнению с рентгеновским излучением и могут послужить основой для разработки рекомендаций нормирования радиационных нагрузок при работе с повышенным уровнем радиации и радиотерапии.