

КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ



Проблемы современной физико-химической биологии

07- 09 ДЕКАБРЯ 2015 г.

СБОРНИК ТЕЗИСОВ И
ПРОГРАММА КОНФЕРЕНЦИИ



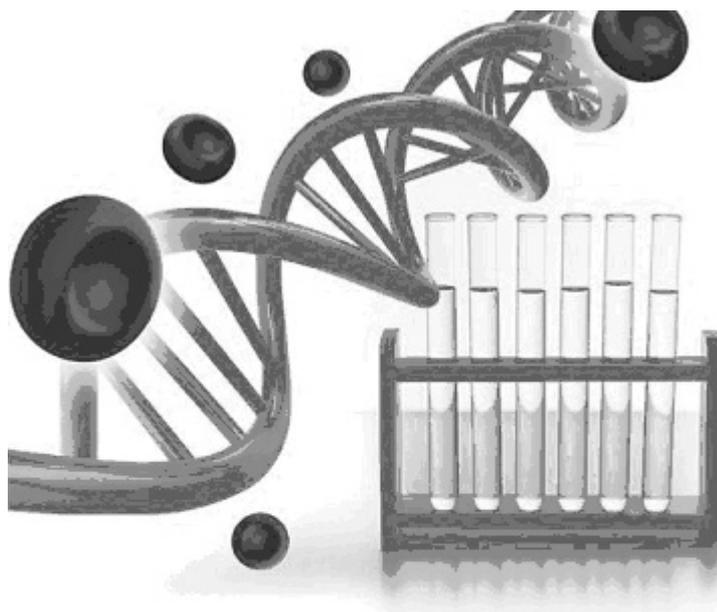
ПУЩИНСКИЕ
ЛАБОРАТОРИИ

ПУЩИНО
2015

Международная конференция молодых ученых
«Проблемы современной физико-химической биологии»

ИНСТИТУТ ТЕОРЕТИЧЕСКОЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОФИЗИКИ РАН
МОСКОВСКИЙ ОБЛАСТНОЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
КЛИНИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ ИМ. М.Ф. ВЛАДИМИРСКОГО

МЕЖДУНАРОДНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ



Проблемы современной
физико-химической
биологии

07-09 декабря 2015 г.

**СБОРНИК ТЕЗИСОВ
и программа конференции**

**Пушино
2015**

Международная конференция молодых ученых
«Проблемы современной физико-химической биологии»

УДК 577
ББК 28.07
П 128

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК, ОТДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК
ИНСТИТУТ ТЕОРЕТИЧЕСКОЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОФИЗИКИ РАН
МОСКОВСКИЙ ОБЛАСТНОЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
КЛИНИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ ИМ. М.Ф. ВЛАДИМИРСКОГО
СОВЕТ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ИТЭБ РАН
СОВЕТ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ И СПЕЦИАЛИСТОВ МОНИКИ

**П 128 ПРОБЛЕМЫ СОВРЕМЕННОЙ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ
БИОЛОГИИ. СБОРНИК ТЕЗИСОВ.** – ПУЩИНО: ТИПОГРАФИЯ FIX-PRINT,
2015. – 229 с.

ISBN 978-5-81652-389-9

С 07 ПО 09 ДЕКАБРЯ 2015 Г. В Г. ПУЩИНО ПРОХОДИЛА МЕЖДУНАРОДНАЯ
КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ «ПРОБЛЕМЫ СОВРЕМЕННОЙ
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ». НА КОНФЕРЕНЦИИ БЫЛИ
РАССМОТРЕНЫ НОВЕЙШИЕ ДОСТИЖЕНИЯ И РЕЗУЛЬТАТЫ
ИССЛЕДОВАНИЙ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ, СПЕЦИАЛИЗИРУЮЩИХСЯ В
ОБЛАСТИ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ. В СБОРНИКЕ
ПРЕДСТАВЛЕНЫ ТЕЗИСЫ 251 ДОКЛАДА УЧАСТНИКОВ КОНФЕРЕНЦИИ.

УДК 577
ББК 28.07

ПРОВЕДЕНИЕ КОНФЕРЕНЦИИ ПОДДЕРЖАНО:
Мероприятие проводится при финансовой поддержке
Российского фонда фундаментальных исследований грант № 15-44-07024 р_г

ISBN 978-5-81652-389-9

© ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НАУКИ ИНСТИТУТ ТЕОРЕТИЧЕСКОЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
БИОФИЗИКИ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК, 2015

Международная конференция молодых ученых
«Проблемы современной физико-химической биологии»

ОГЛАВЛЕНИЕ

1.ПРОГРАММА КОНФЕРЕНЦИИ	5
2.СЕКЦИЯ «МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ»	24
3.СЕКЦИЯ «КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ И БИОМЕДИЦИНА»	73
4.СЕКЦИЯ «БИОФИЗИКА И РАДИОБИОЛОГИЯ»	114
5.СЕКЦИЯ «БИОХИМИЯ»	183

ПРОГРАММА КОНФЕРЕНЦИИ

Воскресенье, 06 декабря 2015

15:00 – 17:00 – регистрация участников.

Понедельник, 07 декабря 2015

9:00 – 10:00 – Регистрация участников.

9:00 – 9:15 – Открытие конференции. Приветствия участникам конференции.

9:15 – 13:00 - Секция «Молекулярная биология»

13:00 – 14:00 - Обед

14:00 – 18:00 - Секция «Клеточная биология и биомедицина»

15:00 – 18:00 – Постерная сессия

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ

Секция «Молекулярная биология»

9:15 – 11:00

1) Афошин А.С., Зимин А.А. «СХОДСТВА АМИНОКИСЛОТНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ БЕЛКОВ ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ ВИРУСОВ И БАКТЕРИОФАГОВ: МИНИОБЗОР И СОБСТВЕННЫЕ НАБЛЮДЕНИЯ», Пушкино, Россия.

2) Быков А.А., Шавкунов К.С., Озолинь О.Н. «ИЗМЕНЕНИЕ ТРАНСКРИПЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ РЕГУЛЯТОРНЫХ ЛОКУСОВ ПОСРЕДСТВОМ ПЦР-МУТАГЕНЕЗА», Пушкино, Россия.

3) Голенченко С.Г., Прокулевич В.А. «ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АНТИСТРЕПТОКОККОВОГО БЕЛКА СНАР-В30», Минск, Беларусь.

4) Давыдова А.С., Воробьева М.А. «НОВЫЕ УСТОЙЧИВЫЕ В БИОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДАХ РНК-АПТАМЕРЫ, СВЯЗЫВАЮЩИЕ РЕЦЕПТОР IGF-I», Новосибирск, Россия.

5) Королёва Л.С., Лебедева Ю.А., Герасимова Е.В., Чернова К.С., Ситдикова Г.Ф. «ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ АГОНИСТОВ КАННАБИНОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА СЕКРЕЦИЮ МЕДИАТОРА В НЕРВНО-МЫШЕЧНОМ СИНАПСЕ МЫШИ», Казань, Россия.

6) Оплачко Е.С., Рыкунов С.Д., Устинин М.Н. «ИНТЕРНЕТ-РЕСУРС ДЛЯ АППРОКСИМАЦИИ ЭНЦЕФАЛОГРАММ», Пушкино, Россия.

7) Райт Д.В., Грошев Д.С., Виноградова Е.П. «ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО УМЕРЕННОГО НЕКОНТРОЛИРУЕМОГО СТРЕССА ПОВСЕДНЕВНОСТИ НА КРЫС СРЕДНЕГО ВОЗРАСТА», Санкт-Петербург, Россия.

8) Росс Д.В., Поливцева В.Н. «УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ПОВЕРХНОСТНЫХ СТРУКТУР КЛЕТОК НОВЫХ УЛЬТРАМЕЛКИХ БАКТЕРИЙ (ШТАММЫ Ф2 И ФМ3), ХАРАКТЕРИЗУЮЩИХСЯ ШИРОКИМ СПЕКТРОМ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ», Пушкино, Россия.

11:00 – 11:15 – Кофе-брейк

11:15 – 13:00

8) Серов Д.А., Зубова С.В., Кабанов Д.С. «ИССЛЕДОВАНИЕ ЗАЩИТНЫХ ЭФФЕКТОВ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ ИЗ RHODOBACTER CAPSULATUS PG ОТ ДЕЙСТВИЯ ЭНДОТОКСИНОВ НА СИНТЕЗ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ», Ярославль, Россия.

- 9) Тарасова А.Ю., Скобелева В.М., Рудько О.И. «ИЗУЧЕНИЕ ПИЩЕВОГО ПОВЕДЕНИЯ БЕЛЫХ КРЫС НА ФОНЕ КУРСОВОГО ВВЕДЕНИЯ СИНТЕТИЧЕСКИХ ФРАГМЕНТОВ ЭНДОГЕННОГО ПЕПТИДА НЕСФАТИНА-1», Москва, Россия.
- 10) Трутнева К.А., Шлеева М.О., Демина Г.Р., Капрельянц А.С. «ОСОБЕННОСТИ БЕЛКОВОГО СОСТАВА ПОКОЯЩИХСЯ ФОРМ МЫСОВАСТЕРИУМ SMEGMATIS», Москва, Россия.
- 11) Умнякова Е.С. «ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ С1Q ИЗ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА», Санкт-Петербург, Россия.
- 12) Фурсов М.В., Салина Е.Г., Игнатов Д.В., Скворцов Т.А., Ажикина Т.Л., Капрельянц А.С. «СИСТЕМНАЯ ОБРАБОТКА ДАННЫХ ПРОТЕОМНОГО АНАЛИЗА КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ NEISSERIA GONORRHOEAЕ», Москва, Россия.
- 13) Хлебус Э.Ю., Алтухов И.А., Малахова М.В., Побегуц О.В., Ильина Е.Н., Алексеев Д.Г. «ИДЕНТИФИКАЦИЯ РЕФЕРЕНСНЫХ ГЕНОВ В ПЕЧЕНОЧНЫХ ВЫРОСТАХ МОРСКОЙ ЗВЕЗДЫ *ASTERIAS RUBENS* ПРИ ТЕПЛОВОМ СТРЕССЕ», Москва, Россия.
- 14) Хилал Н.Р., Уткин О.В., Пекшева О.Ю., Новиков В.В. «ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЛОТНОСТИ ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРА DR3/LARD В КРОВИ ПРИ ГЕРПЕСВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ», Нижний Новгород, Россия.
- 15) Щанникова М.П., Фурсова К.К., Шепеляковская А.О., Павлик Л.Л., Бровко Ф.А. «ИССЛЕДОВАНИЕ УСЛОВИЙ ХРАНЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ РЕКОМБИНАНТНЫХ АНТИТЕЛ В СОСТАВЕ БАКТЕРИОФАГА M13.», Пушкино, Россия.

Постерная сессия «Молекулярная биология»

- 1) Азиева А.М. «RNF10/BAF45A - СУБЪЕДИНИЦА ХРОМАТИН РЕМОДЕЛИРУЮЩЕГО КОМПЛЕКСА RBAF В РАЗВИТИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА МЫШИ», Москва, Россия.
- 2) Анненкова О.М., Баженова С.И., Олейник Т.Л., Амосова Н.Н., Быстров А.В. «ВЛИЯНИЕ ЭТАНОЛА НА МОРФОМЕТРИЧЕСКОЕ ИЗМЕНЕНИЕ КОРЫ МОЗЖЕЧКА КРЫС», Санкт-Петербург, Россия.
- 3) Алтухов И.А., Ищенко Д.С., Коган В.И., Базалеев Н.А., Кулемин Н.А., Тяхт А.В., Шитиков Е.А., Алексеев Д.Г. «НОВЫЙ ВЕБ-СЕРВИС SRAGENДЛЯ СРАВНИТЕЛЬНОГО ГЕНОМНОГО АНАЛИЗА ПРОКАРИОТ», Москва, Россия.
- 4) Антипова Н.В., Кузнецова Н.Р. «ПЕРСПЕКТИВНАЯ ФАРМСУБСТАНЦИЯ НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСА ДЕСТАБИЛАЗЫ-ЛИЗОЦИМА С ЛИПОСОМАМИ», Москва, Россия.
- 5) Бабажанова В.А. «ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССА ЗАСОРЕННОСТИ ОРГАНОВ ХЛОПЧАТНИКА СПОРАМИ МИКРООРГАНИЗМОВ», Нукус, Узбекистан.
- 6) Богомолова А.М., Никитин А.А., Шавва В.С., Орлов С.В., Перевозчиков А.П. «ПОДАВЛЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА АПОЛИПОПРОТЕИНА А-1 В КЛЕТКАХ ГЕПАТОМЫ ЧЕЛОВЕКА HEPG2 ЧЕРЕЗ ПРЯМОЙ И ОПОСРЕДОВАННЫЙ МЕХАНИЗМЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АГОНИСТА ЯДЕРНОГО РЕЦЕПТОРА PPARГ GW1929», Санкт-Петербург, Россия.
- 7) Бормотова Е.А., Гупалова Т.В. «ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО АЛЬБУМИНА И РЕКОМБИНАНТНЫХ ДЕРИВАТОВ АЛЬБУМИН-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА СТРЕПТОКОККА ГРУППЫ G», Санкт-Петербург, Россия.

- 8) Васильева Е.Л., Скобликов Н.Э., Дьяченко И.А., Мурашев А.Н. «МОДЕЛИРОВАНИЕ ФАГОВОЙ ТЕРАПИИ В КИШЕЧНИКЕ МЫШИ», Пушкино, Россия.
- 9) Вишняков И.Е., Сабанцев А.В., Ведяйкин А.Д., Рунов А.Л., Борхсениус С.Н. «СВЕРХПРОДУКЦИЯ ПОЛНОРАЗМЕРНОГО БЕЛКА FtsZ МИКОПЛАЗМЫ *ACHOLEPLASMA LAIDLAWII* В КЛЕТКАХ *ESCHERICHIA COLI*», Санкт-Петербург, Россия.
- 10) Внуков В.В., Корниенко И.В., Гуценко О.И., Милютин Н.П. «ОЦЕНКА УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ NO-СИНТАЗ В БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЯХ МОЗГА КРЫС В ПОСТГИПЕРОКСИЧЕСКИЙ ПЕРИОД», Ростов-на-Дону, Россия.
- 11) Волкова А.Г., Темнов А.А., Шарапов М., Новосёлов В.И. «ВЛИЯНИЕ СЕКРЕТОРНЫХ БЕЛКОВ СРЕДЫ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТЕВЛОВЫХ КЛЕТОК НА РЕГЕНЕРАЦИОННЫЕ ПРОЦЕССЫ В ЭПИТЕЛИИ ТРАХЕИ ПОСЛЕ ХИМИЧЕСКОГО ОЖОГА», Пушкино, Россия.
- 12) Гавриков А.С. «СВЯЗЫВАНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ АНАЛОГОВ ХРОМОФОРА GFP С ЛИПОКАЛИНОМ: ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КОМПЛЕКСОВ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДЛЯ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО МЕЧЕНИЯ ЖИВЫХ КЛЕТОК», Москва, Россия.
- 13) Григорьева Е.В., Храмцова Ю.С. «СОСТОЯНИЕ СПЕРМАТОГЕНЕЗА У КРЫС ПРИ НАРУШЕНИИ ГТБ НА ФОНЕ АКТИВАЦИИ МАКРОФАГАЛЬНОГО ЗВЕНА», Екатеринбург, Россия.
- 14) Евдокимов А.В., Бурмистрова А.Л., Сташкевич Д. С., Филиппова Ю. Ю. «ОДНОНУКЛЕОТИДНАЯ ЗАМЕНА 721A>C ГЕНА TLR10 В ПОПУЛЯЦИЯХ РУССКИХ И БАШКИР», Челябинск, Россия.
- 15) Закирьянова Г.Ф., Зинин А.А., Петров А.М. «ОЛЕСОКСИМ УСКОРЯЕТ ЦИКЛ СИНАПТИЧЕСКИХ ВЕЗИКУЛ В ДВИГАТЕЛЬНЫХ НЕРВНЫХ ТЕРМИНАЛЯХ», Казань, Россия.
- 16) Захаржевская Н.Б., Харлампиева Д.Д., Побегуц О.В. Лазарев В.Н., Говорун В.М. «ИНДУКЦИЯ КЛЕТОЧНОГО ОТВЕТА В ХОДЕ ЭНДОГЕННОЙ ЭКСПРЕССИИ ТОКСИНА *BACTEROIDES FRAGILIS* В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК НЕК-293», Москва, России.
- 17) Зинатуллина Г.Г., Куприянова Е.С., Стенякина М.Д., Наумов А.А., Серебрякова Л.Т., Поцелуева М.М. «МОДУЛЯЦИЯ ЛЮМИНОЛЗАВИСИМОЙ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ПЕРИТОНЕАЛЬНЫХ МАКРОФАГОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ H_2O_2 », Пушкино, Россия.
- 18) Израельсон М.А., Горбачев А.Ю., Говорун В.М. «РОЛЬ СИСТЕМЫ РЕПАРАЦИИ ДНК В АДАПТАЦИИ К СТРЕССОВЫМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ У БАКТЕРИЙ КЛАССА МОЛЛИКУТ», Москва, России.
- 19) Исмаилова А.М., Панченко Н.А. «МОДЕЛИРОВАНИЕ АНЕМИИ НА КРЫСАХ МЕТОДОМ ЧАСТИЧНОЙ НЕФРЭКТОМИИ ДЛЯ ИСПЫТАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ», Пушкино, Россия.
- 20) Касимов М.Р., Петров А.М. «5 α -ХОЛЕСТЕН-3-ОН ИЗМЕНЯЕТ ЦИКЛ СИНАПТИЧЕСКИХ ВЕЗИКУЛ», Казань, Россия.
- 21) Красильников В.П., Нечаева Ю.С., Пришнивская Я.В., Боронникова С.В. «МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПОПУЛЯЦИЙ *LARIX SIBIRICA* LEDEB. НА УРАЛЕ», Пермь, Россия.
- 22) Кручинина А.Д., Гамзин С.С., Григорьева О.М. «ВЛИЯНИЕ ФЛУОКСЕТИНА НА АКТИВНОСТЬ КАРБОКСИПЕПТИДАЗЫ E В НЕРВНОЙ ТКАНИ КРЫС», Пенза, Россия.

- 23) Кузиков А.В., Махова А.А., Шумянцева В.В., Арчаков А.И. «ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА КАТАЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ЦИТОХРОМА P450», Москва, Россия.
- 24) Кутилин Д.С., Харченко Е.Ю., Бондаренко Т.И., Михалева И.И. «МЕМБРАНОПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ ПЕПТИДА ДЕЛЬТА-СНА ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОМ СТАРЕНИИ ОРГАНИЗМА», Москва, Россия.
- 25) Ладыгина М.Д. «ЛОКАЛИЗАЦИЯ КИССПЕПТИНА И ЕГО РЕЦЕПТОРА В НОРМАЛЬНОМ И ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКОМ ЭНДОМЕТРИИ СРЕДНЕЙ СТАДИИ СЕКРЕЦИИ У ЖЕНЩИН», Санкт-Петербург, Россия.
- 26) Логунов Е.Д., Торохин А.А., Коржавин Д.В. «ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ВЫДЕЛЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ФАКТОРА СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ VIII ЧЕЛОВЕКА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ АФФИННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ», Москва, Россия.
- 27) Морозова А.Ю., Андреева Н.Г., Милютина Ю.П. «СОДЕРЖАНИЕ HSE И VDNF В СЫВОРОТКЕ КРОВИ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ С ЗАДЕРЖКОЙ ВНУТРИУТРОБНОГО РАЗВИТИЯ И ДИАБЕТИЧЕСКОЙ ФЕТОПАТИЕЙ», Санкт-Петербург, Россия.
- 28) Набиуллина Р.М., Мустафин И.Г., Литвинов Р.И., Файзуллин Д.А. «ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ МИКРОВЕЗИКУЛ КРОВИ НА ДИНАМИКУ ФИБРИНООБРАЗОВАНИЯ», Казань, Россия.
- 29) Назаров А.С. «КОНСТРУИРОВАНИЕ АНТИСЕНС-ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ, ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИХ С БАКТЕРИАЛЬНОЙ РИБОНУКЛЕАЗОЙ P», Новосибирск, Россия.
- 30) Нижников А.А., Рыжова Т.А., Александров А.И., Митькевич О.В., Инге-Вечтомов С.Г., Галкин А.П. «PSIA: НОВЫЙ ПРОТЕОМНЫЙ МЕТОД ИДЕНТИФИКАЦИИ БЕЛКОВ, ФОРМИРУЮЩИХ АМИЛОИДЫ И ДЕТЕРГЕНТ-УСТОЙЧИВЫЕ КОМПЛЕКСЫ», Санкт-Петербург, Россия.
- 31) Новожилов А.В., Тавровская Т.В., Морозов В.И., Гончаров Н.В. «ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКИ ПОТРЕБЛЯЕМЫХ АНТИОКСИДАНТОВ ФЛАВОНоиДА КВЕРЦЕТИНА И ЭКСТРАКТА ЗЕЛЕНОГО ЧАЯ НА ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЙ БАЛАНС В КРОВИ КРЫС, ПОДВЕРГАВШИХСЯ БЕГОВОЙ НАГРУЗКЕ», Санкт-Петербург, Россия.
- 32) Одношивкина Ю.Г., Косарева А.В., Петров А.М. «ХОЛЕСТЕРИН И ЭФФЕКТЫ АКТИВАЦИИ БЕТА2-АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ ПРЕДСЕРДИЙ», Казань, Россия.
- 33) Попова Ю.В., Разуваева А.В., Мунзарова А.Ф., Павлова Г.А. «ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ, ЛЕЖАЩИХ В ОСНОВЕ КИНЕТОХОР-ЗАВИСИМОГО РОСТА МИКРОТРУБОЧЕК У DROSOPHILA MELANOGASTER: АНАЛИЗ РОЛИ БЕЛКОВ EB1, MAST, MARS И MEI-38», Новосибирск, Россия.
- 34) Сидорова М.В., Орлова А.В. «ИССЛЕДОВАНИЕ КОНФОРМАЦИОННЫХ ПЕРЕХОДОВ ПЕПТИДНОГО АНТИГЕНА, МОДЕЛИРУЮЩЕГО ИММУНОДОМИНАНТНЫЙ ЭПИТОП 2-Й ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ПЕТЛИ В1-АДРЕНОРЕЦЕПТОРА», Москва, Россия.
- 35) Симановская А.А., Горященко А.С., Липкин А.В., Качалова Г.С. «ПОЛУЧЕНИЕ ХИМЕРНОГО БЕЛКА GFP-ЛИЗОЦИМ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОЦЕССОВ НУКЛЕАЦИИ БЕЛКОВЫХ КРИСТАЛЛОВ ПРИ ПОМОЩИ КОНФОКАЛЬНОЙ МИКРОСПЕКТРОСКОПИИ», Москва, Россия.
- 36) Скобелева В.М., Тарасова А.Ю., Рудько О.И. «ЭФФЕКТЫ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО ВВЕДЕНИЯ СИНТЕТИЧЕСКИХ ФРАГМЕНТОВ

ЭНДОГЕННОГО ПЕПТИДА НЕСФАТИНА-1 НА ПОВЕДЕНИЕ БЕЛЫХ КРЫС», Москва, Россия.

37) Смаль М.П., Ролевич А.И., Красный С.А., Поляков С.Л., Гончарова Р.И. «МУТАЦИИ ГЕНА FGFR3 У ПАЦИЕНТОВ С НЕМЫШЕЧНО-ИНВАЗИВНЫМ РАКОМ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ», Минск, Беларусь.

38) Снежкина А.В., Садритдинова А.Ф., Дмитриев А.А., Мельникова Н.В., Кудрявцева А.В. «ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ КОМПОНЕНТЫ МЕТАБОЛИЗМА РЕТИНОЛА ПРИ СВЕТЛОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ПОЧКИ МЕТОДОМ ПЦР-РВ», Москва, Россия.

39) Соболева А.В., Колобов А.А., Гришина Т.В. «ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ ИЗ КУЛЬТУРЫ LACTOBACILLUS PLANTARUM 8РА-3», Санкт-Петербург, Россия.

40) Спицын М.А., Кузнецова В.Е., Шершов В.Е., Гусейнов Т.О., Лапа С.А., Киселева Я.Ю., Радько С.П., Чудинов А. «ПОЛУЧЕНИЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ С ПОМОЩЬЮ ТРИФОСФАТОВ ДЕЗОКСИНУКЛЕОЗИДОВ, СОДЕРЖАЩИХ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ГРУППЫ НА ПИРИМИДИНОВЫХ ОСНОВАНИЯХ», Москва, Россия.

41) Тимарова А.В., Боронникова С.В., Пришневская Я.В. «ПОДБОР ПРАЙМЕРОВ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ISSR-АНАЛИЗА ПОЛИМОРФИЗМА ДНК EQUUS CABALLUS», Пермь, Россия.

42) Тюлькина Д.В., Плешкан В.В., Свердлов Е.В. «ПОИСК ОПТИМАЛЬНЫХ РЕГУЛЯТОРНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ДЛЯ ЭКСПРЕССИИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ТРАНСГЕНОВ В КЛЕТКАХ РАКА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ», Москва, Россия.

43) Трофимов А.Н., Сечина М.С. «ВВЕДЕНИЕ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА В ТЕЧЕНИЕ РАННЕГО ПОСТНАТАЛЬНОГО ПЕРИОДА ОНТОГЕНЕЗА НАРУШАЕТ ФОРМИРОВАНИЕ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ПОВЕДЕНИЯ И УСЛОВНО-РЕФЛЕКТОРНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ВЗРОСЛЫХ КРЫС», Санкт-Петербург, Россия.

44) Умнякова Е.С. «ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ С1Q ИЗ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА», Санкт-Петербург, Россия.

45) Щербицкая А.Д., Милютин Ю.П. «ПОВЫШЕННОЕ СОДЕРЖАНИЕ ГОМОЦИСТЕИНА В КРОВИ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ ВЕДЕТ К РАЗВИТИЮ СТРЕССА У ПОТОМСТВА», Санкт-Петербург, Россия.

13:00 – 14:00 – Обед

Секция «Клеточная биология и биомедицина»

14:00 – 15:45

1) Байдамшина Д.Р., Холявка М.Г., Каюмов А.Р. «ОЦЕНКА МУТАГЕННЫХ И ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ НА ХИТОЗАНЕ ФЕРМЕНТОВ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В КАЧЕСТВЕ РАНОЗАЖИВЛЯЮЩИХ ПРЕПАРАТОВ», Казань, Россия.

2) Волкова А.Г., Ковосёков В.И. «КУЛЬТИВИРОВАНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК И ФЕРМЕНТОВ-АНТИОКСИДАНТОВ, ПРИ ЛЕЧЕНИИ ХИМИЧЕСКИХ ОЖОГОВ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ», Пушкино, Россия.

3) Глазков А.А. «РАЗРАБОТКА ИНСТРУМЕНТАЛЬНОЙ МЕТОДИКИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНЫХ НАРУШЕНИЙ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ И РИСКОМ ЕГО РАЗВИТИЯ», Москва, Россия.

- 4) Кордюкова М.Ю., Самойлова Д.В., Ползиков М.А., Шишова К.В., Зацепина О.В. «УЧАСТИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНОГО ОНКОМАРКЕРА - БЕЛКА ЯДРЫШКА SURF6 ЧЕЛОВЕКА В БИОГЕНЕЗЕ РИБОСОМ И РЕГУЛЯЦИИ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА», Москва, Россия.
- 5) Кочеткова О.Ю., Юринская М.М., Шабарчина Л.И., Винокуров М.Г. «ВЛИЯНИЕ ИНКАПСУЛИРОВАННОГО БЕЛКА ТЕПЛООВОГО ШОКА БТШ70 НА ОСНОВНЫЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ФАГОЦИТОВ КРОВИ», Москва, Россия.
- 6) Миронова Е.А., Давыдова Г.А., Абакумов М.А. «ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА В ОБОЛОЧКАХ ИЗ БЫЧЬЕГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА И ПОЛИЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ», Пущино, Россия.
- 7) Мухамедшина Я. О., Журавлева М. Н., Санатова Э. Р. «КУЛЬТИВИРОВАНИЕ И ФЕНОТИПИРОВАНИЕ МИКРОГЛИЯ-ПОДОБНЫХ КЛЕТОК ДЛЯ ТЕРАПИИ НЕЙРОТРАВМ», Казань, Россия.
- 8) Пронкин П.Г., Сорокина О.Н., Бычкова А.В., Коварский А.Л., Розенфельд М.А., Татиколов А.С. «ПРИМЕНЕНИЕ ОКСАКАРБОЦИАНИНОВОГО КРАСИТЕЛЯ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ СИСТЕМ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ С БЕЛКОВЫМИ ПОКРЫТИЯМИ», Москва, Россия.

15:45 – 16:00 – Кофе-брейк

16:15 – 18:00

- 9) Сидоренко А.Б. «СПОСОБ РЕКОНСТРУКТИВНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ ВМЕШАТЕЛЬСТВ НА ВНЕПЕЧЕНОЧНЫХ ЖЕЛЧНЫХ ПРОТОКАХ С ФОРМИРОВАНИЕМ ДОСТУПА ДЛЯ МАЛОИНВАЗИВНЫХ ВМЕШАТЕЛЬСТВ», Москва, Россия.
- 10) Снигирева А.В., Врублевская В.В., Моренков О.С. «УЧАСТИЕ КЛЕТОЧНЫХ ГЕПАРАНСУЛЬФАТОВ В СВЯЗЫВАНИИ БЕЛКА ТЕПЛООВОГО ШОКА 90 (HSP90) НА ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЕ КЛЕТОК», Пущино, Россия.
- 11) Морозов И.Д., Крылова Е.В. «ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ МАТОЧНОГО МОЛОЧКА И УБИХИНОНА-10 НА СПЕРМОГРАММУ КРЫС ПРИ СТРЕССЕ», Пущино, Россия.
- 12) Трясучев А.В., Ступин В.О., Зиновьева К.И., Курьянова Е.В. «ВЛИЯНИЕ СТИМУЛЯЦИИ И БЛОКАДЫ β -АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ГЕМОЛИЗА ЭРИТРОЦИТОВ», Астрахань, Россия.
- 13) Филюшкин Ю.Н., Тарасов И.В., Куликова П.А. «СОЗДАНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ПЕРВИЧНОГО МУЖСКОГО ГИПОГОНАДИЗМА И ТРАНСПЛАНТАЛОГИЧЕСКИЙ ПОДХОД ЕГО КОРРЕКЦИИ », Москва, Россия.
- 14) Четверина Е.В., Гордеев А.А., Четверин А.Б. «МОНОСЛОЙНАЯ 3D-КУЛЬТУРА ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ КЛЕТОК», Пущино, Россия.
- 15) Ясунова О.С., Горобч О.А., Николов О.Т., Гаташ С.В., Смолянинова Е.А. «ДИЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВОДНЫХ РАСТВОРОВ КРИОПРОТЕКТОРОВ», Харьков, Украина.

Постерная сессия «Клеточная биология и биомедицина»

- 1) Бриллиант А.А., Сазонов С.В., Засадкевич Ю.М. «СВЯЗЬ РЕЦЕПТОРНОГО СТАТУСА И ПРОЛИФЕРАЦИИ КЛЕТОК КАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ», Екатеринбург, Россия.

- 2) Бухарина А.Ю., Храмцова Ю.С. «МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЕЛЕЗЕНКИ И ТИМУСА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПАХ ПОВРЕЖДЕНИЯ ГЕМАТОТЕСТИКУЛЯРНОГО БАРЬЕРА», Екатеринбург, Россия.
- 3) Бухарина А.Ю., Храмцова Ю.С. «МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЕЛЕЗЕНКИ И ТИМУСА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПАХ ПОВРЕЖДЕНИЯ ГЕМАТОТЕСТИКУЛЯРНОГО БАРЬЕРА», Екатеринбург, Россия.
- 4) Буравкова Л.Б., Андреева Е.Р. «МУЛЬТИПОТЕНТНЫЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТРОМАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ И ГИПОКСИЯ», Москва, Россия.
- 5) Булавинцева Т.С. «ЗАВИСИМОСТЬ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ В-КЛЕТОК ОТ ИНТЕНСИВНОСТИ СЕКРЕЦИИ ИНСУЛИНА ПАНКРЕАТИЧЕСКИМ ОСТРОВКОМ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ», Екатеринбург, Россия.
- 6) Волохина И.В., Гусев Ю.С., Мазилев С.И., Чумаков М.И. «НАКОПЛЕНИЕ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ КЛЕТКАМИ HELA И СПЭВ В ПРИСУТСТВИИ БЕЛКА VIRE2», Саратов, Россия.
- 7) Верещагина К.П., Шатилина Ж.М., Аксенов-Грибанов Д.В. «ВЛИЯНИЕ ГРАДИЕНТНОЙ ГИПЕРТЕРМИИ НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ И ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ У АМФИПОД GAMMARUS LACUSTIS SARS ИЗ МЕРОМИКТИЧЕСКОГО ОЗ. ШИРА», Иркутск, Россия.
- 8) Вечкапова С.О., Сорокоумов Е.Д., Проскура А.Л., Запара Т.А., Ратушняк А.С. «ВЛИЯНИЕ АМИДА ЛАМБЕРТИАНОВОЙ КИСЛОТЫ НА БАЛАНС ТОРМОЗНЫХ И ВОЗБУЖДАЮЩИХ МЕДИАТОРНЫХ СИСТЕМ ГИППОКАМПА МЫШИ», Новосибирск, Россия.
- 9) Глазков А.А., Куликов Д.А., Лапитан Д.Г., Рогаткин Д.А. «РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМОВ ПОВЫШЕНИЯ ИНФОРМАТИВНОСТИ МЕТОДА ЛАЗЕРНОЙ ДОПЛЕРОВСКОЙ ФЛОУМЕТРИИ», Москва, Россия.
- 10) Дыдыкина В.Н., Ерёмин Ю.Д., Паратова М. П. «АНАЛИЗ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ НАНОСТРУКТУРИРОВАННОГО КОМПЛЕКСА ХИТОЗАН-ПЧЕЛИНЫЙ ЯД-НАНОЧАСТИЦЫ ЗОЛОТА НА ЖИВОТНЫХ С ПЕРЕВИТОЙ ОПУХОЛЬЮ ШТАММА РС-1 ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ И ИНЪЕКЦИОННОМ СПОСОБАХ ПРИМЕНЕНИЯ», Нижний Новгород, Россия.
- 11) Жорник Е.В., Зайцева А.В., Баранова Л.А. «МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОТВЕТЫ ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА ПОД ВЛИЯНИЕМ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ТИТАНА», Минск, Беларусь.
- 12) Зорина И.И., Власова Ю. А., Аврова Н.Ф. «ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ АНАЛОГОВ ЭСТРОГЕНОВ НА КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК ФЕОХРОМОЦИТОМЫ (PC12)», Санкт-Петербург, Россия.
- 13) Измайлов А.А., Сафиуллов З.З., Шарифуллина Г.А., Соловьёва В.В., Федотова В.Ю., Салафутдинов И.И., Баширов Ф.В., Калигин М.С., Абдулхаков С.Р., Киясов А.П., Ризванов А.А., Исламов Р.Р. «ИССЛЕДОВАНИЕ ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ТРАНСГЕННЫХ G93A МЫШЕЙ ПОСЛЕ КСЕНОТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ КЛЕТОК МОНОНУКЛЕАРНОЙ ФРАКЦИИ ПУПОВИННОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА И АДЕНОВИРУСНОГО ВЕКТОРА, КОДИРУЮЩЕГО СОСУДИСТЫЙ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫЙ ФАКТОР РОСТА (VEGF)», Казань, Россия.
- 14) Кравченко П.Н., Олейник Е.К., Жулай Г.А., Чуров А.В., Олейник В.М., Островский К.А. «ОЦЕНКА КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ

- ОСТРЫМ ПАНКРЕАТИТОМ: РОЛЬ РЕГУЛЯТОРНЫХ Т-КЛЕТОК», Петрозаводск, Россия.
- 15) Кузнецова М.С., Лопатникова Ю.А. «ВЫДЕЛЕНИЕ И НАРАБОТКА АНТИГЕНСПЕЦИФИЧЕСКИХ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ Т-ЛИМФОЦИТОВ», Новосибирск, Россия.
- 16) Куликова П.А., Филюшкин Ю.Н., Егоян Г.Г. «КОРРЕКЦИИ ИММУННЫХ ДЕФЕКТОВ И УВЕЛИЧЕНИЯ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ», Москва, Россия.
- 17) Кушнина Д.А., Дорофеева Н.В. «НИКЕЛЯ (II) И ОКСИДА МАРГАНЦА (II, III) НА КУЛЬТУРЕ ФИБРОБЛАСТОВ ЧЕЛОВЕКА», Екатеринбург, Россия.
- 19) Латыева О.О., Шуряева А.К. «ИССЛЕДОВАНИЕ ИНТЕРЛЕЙКИНА IL-17A И IL-17F У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА», Новосибирск, Россия.
- 20) Люндуп А.В., Николенко В.Н., Онищенко Н.А. «БИОМЕДИЦИНСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ФИБРОЗОВ ПЕЧЕНИ», Москва, Россия.
- 21) Маковский А.А., Данилова Н.В. «ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАРКЕРОВ ПРОГНОЗА КОНСЕРВАТИВНОГО ЛЕЧЕНИЯ ПРЕДРАКА И РАННЕГО РАКА ЭНДОМЕТРИЯ», Москва, Россия.
- 22) Назаров А.С., Духовлинов И.В., Симбирцев А.С. «ПОЛУЧЕНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В СОСТАВЕ ДНК-ВАКЦИНЫ ХИМЕРНОГО ГЕНА NAVG-1-8, КОДИРУЮЩЕГО ПОЛИПЕПТИД, СОДЕРЖАЩИЙ ОСНОВНЫЕ АНТИГЕННЫЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ АЛЬФА, БЕТА И ГАММА-ГЕРПЕСВИРУСОВ», Санкт-Петербург, Россия.
- 23) Орлов Д.С., Рязанцева Н.В., Степовая Е.А., Носарева О.Л., Иванов В.В., Шахристова Е.В. «АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ ЛИНИИ P19 ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ГИПОКСИИ IN VITRO», Томск, Россия.
- 24) Палутина О.А. «НЕФРОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ФЕРМЕНТА-АНТИОКСИДАНТА ПЕРОКСИРЕДОКСИН-6-СУПЕРОКСИДИДСМУТАЗЫ И КОНДИЦИОНИРОВАННОЙ СРЕДЫ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА СОСТОЯНИЕ ПОЧЕК ПРИ ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРФУЗИОННОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ТКАНЕЙ», Пущино, Россия.
- 25) Пуховская В.С., Зеленихин П.В. «ИНДУКЦИЯ АПОПТОЗА КЛЕТОК ОПУХОЛЕЙ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ БИНАЗОЙ», Казань, Россия.
- 26) Почевалова Т.И. «ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ОРГАНЫХ И ТКАНЕВЫХ ЭКСТРАКТОВ В КАЧЕСТВЕ КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ СОСТАВЛЕНИЯ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД», Астрахань, Россия.
- 27) Румянцев А.А., Покатаев И.А., Румянцев Н.А., Таратута Т.В. «ВЕНОЗНЫЙ ТРОМБОЭМБОЛИЗМ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ПАЦИЕНТОВ: ПРОБЛЕМЫ ПРОФИЛАКТИКИ И ТЕРАПИИ», Москва, Россия.
- 28) Сабиров А.Х., Нгуен Тхи Нят Тханг, Пугачев М.Б., Штырлин Н.В., Мифтахова Р.Р., Иксанова А.Г., Штырлин Ю.Г. «РЕГУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА КЛЕТОК АДЕНОКАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ПОМОЩЬЮ НОВОГО ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКОГО СОЕДИНЕНИЯ», Казань, Россия.
- 29) Сульдина Л.А., Морозова К.Н., Мензоров А.Г., Кизилова Е.А., Короткевич Е.Ю., Голубица А. Н., Железова А. И., Киселева Е. В. «МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПАРАМЕТРОВ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ КЛЕТОК ЭМБРИОНА МЫШИ В ПРОЦЕССЕ ПОЛУЧЕНИЯ НОВЫХ ЛИНИЙ ЭСК», Новосибирск, Россия.

- 30) Сырвачева Д.А. «СИНТЕЗ СОПОЛИМЕРОВ 3-ГИДРОКСИБУТИРАТА-СО-3-ГИДРОКСИГЕКСАНОАТА ВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИМИ БАКТЕРИЯМИ RALSTONIA EUTROPHА», Красноярск, Россия.
- 31) Татарникова О. Г., Орлов М.А., Кленяева А.Н., Чупров-Неточин Р.Н. «КЛЕТОЧНАЯ МОДЕЛЬ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ТОКСИЧЕСКОЙ ФОРМЫ ТАУ-БЕЛКА (4R ФОРМЫ) И БЕТА-АМИЛОИДНОГО ПЕПТИДА (1-42). ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ БТШ70», Пушкино, Россия.
- 32) Филюшкин Ю.Н. «МОДЕЛИРОВАНИЕ И РАЗРАБОТКА СПОСОБА КОРРЕКЦИИ ЭНКОПРЕЗА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ», Москва, Россия.
- 33) Филюшкин Ю.Н., Тарасов И.В., Егоян Г.Г. «ТРАНСПЛАНТОЛОГИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ПОИСКУ ГЕРОПРОТЕКТОРОВ И КОМПЕНСАЦИИ ЭНКОПРЕЗА», Москва, Россия.
- 34) Ференчук Е.А., Бевзо В.В. «АКТИВНОСТЬ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ СЛЮНЫ ПРИ ИНТЕНСИВНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗКАХ», Черновцы, Украина.
- 35) Шарипова Г.Ж., Аюпова А.Ж., Молдагулова Н.Б. «ИЗУЧЕНИЕ КИНЕТИКИ РОСТА НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ БАКТЕРИЙ РОДА RHODOSPIRILLUM», Астана, Казахстан.
- 36) Шпичка А.И., Королева А., Чичков Б. «РАЗРАБОТКА МИКРОФЛЮИДОВ НА ОСНОВЕ ГИДРОГЕЛЕЙ ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ», Пенза, Россия.
- 37) Шурыева А.К., Латыева О.О. «ИССЛЕДОВАНИЕ ДОФАМИН- β -ГИДРОКСИЛАЗЫ (ДВН) У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА», Новосибирск, Россия.
- 38) Шубина Л.В., Кичигина В.Ф. «ВЛИЯНИЕ КАННАБИНОИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА АКТИВНОСТЬ ЛИМБИЧЕСКИХ СТРУКТУР МОЗГА И ЭПИЛЕПТИЧЕСКИЙ СТАТУС У МОРСКИХ СВИНОК», Пушкино, Россия.
- 39) Ясунова О.С., Горобч О.А., Николов О.Т., Гаташ С.В., Смолянинова Е.А. «РАЗЛИЧИЯ ДИЭЛЕКТРИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ КРИОПРОТЕКТОРОВ».

Вторник, 08 декабря 2015

09:00 – 17:00 - Секция «Биофизика и радиобиология»

13:00 – 14:00 – Обед

17:00 – 18:00 – Круглый стол. Обсуждение вопросов.

15:00 – 17:00 – Постерная сессия

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ

Секция «Биофизика и радиобиология»

09:00 – 10:45

- 1) Богачева Е.В., Евдокимова М.П., Перов С.Ю. «ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ДОЗИМЕТРИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ», Москва, Россия.
- 2) Гречухина А.К. «ВЛИЯНИЕ ХЛОРИДА И СУЛЬФАТА НИКЕЛЯ НА ЛИМФОЦИТЫ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА», Москва, Россия.
- 3) Иванов В.Е., Карп О.Э., Брусков В.И., Гудков С.В. «ОБРАЗОВАНИЕ ДОЛГОЖИВУЩИХ АКТИВНЫХ ФОРМ БЕЛКОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ТЕПЛА », Пушкино, Россия.

- 4) Котова П.Д. «МЕХАНИЗМЫ ТРАНСДУКЦИИ АДРЕНЕРГИЧЕСКИХ И ПУРИНЕРГИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ В МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА», Пушино, Россия.
- 5) Матусевич В.А., Готько О.В. «ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ERCC1, TOP1, TOP2A И MDR1 У ПАЦИЕНТОВ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО», Минск, Беларусь.
- 6) Майоров С.А. «РЕГЛАМЕНТАЦИЯ ТЕМПЕРАТУРНЫХ РЕЖИМОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАХ НА ПЛАНАРИЯХ», Пушино, Россия.
- 7) Митошин И.А., Петров А.Б. «ИНФОРМАЦИОННО-БИБЛИОГРАФИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ НАУКИ», Москва, Россия.

11:00 – 11:15 – Кофе-брейк

11:15 – 13:00

- 8) Никифорова А. Б., Круглов А.Г. «НАДН-ЗАВИСИМАЯ РЕДУКТАЗА РЕДОКС-АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ВНЕШНИХ ОТДЕЛОВ МИТОХОНДРИЙ: ЦИТОХРОМ B5 РЕДУКТАЗА (R3) ИЛИ VDAC1», Пушино, Россия.
- 9) Петрушина Е.В. «ЗУЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ МЕТАБОТРОПНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ГЛУТАМАТА ПРИ ЭКСАЙТОТОКСИЧНОСТИ», Пушино, Россия.
- 10) Попов А.Л., Попова Н.Р., Ермаков А.Г. «НАНОЧАСТИЦЫ CeO_2 СПОСОБНЫ МОДУЛИРОВАТЬ ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ И ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ», Пушино, Россия.
- 11) Решетников Д.А., Рысцов Г.К., Чернов А.С. «ДИФФЕРЕНЦИРОВКА ЭМБРИОНАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК МЫШИ В КАРДИОМИОЦИТЫ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ПЕПТИДОВ ИММУНОГЛОБУЛИНОВОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ», Пушино, Россия.
- 12) Рысцов Г.К., Решетников Д.А., Чернов А.С. «ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ СВЕТА НА МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ НАТИВНЫХ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ КЛЕТОК», Пушино, Россия.
- 13) Серяпина А.А., Шевелев О.Б. «ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ В ИЗУЧЕНИИ ФОРМИРОВАНИЯ ГИПЕРТЕНЗИВНОГО СТАТУСА У КРЫС ЛИНИИ НИСАГ», Новосибирск, Россия.
- 14) Сорокина С.С., Заичкина С.И., Розанова О.М., Смирнова Е.Н., Дюкина А.Р., Шемяков А.Е., Балакин В.Е. «БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ ПРОТОННОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА МЫШАХ *IN VIVO*», Пушино, Россия.
- 15) Тарасов М.В., Котова П.Д., Рогачевская О.А., Сысоева В.Ю. «ИДЕНТИФИКАЦИЯ K^+ КАНАЛОВ ТРЕК-2 В МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА», Пушино, Россия.

13:00 – 14:00 – Обед

14:00 – 16:00

- 16) Тхор Е.С. «ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ pH СРЕДЫ НА СТРУКТУРУ ГЕМА ГЕМОГЛОБИНА МЕТОДАМИ СПЕКТРОСКОПИИ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ И МЁССБАУЭРОВСКОЙ СПЕКТРОСКОПИИ», Москва, Россия.

- 17) Фахранурова Л.И. «ФОТОПОВРЕЖДЕНИЕ РОГОВИЦЫ ГЛАЗА В УСЛОВИЯХ IN VITRO», Пушино, Россия.
- 18) Фирстова В.В., Зырина Е.В., Штанников А.В., Щит И.Ю., Бикетов С.Ф. «ВЫЯВЛЕНИЕ МАРКЕРОВ АКТИВАЦИИ ЛИМФОЦИТОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОРРЕЛИОЗА В СИСТЕМЕ IN VITRO», Оболенск, Россия.
- 19) Чернова Д. Н., Жилина В.А. «ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОЧАСТИЦ КРОВИ И ИХ ДИМЕРОВ С ПОМОЩЬЮ СКАНИРУЮЩЕГО ПРОТОЧНОГО ЦИТОМЕТРА», Новосибирск, Россия.
- 20) Шувалов Э.А., Мукминов М.Н., Whelan С., Хисматуллина Н.А «БИОМАРКЕРЫ В ДИАГНОСТИКЕ И ИССЛЕДОВАНИИ ПАТОГЕНЕЗА ТУБЕРКУЛЕЗА», Казань, Россия.
- 21) Юзиков Э.С., Садыков Э.С., Шкинев А.В., Султаналиева Н.М. «ДЕЙСТВИЕ ФРАКЦИЙ ЯДА NAJA OXIANA EICHWALD НА АДФ-ИНДУЦИРУЕМУЮ АГРЕГАЦИЮ ТРОМБОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА», Ташкент, Узбекистан.

17:00 – 18:00 – Круглый стол. Обсуждение вопросов.

Постерная секция «Биофизика и радиобиология»

- 1) Ааль А.А. «МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЯДРЫШЕК ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ, ПОДВЕРГАЮЩИХСЯ ДЛИТЕЛЬНОМУ ВЛИЯНИЮ ПОВЫШЕННЫХ ДОЗ ИЗЛУЧЕНИЯ РАДОНА», Кемерово, Россия.
- 2) Алабовский В.В., Богачева Е.В., Маслов О.В. «СОСТОЯНИЕ Na^+ - Ca^{2+} ОБМЕНА В ИЗОЛИРОВАННОМ СЕРДЦЕ КРЫСЫ В УСЛОВИЯ ЭКСПОЗИЦИИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫМ ПОЛЕМ», Воронеж, Россия.
- 3) Апанович Н.В., Коротаева А.А., Маркова А.С., Бавыкин А.С., Шубин В.П., Поярков С.В., Поспехова Н.И., Камолов Б.Ш., Матвеев В.Б., Карпухин А.В. «ИССЛЕДОВАНИЕ МАРКЕРОВ СВЕТЛОКЛЕТОЧНОГО РАКА ПОЧКИ НА ОСНОВЕ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРОФИЛЕЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ДЛЯ ИНДИВИДУАЛИЗАЦИИ ЛЕЧЕНИЯ», Москва, Россия.
- 4) Беленко А.А., Васильев С.А. «ОЦЕНКА СВЯЗИ МЕЖДУ ФОНОВЫМ УРОВНЕМ ФОКУСОВ γ НАХ И ИНДИВИДУАЛЬНОЙ РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА», Томск, Россия.
- 5) Белослудцев К.Н., Кондратьев М.С. «КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КОМПЛЕКСОВ Ca^{2+} С ОЛЕИНОВОЙ И ПАЛЬМИТИНОВОЙ КИСЛОТАМИ», Пушино, Россия.
- 6) Беровая А.Н. «ЭФФЕКТЫ РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННОГО СТАРЕНИЯ СЕМЯДОЛЬНЫХ ЛИСТЬЕВ LINUM USITATISSIMUM, ОБЛУЧЕННЫХ ОСТРОЙ РЕНТГЕНОВСКОЙ РАДИАЦИЕЙ», Киев, Украина.
- 7) Битаршвили С.В. «ИЗУЧЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ ФИТОГОРМОНАЛЬНОГО СТАТУСА В ДИНАМИКЕ ПРОРАСТАНИЯ СЕМЯН ЯЧМЕНЯ, ОБЛУЧЕННЫХ В СТИМУЛИРУЮЩИХ ДОЗАХ», Обнинск, Россия.
- 8) Бурмистрова Т.В., Каманина О.А., Хлебова Ж.Ю., Мачулин А.В. «ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРЫ ЗОЛЬ-ГЕЛЬ МАТРИЦЫ МЕТОДАМИ ОПТИЧЕСКОЙ И СКАНИРУЮЩЕЙ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ», Тула, Россия.
- 9) Ведрожицкий А.А., Дубинин М.В., Адакеева С.И., Самарцев В.Н. «ОСОБЕННОСТИ ИНДУКЦИИ Ca^{2+} -ЗАВИСИМОЙ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ

ПРОНИЦАЕМОСТИ ВНУТРЕННЕЙ МЕМБРАНЫ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ ЦЕСАРОК *NUMIDA MELEAGRIS L.*», Йошкар-Ола, Россия.

10) Вележов И.О., Шадрин Д.М., Пылина Я.И., Пыстина А.В., Шосталь О.А., Белых Е.С., Канева А.В., Ермакова О.В., Клоков Д.Ю. «РАЗЛИЧИЕ ЗАВИСИМОСТЕЙ ДОЗА-ЭКСПРЕССИЯ МЕЖДУ ГЕНАМИ СТРЕСС-ОТВЕТА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ В МАЛЫХ ДОЗАХ НА НОРМАЛЬНЫЕ ФИБРОБЛАСТЫ ЧЕЛОВЕКА», Сыктывкар, Россия.

11) Гаджимамаева А.А., Абдуллаев В.Р. «ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА МИТОХОНДРИИ ПЕЧЕНИ КРЫС», Махачкала, Россия.

12) Говорухина Ю.С., Зинченко А.В., Боброва Е.Н. «ВЛИЯНИЕ ФРАКЦИЙ ЭКСТРАКТОВ ПЛАЦЕНТЫ НА ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТЬ МЕМБРАНОСВЯЗАННЫХ БЕЛКОВ ЭРИТРОЦИТОВ», Харьков, Украина.

13) Демидова Н.А. «ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ГЕННОГО ПОЛИМОРФИЗМА -801G/A SDF1 В РАЗВИТИИ ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ЭНДОМЕТРИЯ», Белгород, Россия.

14) Дубинин М.В., Самарцев В.Н., Асташев М.Е., Белослудцев К.Н. «ИНДУКЦИЯ Ca²⁺-ЗАВИСИМОЙ ПРОНИЦАЕМОСТИ ЛИПОСОМ α , ω -ГЕКСАДЕКАНДИОЛОВОЙ КИСЛОТОЙ», Йошкар-Ола, Россия.

15) Евстратова Е.С., Омельченко А.О. «ЗАКОНОМЕРНОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ХИМИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ С ИОНИЗИРУЮЩИМ ИЗЛУЧЕНИЕМ И ГИПЕРТЕРМИЕЙ», Обнинск, Россия.

16) Ермакова А.А., Контаров Н.С., Юминова Н.В., Зверев В.В. «ИЗУЧЕНИЕ МЕМБРАННОГО МЕХАНИЗМА ПРОТИВОВИРУСНОГО ДЕЙСТВИЯ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТОВ (ПЭ) ПОЛИСТИРОСУЛЬФОНАТА СО СТЕПЕНЬЮПОЛИМЕРИЗАЦИИ 8 И ПОЛИАЛЛИЛАМИНА С МОЛЕКУЛЯРНОЙ МАССОЙ 6 КДА С ПОМОЩЬЮ ФОСФОЛИПИДНЫХ МОНОСЛОЕВ», Москва, Россия.

17) Ершкова В.В. «КОНСТРУИРОВАНИЕ БИОСОВМЕСТИМЫХ АССОЦИАТОВ НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА МЕТОДОМ «СЛОЙ-ЗА-СЛОЕМ», Новосибирск, Россия.

18) Жилфрид А.М., Петрова Е.А. «ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ КОМПЛЕКС «МАГНИТОЦИТОМЕТР» ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ДИНАМИКИ МАГНИТНЫХ СВОЙСТВ КЛЕТОК РАЗВИВАЮЩЕЙСЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ОПУХОЛИ», Минск, Беларусь.

19) Жорник Е.В., Баранова Л.А., Волотовский И.Д. «ТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ТИТАНА НА ЛИМФОЦИТЫ ЧЕЛОВЕКА», Минск, Беларусь.

20) Зайнабиддинов А.Э., Салимов Б.Т., Усманов П.Б. «ДЕЙСТВИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ АЛКАЛОИДОВ 15-АЦЕТОКСИАЗОМЕТИН АТИЗИНА И 15-ГИДРОКСИАЗОМЕТИН АТИЗИНА НА СОКРАТИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ПАПИЛЛЯРНОЙ МЫШЦЫ СЕРДЦА КРЫСЫ», Ташкент, Узбекистан.

21) Золотарев П.В., Александрова А.А., Довжик А.Д., Коваленко К.А., Куцын К.А., Ковалева А.В., Шкурат Т.П. «ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС – НОВЫЙ ПОДХОД В ОЦЕНКЕ РИСКОВ РАЗВИТИЯ ПАТАЛОГИЙ», Ростов-на-Дону, Россия.

22) Иванов В.Е., Галочкина Е.А., Черников А.В., Асташев М.Е., Брусков В.И. «ВЛИЯНИЕ СОЧЕТАННОГО ДЕЙСТВИЯ ИОНИЗИРУЮЩИХ И НЕИОНИЗИРУЮЩИХ ФАКТОРОВ ОБРАЗОВАНИЕ ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА В РАСТВОРАХ БИОЛОГИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ АНИОНОВ», Пушкино, Россия.

- 23) Козликов Е.А., Горшкова Т.А. «ОСОБЕННОСТИ РОСТА КЛЕВЕРА ПОСЛЕ ПРЕДПОСЕВНОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА РАДИОАКТИВНО ЗАГРЯЗНЕННОЙ ПОЧВЕ И В КОНТРОЛЕ», Обнинск, Россия.
- 24) Канева А.В., Белых Е.С., Майстренко Т.А., Шадрин Д.М., Пылина Я.И., Велегжанинов И.О. «ОЦЕНКА ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК В КЛЕТКАХ APORRECTODEA CALIGINOSA, ДЛИТЕЛЬНОЕ ВРЕМЯ ОБИТАЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ С ПОВЫШЕННЫМ СОДЕРЖАНИЕМ РАДИОНУКЛИДОВ В ПОЧВЕ», Сыктывкар, Россия.
- 25) Карп О.Э., Гудков С.В., Шелковская О.В., Галочкина Е.А., Брусков В.И. «ПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА ПРИ ПОСТУПЛЕНИИ ЕЕ В ОРГАНИЗМ ЖИВОТНЫХ ДО ВОЗДЕЙСТВИЯ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ», Пушино, Россия.
- 26) Карп О.Э., Усачева А.М., Куликов Д.А., Галочкина Е.А., Черников А.В., Иванов В.Е., Асташев М.Е., Брусков В.И., Гудков С.В. «АВТОКОЛЕБАТЕЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ БИОЛОГИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ АНИОНОВ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ (632,8 НМ)», Пушино, Россия.
- 27) Калинин Р.Е., Сучков И.А., Пшенников А.С. «ГЕНЫ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ», Рязань, Россия.
- 28) Конеев А. И. «МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЯДРА КЛЕТКИ ПРИ АПОПТОЗЕ: АНАЛИЗ КОНФОКАЛЬНЫХ ИЗОБРАЖЕНИЙ ОДИНОЧНЫХ КЛЕТОК И МОЛЕКУЛЯРНО-КИНЕТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ», Новосибирск, Россия.
- 29) Красулина А. Н., Кузин В. Ф. «ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ ОСНОВНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ПОЛИМЕРНЫХ МИКРОЧАСТИЦ С ПОМОЩЬЮ СКАНИРУЮЩЕГО ПРОТОЧНОГО ЦИТОМЕТРА», Новосибирск, Россия.
- 30) Кудаева И.В., Масनावиева Л.Б., Попкова О.В. «НЕЙРОХИМИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЛИЦ, ЭКСПОНИРОВАННЫХ РТУТЬЮ», Ангарск, Россия.
- 31) Лебедев И.Н., Кашеварова А.А., Скрыбин Н.А., Четкина Н.Н., Салюкова О.А., Назаренко Л.П. «ГЕНОМНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ИДЕНТИФИКАЦИИ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ПРИЧИН УМСТВЕННОЙ ОТСТАЛОСТИ: РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОЕКТА 7 РАМОЧНОЙ ПРОГРАММЫ ЕВРОСОЮЗА CHERISH», Томск, Россия.
- 32) Лукьянчикова Н.В. «ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ БЕЛКОВ NER-КОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЭКСТРАКТОВ С АНАЛОГАМИ СУБСТРАТА NER, СОДЕРЖАЩИМИ ФОТОАКТИВНОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ», Новосибирск, Россия.
- 33) Мартынов Е.С., Удалова А.А. «ИЗУЧЕНИЕ ОТДАЛЁННЫХ ПОСЛЕДСТВИЙ ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АВАРИИ НА ПОПУЛЯЦИЯХ СОСНЫ ПО MORFOLOGИЧЕСКИМ ПАРАМЕТРАМ ХВОИ», Обнинск, Россия.
- 34) Магдовалий М.М., Загирбекова А.А., Джафарова А.М., Халилов Р.А. «ТЕПЛОВАЯ ДЕНАТУРАЦИЯ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ИКРОНОЖНОЙ МЫШЦЫ КРЫС ПРИ ГИПОТЕРМИИ», Махачкала, Россия.
- 35) Мелехов В.В., Швырева У.С., Тимченко А.А., Озолинь О.Н. «КОНФОРМАЦИОННЫЕ ОСОБЕННОСТИ НАТИВНОГО БЕЛКА Dps, ЕГО АПО-ФОРМЫ И НАСЫЩЕННОГО ИОНАМИ ЖЕЛЕЗА», Пушино, Россия.
- 36) Мельницкая А.В., Крутецкая З.И., Бутов С.Н., Крутецкая Н.И., Антонов В.Г. «ИНГИБИТОР ФОСФОЛИПАЗЫ А2 4-БРОМФЕНАЦИЛБРОМИД ПОДАВЛЯЕТ ТРАНСПОРТ Na⁺ В КОЖЕ ЛЯГУШКИ», Санкт-Петербург, Россия.

- 37) Морозов А.В., Свечкина Е.Б., Хижкин Е.А., Илюха В.А., Матвеева Ю.П., Виноградова И.А. «СВЕТОВЫЕ РЕЖИМЫ РЕГУЛИРУЮТ АКТИВНОСТЬ ПАНКРЕАТИЧЕСКОЙ АМИЛАЗЫ У КРЫС», Петрозаводск, Россия.
- 38) Муханов А.А., Горшков О.В., Шаймарданова Г.Ф., Трушин М.В., Чернова О.А., Чернов В.М. «ПОСТГЕНОМИКА И ДИАГНОСТИКА НОВОГО КЛАССА ИНФЕКТОВ: БЕЛКИ И ГЕНЫ ЭКСТРАКЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАННЫХ ВЕЗИКУЛ МИКОПЛАЗМ», Казань, Россия.
- 39) Осипов М.В. «ПОИСК ПОДХОДОВ К ОЦЕНКЕ ВКЛАДА МЕДИЦИНСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ В КАНЦЕРОГЕННЫЙ РИСК У РАБОТНИКОВ ПО «МАЯК»», Озерск, Россия.
- 40) Панфилова В.В., Колганова О.И. «УСЛОВНО-РЕФЛЕКТОРНАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ПОТОМСТВА ПЕРВОГО ПОКОЛЕНИЯ САМЦОВ КРЫС, ПОДВЕРГШИХСЯ ОСТРОМУ ГАММА ОБЛУЧЕНИЮ ДОЗЕ 1 ГР», Обнинск, Россия.
- 41) Павлий С.А., Гулий О.И., Зайцев Б.Д., Шихабудинов А.М., Игнатов О.В. «МЕТОД ЭЛЕКТРОАКУСТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ БАКТЕРИОФАГОВ В ЖИДКОЙ ФАЗЕ», Саратов, Россия.
- 42) Польшинина А. А. «АДАПТИВНАЯ ПОЛЯРИЗАЦИОННАЯ НЕФЕЛОМЕТРИЯ КАК МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ», Новосибирск, Россия.
- 43) Пудовкина Е.Е., Плескова С.Н. «ГЕМОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НАНОЧАСТИЦ МАГНЕТИТА», Нижний Новгород, Россия.
- 44) Просолов С.О., Верещагина К.П., Гурков А.Н., Лубяга Ю.А., Щапова Е.П., Аксенов-Грибанов Д.В. «ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТЕМПЕРАТУРНОГО ОПТИМУМА ЛИТОРАЛЬНЫХ И ГЛУБОКОВОДНЫХ ВИДОВ АМФИПОД ОЗЕРА БАЙКАЛ И ПРИБАЙКАЛЬСКОГО РЕГИОНА ПО БИОХИМИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ СТРЕСС-ОТВЕТА», Иркутск, Россия.
- 45) Пылаев Т.Е., Ванжа Е.В., Дыкман Л.А., Богатырев В.А., Хлебцов Н.Г. «УВЕЛИЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПЦР С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЗОЛОТЫХ НАНОЧАСТИЦ», Саратов, Россия.
- 46) Решетников Д.А., Рысцов Г.А., Чернов А.С. «ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ПРЕОБРАЗОВАННОГО КРАСНОГО СВЕТА ($\lambda_{\text{MAX}}=632\text{NM}$) НА РАЗВИТИЕ РАННИХ ЭМБРИОНОВ МЫШИ IN VITRO», Пущино, Россия.
- 47) Самойлов А.Е., Горюнова Л.Е., Хаспеков Г.Л., Феоктистова Е.С., Кухарчук В.В., Козлов С.Г., Махмудова Х.А., Бибилашвили Р.Ш. «ПОИСК ГЕНОВ-МАРКЕРОВ ПОВЫШЕННОГО РИСКА РАЗВИТИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В КЛЕТКАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С АТЕРОСКЛЕРОЗОМ», Москва, Россия.
- 48) Смирнов С.Ю., Рябцева С.Н. «ЗНАЧИМОСТИ ЭКСПРЕССИИ ТКАНЕВЫХ АНТИГЕНОВ ПРИ ГАСТРОИНТЕСТИНАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ ОПУХОЛЯХ РАЗНОЙ СТЕПЕНИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ», Минск, Беларусь.
- 49) Сорокопудов Ю.В., Демкив И.Я., Лисничук Н.Е. «ИЗМЕНЕНИЯ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ В УСЛОВИЯХ ИНДУЦИРОВАННОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗА», Тернополь, Украина.
- 50) Сормачева Е.Д. «ИССЛЕДОВАНИЕ РЕАКЦИЙ ФОТОВОЗБУЖДЕННОЙ КИНУРЕНОВОЙ КИСЛОТЫ С КРИСТАЛЛИНАМИ», Новосибирск, Россия.
- 51) Степанян А., Захарян Р., Бояджян А. «АССОЦИАЦИЯ RS62117 ПОЛИМОРФИЗМА НЕТРИНА G1 С ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ», Ереван, Армения.

Международная конференция молодых ученых
«Проблемы современной физико-химической биологии»

- 52) Тихоненько Л.А. «ВЛИЯНИЕ БЕТА-АМИЛОИДНОГО ПЕПТИДА НА ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН В МОЛОДЫХ И СТАРЫХ ЭРИТРОЦИТАХ СТАРЫХ КРЫС», Пушино, Россия.
- 53) Хушматов Ш.С., Мавлянов С.М., Усманов П.Б. «ИНОТРОПНАЯ АКТИВНОСТЬ ФЛАВОНОИДОВ – КВЕРЦЕТИНА И РУТИНА», Ташкент, Узбекистан.
- 54) Парьева Е.С., Башкиров П.В., Синцов М.Ю., Антоненко Ю.Н., Чекашкина К.В. «ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ МЕХАНИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ОКИСЛЕННЫХ МЕМБРАН С ПОМОЩЬЮ ЛИПИДНЫХ НАНОТРУБОК», Москва, Россия.
- 55) Хало И.В., Строкотов Д.И., Чернышев А.В., Мальцев В.П. «КИНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ РАННИХ СТАДИЙ ПРОЦЕССА АПОПТОЗА МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК С ПОМОЩЬЮ СКАНИРУЮЩЕЙ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ», Новосибирск, Россия.
- 56) Чекмарина Д.А., Скардова В.А., Симонова З.А. «ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ СРЕДЫ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДОВ ФИТОИНДИКАЦИИ», Саратов, Россия.
- 57) Чернышова Е.С. «АКТИВАЦИЯ АНИОННЫХ ОБМЕННИКОВ ЭРИТРОЦИТА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ СУЛЬФАТА МАГНИЯ», Новосибирск, Россия.
- 58) Шкаров М.А., Уткин О.В., Сахарнов Н.А., Новиков Д.В., Янченко О.С., Новиков В.В. «ВСТРЕЧАЕМОСТЬ АЛЛЕЛЕЙ В СОСТАВЕ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ ПРОМОТОРА ГЕНА FAS/CD95 ПРИ РАКЕ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА», Нижний Новгород, Россия.
- 59) Шахмуров Г.А., Кучкарова Л.С. «ВЛИЯНИЕ НИТРАТОВ И НИТРИТОВ НА АКТИВНОСТЬ ПАНКРЕАТИЧЕСКОЙ АМИЛАЗЫ У КРЫС», Ташкент, Узбекистан.
- 59) Шувалов Э.А., Мукминов М.Н., Whelan С., Хисматуллина Н.А. «БИОМАРКЕРЫ В ДИАГНОСТИКЕ И ИССЛЕДОВАНИИ ПАТОГЕНЕЗА ТУБЕРКУЛЕЗА», Казань, Россия.
- 60) Юзиков Э.С., Садыков Э.С., Шкинев А.В., Султаналиева Н.М. «ДЕЙСТВИЕ ФРАКЦИЙ ЯДА NAJA OXIANA EICHWALD НА АДФ-ИНДУЦИРУЕМУЮ АГРЕГАЦИЮ ТРОМБОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА», Ташкент, Узбекистан.

Среда, 09 декабря 2015

09:00 – 14:00 - Секция «Биохимия»

14:00 – 15:00 – Подведение итогов конференции

15:00 – 16:00 – Закрытие конференции.

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ

Секция «Биохимия»

9:00 – 11:00

- 1) Алесова Н.М., Кандрашкина Ю.С., Кузьмичева Л.В., Тютяев Е.В. «ИЗМЕНЕНИЯ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ НАНОЧАСТИЦ КОЛЛОИДНОГО СЕРЕБРА IN VITRO», Саранск, Россия.

- 2) Ганчарова О.С., Манских В.Н. «ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЛЕЗНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС КАК МОДЕЛЬ СИНДРОМА СУХОГО ГЛАЗА», Москва, Россия.
- 3) Зимин Ф.А., Зимин А.А. «ОБНАРУЖЕНИЕ АМИНОКИСЛОТНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ПОЛИНУКЛЕОТИДЛИГАЗ В БАЗЕ ДАННЫХ БЕЛКОВ МОРСКОЙ ПЛАНКТОНИЧЕСКОЙ МИКРОБИОТЫ, ПОЛУЧЕННЫХ В РЕЗУЛЬТАТЕ ЭКСПЕДИЦИИ SORCERER II GLOBAL OCEAN SAMPLING», Пущино, Россия.
- 4) Иванов А.А., Люкманова Е.Н., Кондратов И.Г., Веремейчик Г.Н., Мазейка А.Н., Санина Н.М., Костецкий Э.Я. «СИНТЕЗ С-КОНЦЕВЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ БЕЛКА Е ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА (ВКЭ) И АНАЛИЗ ИХ ИММУНОГЕННОСТИ В СОСТАВЕ ТУБУЛЯРНОГО ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩЕГО КОМПЛЕКСА», Москва, Россия.
- 5) Кудрякова И.В., Сузина Н.Е., Цфасман И.М., Васильева Н.В. «ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ СЕКРЕТИРУЕМОЙ ЛИТИЧЕСКОЙ ЭНДОПЕПТИДАЗЫ В БИОГЕНЕЗЕ ВЕЗИКУЛ *LYSOBACTER SP. XL1*», Пущино, Россия.
- 6) Лахина А.А., Маркевич Л.Н., Коломийцева И.К. «ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ И ХОЛЕСТЕРИН ЯДЕР ПЕЧЕНИ ПРИ ЗИМНЕЙ СПЯЧКЕ ЯКУТСКОГО СУСЛИКА», Пущино, Россия.

11:00 – 11:15 – Кофе брейк

11:15 – 14:00

- 7) Пешкова А.Д., Ле МиньЖ., Невзорова Т.А. «ОЦЕНКА УРОВНЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА У ДЕТЕЙ БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1 ТИПА», Казань, Россия.
- 8) Салтыкова И.В., Петров В.А., Логачева М.Д., Иванова П.Г., Огородова Л.М., Н.В. Мерзликин, Бриндли П.Дж., Сазонов А.Э. «ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОТЫ ЖЕЛЧИ ПРИ ИНВАЗИИ *OPISTHOCHEILIS FELINEUS*», Томск, Россия.
- 9) Соболева А.В., Колобов А.А., Гришина Т.В. «ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ ИЗ КУЛЬТУРЫ *LACTOBACILLUS PLANTARUM 8PA-3*», Санкт-Петербург, Россия.
- 10) Смирнова Е.О., Горина С.С., Мухтарова Л.Ш., Топоркова Я.Ю., Гоголев Ю.В., Гречкин А.Н. «ПЕРВИЧНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СЕМЕЙСТВА *CYR74* ПЛАУНКА *SELAGINELLA MOELLENDORFII*», Казань, Россия.
- 11) Тищенко А.В., Костина Л.В. «ВЛИЯНИЕ ИОНОВ СВИНЦА НА ФИТОТОКСИЧНОСТЬ СЕМЯН В ПРИСУТСТВИИ *RHODOCOCCUS-BIOSURFACTANTOV*», Пермь, Россия.
- 12) Хусаинов Р.В. «ФАУНА НЕМАТОД РОДА *PANAGROBELUS* (*PANAGROLAIMIDAE*) НА ТЕРРИТОРИИ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ», Москва, Россия.
- 13) Шипова А.В., Шестакова Е.А. «МИКРОБНОЕ СООБЩЕСТВО ШЛАМА ХРАНИЛИЩА СОЛЕДОБЫВАЮЩЕГО ПРЕДПРИЯТИЯ», Пермь, Россия.

Постерная секция «Биохимия»

- 1) Абдулжанова М.А., Кистаубаева А.С. «БИОКОНВЕРСИЯ ЦЕЛЛЮЛОЗОСОДЕРЖАЩИХ СУБСТРАТОВ», Алматы, Казахстан.

- 2) Астаева М.Д., Исмаилова Ж.Г. «МНОГОКРАТНАЯ ГИПОТЕРМИЯ СНИЖАЕТ РИСК СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В МОЗГЕ», Махачкала, Россия.
- 3) Бажутин Г.А., Ноговицина Е.М. «ОПТИМИЗАЦИЯ СТЕРЕОЛТРАНСФОРМИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ КЛЕТОК РОДОКОККОВ», Пермь, Россия.
- 4) Боброва А.Е., Кристофферсен Й.Б. «МЕТАГЕНОМНЫЙ 16 S рНК АНАЛИЗ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ МОРСКИХ ЛИМАНОВ В ОДЕССКОЙ ОБЛАСТИ», Одесса, Украина.
- 5) Бурлуцкая Е.Ю. «СИНТЕЗ И ДЕГРАДАЦИЯ ЗАПАСНЫХ ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТОВ У БАКТЕРИЙ», Пермь, Россия.
- 6) Ваньков П.Ю., Зиганшина ЭЭ., Зиганшин А.М. «АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ КУЛЬТИВИРУЕМОГО БАКТЕРИАЛЬНОГО СООБЩЕСТВА КИШЕЧНОГО ТРАКТА ЛИЧИНОК НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ЖУКОВ-КСИЛОФАГОВ», Казань, Россия.
- 7) Верховский Р.А., Абалымов А.А., Глинская Е.В. «БАКТЕРИИ РОДА *BACILLUS*, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ОРГАНИЗМОМ ЯБЛОННОЙ ТЛИ (*ARNIS POMI DE GEER, 1773*)», Саратов, Россия.
- 8) Войцеховская И.В., Аксёнов-Грибанов Д.В., Протасов Е.С. «АНАЛИЗ СПОСОБНОСТИ ШТАММОВ БАЙКАЛЬСКИХ АКТИНОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ЭНДЕМИЧНЫХ МАКРОБЕСПОЗВОНОЧНЫХ, К ПРОДУЦИРОВАНИЮ НОВЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ», Иркутск, Россия.
- 9) Гагарских О.Н., Корсакова Е.С. «БАКТЕРИИ РОДА *ARTHROBACTER* ИЗ РАЙОНА СОЛЕРАЗРАБОТОК ВЕРХНЕКАМСКОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ (ПЕРМСКИЙ КРАЙ)», Пермь, Россия.
- 10) Гамидова Ф.Э. «БИОРАЗНООБРАЗИЕ МИКРОБНОЙ АССОЦИАЦИИ СМОРОДИНОВОЙ ТЛИ НА ТЕРРИТОРИИ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ», Саратов, Россия.
- 11) Герасимова Ю.С. «1-АМИНОЦИКЛОПРОПАН-1-КАРБОКСИЛАТДЕЗАМИНАЗЫ АЭРОБНЫХ МЕТИЛОТРОФОВ: БИОХИМИЧЕСКИЕ И ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ», Пушкино, Россия.
- 12) Демидова Е.В. «ПОЛУЧЕНИЕ ПОЛНОГЕНОМНОЙ ПЛАЗМИДЫ, СОДЕРЖАЩЕЙ КОПИЮ ГЕНОМА АДЕНОВИРУСА 6-ГО СЕРОТИПА, ДЛЯ ПОСЛЕДУЮЩЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В РАЗРАБОТКЕ СРЕДСТВА ПРОТИВОРАКОВОЙ ТЕРАПИИ», Новосибирск, Россия.
- 13) Зайнутдинов С.С. «СПЕКТР АДАПТИВНЫХ МУТАЦИЙ ВИРУСА СЕНДАЙ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК», Новосибирск, Россия.
- 14) Зиганшина Э.Э., Белостоцкий Д.Е., Ильинская О.Н., Зиганшин А.М. «ЭФФЕКТ УВЕЛИЧЕНИЯ НАГРУЗКИ ПО ОРГАНИКЕ И ВНЕСЕНИЯ ЦЕОЛИТОВ НА РАЗВИТИЕ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА, ОТВЕТСТВЕННОГО ЗА АНАЭРОБНУЮ ПЕРЕРАБОТКУ КУРИНОГО ПОМЕТА», Казань, Россия.
- 15) Зонов Е.В., Кочнева Г.В. «ПРОТИВООПУХОЛЕВОЕ ДЕЙСТВИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АПОПТИН-ПРОДУЦИРУЮЩЕГО ВИРУСА ОСПОВАКЦИНЫ НА КАРЦИНОМУ ЭРЛИХА МЫШЕЙ», Новосибирск, Россия.
- 16) Ибрагимов Э.М. «ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ИСТОЧНИКОВ УГЛЕРОДА НА БИОТРАНСФОРМАЦИЮ 2,4,6-ТРИНИТРОТОЛУОЛА», Казань, Россия.

- 17) Ибрагимова М.Я., Шакирова Р.И., Жданов Р.И. «БИОМАРКЕРЫ ОБЩИХ И ДНК-СВЯЗАННЫХ ЛИПИДОВ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНОЙ И ГРАМПЛОЖИТЕЛЬНОЙ БАКТЕРИЙ», Казань, Россия.
- 18) Искандаров А.И., Абдуллаев И.И., Рахимбаева Ф.Р. «ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ ПИЩЕВАРЕНИЯ ТЕРМИТОВ РОДА *ANACANTHOTERMES JACOBSON*, 1904”, Ургенч, Узбекистан.
- 19) Капустина Ю.М., Мороз И.В. «ВЛИЯНИЕ КОЛИЧЕСТВА И КАЧЕСТВА ПОСЕВНОГО МАТЕРИАЛА НА ОБРАЗОВАНИЕ ЦЕЛЛЮЛАЗЫ *TRICHODERMA SP.*», Минск, Беларусь.
- 20) Карташов М. Ю., Тупота Н.Л., Москвитина Н.С., Терновой В.А., Микрюкова Т.П., Локтев В.Б. «ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ИЗОЛЯТОВ РИККЕТСИЙ, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ», Томск, Россия.
- 21) Кергенцев А.А., Новикова Ю.И., Дмитриева И.Б. «ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ХЛОРИДА КАЛИЯ НА СОРБЦИЮ Н⁺ И ОН⁻ ИОНОВ НА ЖЕЛАТИНЕ, КАЗЕИНЕ И АЛЬБУМИНЕ», Санкт-Петербург, Россия.
- 22) Кобылянская О.Н., Шмараков И.А. «БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГЕПАТОСТЕАТОЗА ПРИ ОТСУТСТВИИ ЗАПАСОВ ВИТАМИНА А», Черновцы, Украина.
- 23) Комлева Н.В., Балакина А.А., Лапшина М.А., Сень В.Д., Терентьев А.А. «ЦИТОТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ АМИНОНИТРОКСИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ПЛАТИНЫ (IV) НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ MCF7», Черногловка, Россия.
- 24) Крюкова М.В., Тamarкин М.А., Клушина Д.Д., Лисов А.С., Липкин А.В. «ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ N-ТЕРМИНАЛЬНЫХ ТАГОВ НА АВТОУБИКВИТИНИРОВАНИЕ E3 УБИКВИТИН ЛИГАЗЫ ПАРКИН И ЕГО TV7 СПЛАЙС ВАРИАНТ», Москва, Россия.
- 25) Конев А.И., Серебренникова М.К. «ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ПЦР ДЛЯ ВИДОВОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ АКТИНОБАКТЕРИЙ РОДА *RHODOCOCCLUS*», Пермь, Россия.
- 26) Копыльчук Г.П., Бучковская И.М., Островская Ю.К. «ОСОБЕННОСТИ ТРАНССУЛЬФИРОВАНИЯ ГОМОЦИСТЕИНА В ГЕПАТОЦИТАХ КРЫС В УСЛОВИЯХ БЕЛКОВОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ», Черновцы, Украина.
- 27) Коршунова И.О. «АКТИВАЦИЯ РАБОТЫ ЭФФЛЮКСНЫХ НАСОСОВ КАК ВОЗМОЖНЫЙ МЕХАНИЗМ УСТОЙЧИВОСТИ РОДОКОККОВ К ОРГАНИЧЕСКИМ РАСТВОРИТЕЛЯМ», Пермь, Россия.
- 28) Малькеева Д.А., Жукова М.В., Киселева Е.В. «ЗАВИСИМОСТЬ ЧИСЛЕННОСТИ СИМБИОТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ *WOLBACHIA* В МОЗГЕ *DROSOPHILA MELANOGASTER* ОТ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ХОЗЯИНОМ ГЕНА БЕЛКА ТЕПЛООВОГО ШОКА HSP67BC», Новосибирск, Россия.
- 29) Меликян А.А., Усубова Е.З. «СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ЭПИФИТНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ РИЗОСФЕРЫ *ARTEMISIA SALSOLOIDES WILLD*», Волгоград, Россия.
- 30) Морозов И.Д., Крылова Е.В. «ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ВЛИЯНИЯ МАТОЧНОГО МОЛОЧКА ПЧЕЛ И Q-10 ПРИ АДРЕНАЛИНОВОЙ АРИТМИИ У КРЫС», Н.Новгород, Россия.
- 31) Патрушев Ю.В., Соловьева В.В., Салафутдинов И.И., Исламов Р.Р., Ризванов А.А. «ГЕНЕТИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК ПУПОВИННОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА *EX VIVO* РЕКОМБИНАНТНЫМИ АДЕНОВИРУСАМИ», Казань, Россия.

- 32) Петров С.В., Купряшина М.А. «ЛИГНИНДЕГРАДИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ АЗОСПИРИЛЛ», Саратов, Россия.
- 33) Пудовкин Н.А., Смутнев П.В. «ОСОБЕННОСТИ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ОРГАНИЗМЕ СЫЧА ВОРОБЬНОГО (*GLAUCIDUM PASSERINUM L.*, 1758)», Саратов, Россия.
- 34) Попов В.П., Дружинина Т.В., Каменчук Я.А., Завадовская В.Д., Акбашева О.Е., Фомина С.В. «ПРИМЕНЕНИЕ НАНОРАЗМЕРНЫХ БИОАКТИВНЫХ ИМПЛАНТАНТОВ ПРИ ПЕРЕЛОМАХ КОСТИ», Томск, Россия.
- 35) Протасов Е.С., Войцеховская И.В., Аксенов-Грибанов Д.В. «ОЦЕНКА АНТИБИОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТОВ ШТАММОВ АКТИНОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ БАЙКАЛЬСКИХ ЭНДЕМИЧНЫХ АМФИПОД», Иркутск, Россия.
- 36) Пьянкова А.А., Карташова Ю.А. «МИКРООРГАНИЗМЫ В СОЛЯНЫХ ПОРОДАХ ВЕРХНЕКАМСКОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ (ПЕРМСКИЙ КРАЙ)», Пермь, Россия.
- 37) Сергеева Ю.П., В. Ю. Горшков, А. Г. Даминова, Ю. В. Гоголев «АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ СТРАТЕГИИ АДАПТАЦИИ БАКТЕРИЙ В УСЛОВИЯХ ГОЛОДА», Казань, Россия.
- 38) Степанова А.А., Ерохов П.А., Шарова Н.П. «ОСОБЕННОСТИ СУБЪЕДИНИЧНОГО СОСТАВА РАЗНЫХ ФОРМ ПРОТЕАСОМ, ВЫЯВЛЕННЫЕ МЕТОДАМИ НАТИВНОГО И ДВУМЕРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА», Москва, Россия.
- 39) Старостина И.Г., Соловьева В.В., Ризванов А.А. «СОЗДАНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АДЕНОВИРУСА, ЭКСПРЕССИРУЮЩЕГО ГЕН ДИСФЕРЛИНА ЧЕЛОВЕКА», Казань, Россия.
- 40) Усанов П.С., Бурьгин Г.Л., Сигида Е.Н., Федоненко Ю.П., Хлебцов Б.Н., Щеголев С.Ю. «ИССЛЕДОВАНИЕ НАДМОЛЕКУЛЯРНЫХ ЧАСТИЦ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ БАКТЕРИЙ РОДА *AZOSPIRILLUM* МЕТОДОМ ДИНАМИЧЕСКОГО РАССЕЯНИЯ СВЕТА», Саратов, Россия.
- 41) Фарофонова В.В., Шестакова Е.А. «МИКРООРГАНИЗМЫ ПОЧВ, ДЛИТЕЛЬНО ЗАГРЯЗНЕННЫХ ХЛОРООРГАНИЧЕСКИМ ИНСЕКТИЦИДОМ ДДТ», Пермь, Россия.
- 42) Хусаинов А.М. «ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ВОДОЕМОВ НА ОСНОВЕ ДНК-ШТРИХКОДИРОВАНИЯ ИНДИКАТОРНЫХ ОРГАНИЗМОВ», Казань, Россия.
- 43) Шеримбетов А.Г., Шералиев А.Ш., Зохидов А.А., Сайитганиева З. «ДЕЙСТВИЕ МИКРОМИЦЕТОВ НА ВСХОЖЕСТЬ СЕМЯН И МОРФОЛОГИЮ ХЛОПЧАТНИКА», Узбекистан.
- 44) Швед Х.М., Кеца О.В., Петрик О.А. «ГЛУТАТИОН-S-ТРАНСФЕРАЗНАЯ И СУПЕРОКСИДИСМУТАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ В ПОСТМИКРОСОМАЛЬНОЙ ФРАКЦИИ ПЕЧЕНИ КРЫС В УСЛОВИЯХ РАЗНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ω -3 И ω -6 ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫМИ ЖИРНЫМИ КИСЛОТАМИ», Черновцы, Украина.

Секция «МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ»

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ У ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ СЕЛЕКЦИИ ТАТНИИСХ
АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ WxY-ГЕНОВ У ОБРАЗЦОВ**

^{1,2}Абдулина И.Р., ^{1,2}Вафин Р.Р., ¹Ржанова И.В., ¹Гараева А.Л., ²Асхадуллин Д.Ф.,
²Асхадуллин Д.Ф., ²Василова Н.З., ¹Зайнуллин Л.И.
¹ФГАО ВПО КФУ, Казань, Россия.
²ГНУ ТатНИИСХ Россельхозакадемии, Казань, Россия.

Целью настоящей работы являлась молекулярная идентификация перспективных генотипов яровой пшеницы селекции ТатНИИСХ по аллельным вариантам WxY-генов для создания сортов с высокими мукомольно-хлебопекарными качествами зерна. Проведена молекулярно-генетическая оценка 70 образцов яровой пшеницы преимущественно селекции ТатНИИСХ на предмет идентификации генотипов по аллельным вариантам WxY-генов методами ПЦР- и ПЦР-ПДРФ-анализа на основе общепринятых и разработанных нами способов генотипирования с дополнительным обоснованием достоверности полученных результатов исследования методом прямого секвенирования амплифицированных фрагментов ДНК.

По результатам молекулярно-генетической оценки на предмет идентификации генотипов по аллельным вариантам WxY-генов установлено, что из 70 проанализированных образцов яровой пшеницы 65 растений (92,8%) имели комбинацию активных аллелей Wx-A1a/B1a/D1a (1-ый дикий тип), 3 образца: Кк-11/06-11, Кк-11/06-10 и Кк-69/06-1 (4,4%) – Wx-A1g/B1a/D1a (неклассифицированный тип), и лишь 2 линии: Кк-8/06-6 и О-192/03-5 (2,8%) по классификации типов пшеницы с различным содержанием Wx-генов относились к 3-му типу (Wx-A1a/B1b/D1a).

Следует отметить, что для эффективной аллельной дискриминации Wx-A1g и Wx-B1e от нуль-аллелей Wx-A1b и Wx-B1b, соответственно, нами были разработаны оригинальные способы генотипирования, повышающие точность ДНК-анализа, с дополнительным обоснованием достоверности тестов секвенированием ПЦР-продуктов и депонированием расшифрованных нуклеотидных последовательностей в GenBank NCBI (GenBank A/N: JX649155-JX649158). Таким образом, из общего числа проанализированных образцов растений, наиболее перспективными генотипами, рассматриваемыми в качестве исходного материала для дальнейшей селекционной работы по созданию сортов яровой пшеницы с крахмалом амилопектинового типа (с низким содержанием амилозы) являются две линии Кк-8/06-6 и О-192/03-5, несущие в своем геноме нулевой Wx-B1b-аллель, с последующим введением Wx-A1b- и (или) Wx-D1b-аллеля путем скрещивания с донорами нуль-аллелей по локусам WxY-генов.

**RNF10/BAF45A - СУБЪЕДИНИЦА ХРОМАТИН РЕМОДЕЛИРУЮЩЕГО
КОМПЛЕКСА RBAF В РАЗВИТИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА МЫШИ**

Азиева А.М.

ФГБУН Институт Биологии Гена РАН, Москва, Россия.

Роль компонентов хроматин ремоделирующих комплексов чрезвычайно важна в процессах пролиферации и дифференцировки клеток. Мутации в таких комплексах часто ассоциированы с различными патологиями, в частности, онкологическими. Ранее было показано, что белок RNF10/BAF45A, входящий в

состав ремоделирующего хроматин комплекса РВАФ, экспрессируется в нейробластах. Позже, сотрудниками нашей лаборатории, было обнаружено наличие еще трех изоформ данного белка, часть из которых экспрессируется уже во взрослых нейронах и также является субъединицами хроматин ремоделирующего комплекса. Все изоформы отличаются друг от друга структурами N- и C-концов и паттернами модификации.

Целью данной работы являлось изучение роли РНФ10 в зрелых нейронах и его влияние на хроматин. Задачей данного этапа было исследование временной экспрессии изоформ белка РНФ10 в различных отделах головного мозга мыши. С помощью метода Вестерн-блоттинга мы проанализировали уровень экспрессии РНФ10 на разных стадиях развития головного мозга. Полученные результаты были сопоставлены с распределением экспрессии РНФ10 в ходе иммуногистохимического анализа на сагиттальных криосрезах. Мы показали, что экспрессия изоформ белка РНФ10 не является строго ядерной. Дальнейшее исследование экспрессии в первичной культуре нейронов подтвердило, что экспрессия изоформ белка РНФ10 осуществляется не только в ядре, но и в цитоплазме, что позволяет сделать вывод о его дополнительных функциях в цитоплазме и нейритах.

ВЛИЯНИЕ ЭТАНОЛА НА МОРФОМЕТРИЧЕСКОЕ ИЗМЕНЕНИЕ КОРЫ МОЗЖЕЧКА КРЫС

¹Анненкова О.М., ¹Баженова С.И., ²Олейник Т.Л., ¹Амосова Н.Н., ¹Быстров А.В.

¹СПб ГБОУ СПО "Фельдшерский техникум", Санкт-Петербург, Россия.

²ИЭФБ им. И.М.Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия.

Несмотря на то, что проблема действия этанола на центральную нервную систему исследуется давно, она остается актуальной и в настоящее время как в научном, так и в практическом плане. Актуальность в научном отношении связана со сложным и многофазным действием этанола на мозг, а в практическом – с ростом употребления алкоголя среди населения. Выбор мозжечка как структуры, на которую направлено действие этанола связано с тем, что внешняя картина двигательных расстройств, наблюдаемая у людей под влиянием опьянения, очень сходна с нарушением координации пациентов с диагнозом мозжечковой атаксии. Использование модели алкогольной интоксикации на животных дает возможность экспериментального решения многих задач в этой области. Изучение действия алкоголя на клетки Пуркинье мозжечка представляет интерес с точки зрения установления особенностей его влияния на двигательную активность. В данной работе определялись микроскопические изменения клеточных структур мозжечка, в частности клеток Пуркинье, макроскопического строения этого отдела центральной нервной системы а также двигательной активности у крыс, при введении этанола в возрасте 3 и 7 дней в дозе 6 г/кг веса тела животного. Морфометрическое изучение проводилось с помощью световой и электронной микроскопии через 12 и 24 часа после однократного введения этанола, а также в возрасте 2 месяца. Двигательная активность оценивалась с помощью методики «открытое поле». Все полученные данные сравнивались с таковыми, полученными у контрольных животных того же возраста, не подвергавшихся воздействию этанола. Оказалось, что в обоих экспериментальных случаях происходило статистически значимое изменение размеров самих клеток Пуркинье, так и их ядер, к тому же уменьшалось количество самих клеток Пуркинье. Их гибель составила при введении на 3-й день постнатальной жизни

37%, на 7-й день постнатальной жизни – 20% по сравнению с контрольной группой. Также наблюдалось уменьшение ширины разных слоев коры мозжечка, изменялась его складчатость, площадь белого вещества, изменения в размерах и строении органоидов клеток Пуркинье, ее дендритной арборизации.

НОВЫЙ ВЕБ-СЕРВИС SRAGEN ДЛЯ СРАВНИТЕЛЬНОГО ГЕНОМНОГО АНАЛИЗА ПРОКАРИОТ

^{1,2}Алтухов И.А., ^{1,2}Ищенко Д.С., ^{1,2}Коган В.И., ¹Базалеев Н.А., ^{1,2}Кулемин Н.А.,
¹Тягт А.В., ¹Шитиков Е.А., ^{1,2}Алексеев Д.Г.
¹ФГБУН НИИ ФХМ ФМБА, Москва, России.
²МФТИ (ГУ), Долгопрудный, Россия.

Одной из особенностей текущего положения в области геномики является стихийное накопление геномных данных. В текущей версии GenBank от 15 октября 2012 года содержится 145431 миллион оснований из 158 миллионов генетических последовательностей [1]. При этом, более половины этих данных были получены за последние 5 лет. Большинство современных исследований проводятся с целью сравнения очень схожих близкородственных организмов имеющих разные фенотипические свойства (лабораторные, патогенные, резистентные). Сейчас это принимает все большую социальную значимость ввиду роста возникновения мутаций влияющих на резистентность у таких бактерий, как *M.tuberculosis*, *N.gonorrhoeae* и прочие. В настоящее время существует много программных решений, позволяющих проводить сравнительный геномный анализ. Но часто, биологи не имеют специальных навыков для работы с такими подходами и сталкиваются с проблемой получения определенных результатов.

SRAGEN пользовательский интернет портал, позволяющий проводить сравнительный геномный анализ близкородственных микроорганизмов. Данным ресурсом можно пользоваться независимо от операционной системы. Все данные пользователя хранятся на сервере приложения, что позволяет пользователю иметь доступ к своим данным и результатам анализа независимо от места работы. Основой данного веб-сервиса является множественное выравнивание набора генетических последовательностей (как собранных генетических последовательностей, так и ридов). Используя сервис, пользователь может найти нуклеотидные полиморфизмы между геномами и проверить их на синонимичность замены в кодоне. Полезной для генетического анализа функцией является проверка уникальности аминокислот в конкретной позиции в гене среди всех представителей данного рода, вида или царства, что позволяет судить об уникальности мутации. Кроме того, SRAGEN предоставляет пользователю возможность сравнить свой набор геномов *M.tuberculosis* с более чем 500 генетическими последовательностями этого микроорганизма, взятыми из проектов Broad Institute(США) and Sanger Institute(Великобритания).

ПЕРСПЕКТИВНАЯ ФАРМСУБСТАНЦИЯ НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСА ДЕСТАБИЛАЗЫ-ЛИЗОЦИМА С ЛИПОСОМАМИ

Антипова Н.В., Кузнецова Н.Р.

ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва, Россия.

Включение биомакромолекул в липосомы защищает активный компонент от преждевременной деградации под действием ферментов организма. В то же время

в случае гидрофобных молекул липосомы могут быть использованы как средство для получения стабильной формы препарата, пригодной для исследований *in vivo*. Объектом наших исследований стал рекомбинантный белок дестабилаза — лизоцим гидрофобный полифункциональный фермент проявляющий изопептидазную, лизоцимную и антимикробную функции. Его изопептидазная функция реализуется в способности к высокоспецифическому расщеплению фибрина, который стабилизирован при участии фактора XIIIa, то есть содержит ковалентные ϵ -лизил- γ -глутамил-изопептидные связи, которые и расщепляются ферментом, в то время как нестабилизированный фибрин не является его субстратом. В отличие от стандартных тромболитических препаратов дестабилаза способствует постепенному медленному тромболизису без угрозы образования крупных фрагментов кровяного сгустка и поэтому интересно его исследование в качестве перспективного тромболитического препарата.

В нашей работе мы изучили активность комплекса рекомбинантного белка дестабилазы-лизоцима с флуоресцентномечеными липосомами состава яичный фосфатидилхолин — BODIPY-C7-PC, 99.9: 0.01, среднего размера ~100 нм, приготовленные стандартным методом экструзии. Очищенный и рефолдированный белок Ds2 добавляли на стадии гидратирования липидной пленки. Суспензию разделяли с помощью гель-хроматографии на сефадексе G-75. Элюированные фракции анализировали по флуоресценции BODIPY-C7-PC (lex 480 нм, λ_{em} max 506 нм). Количество дестабилазы-лизоцима во фракциях определяли по методу Лоури.

Показано, что исследуемый белок количественно встраивается в липидный бислой липосом. Далее определяли лизоцимную активность комплекса дестабилазы-лизоцима с липосомами по просветлению суспензии клеточных стенок бактерии *M. lysodeikticus*. Изопептидазную функцию оценивали по способности комплекса дестабилазы-лизоцима с липидами гидролизовать Д-димер до Д-мономера. Лизоцимная и изопептидазная активности рекомбинантного белка дестабилазы-лизоцима в составе липосом увеличиваются на порядок по сравнению с исходной. Комплекс сохраняет повышенную активность в течение времени. В результате проделанной работы предлагается использовать фермент дестабилаза-лизоцим в составе липосом как самостоятельную фармсубстанцию.

СХОДСТВА АМИНОКИСЛОТНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ БЕЛКОВ ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ ВИРУСОВ И БАКТЕРИОФАГОВ: МИНИОБЗОР И СОБСТВЕННЫЕ НАБЛЮДЕНИЯ.

^{1,2}Афошин А.С., ^{1,2}Зимин А.А.

¹ Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.Скрябина РАН, Пущино, Россия.

² Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия.

Вирусы - это нуклеопротеидные комплексы или квазиорганизмы, развитие и размножение которых полностью зависит от клеток-хозяев или жертв. При этом развитие вирусов происходит внутри клеток-хозяев. В свою очередь, бактериофаги – это вирусы, инфицирующие бактерии, способные реплицироваться в бактериальной клетке.

Бактериофаги представляют собой чрезвычайно интересный объект для исследования, в связи с их огромным разнообразием и повсеместным присутствием в нашем мире. Общее количество бактериофагов составляет от 10^{30} до 10^{32} . Наибольшее разнообразие вирусов и фагов представлено в водной среде, а именно в океанах, так если выстроить вирусы от одного конца к другому, то можно охватить расстояние, превышающее ближайшие 60 галактик.

Бактериофаги играют важную эволюционную роль, выступая одним из основных двигателей в потоке генетической информации горизонтального переноса генов и в целом молекулярной эволюции бактерий. Центральным элементом здесь выступает эволюция патогенности, определяющаяся комбинаторной биологией бактерий и фагов. Так Allison и др. показали, что геномы *E.coli* и *Shigella* несут профаги, содержащие последовательности фагов λ (головочный белок) и P2 (хвостовой белок) фагов. Таким образом, лизогенную клетку можно рассматривать как «плавильный котел» эволюции фагов.

Кунин Е. и др. разработали концепцию большого вирусного мира с широкой эволюционной сетью. Рассмотреть данную эволюционную сеть возможно через структуру родственных взаимоотношений между бактериофагами и вирусами.

Рассмотреть и проанализировать сходства в мире фагов и вирусов в свете эволюционного развития.

1. Сходство белков бактериофагов отряда Caudovirales и эукариотических вирусов семейства Herpesviridae.

Хвостатые фаги (Myoviridae, Siphoviridae, Podoviridae) и Herpesviridae обладают крупным капсидом - 67 нм хвостатые фаги и 125 нм герпесовирусы. Данные размеры сопряжены с высоким молекулярным весом ДНК хвостатых фагов и герпесовирусов до 480 т.п.н. и 152 т.п.н. соответственно. Например, геном бактериофага T4 длиной 170 т.п.н. Самосборка капсида требует слабых нековалентных взаимодействий для обеспечения свободного минимума энергии и безошибочной сборки. На последних этапах сборки капсида внутреннее давление генома резко возрастает до десятков атмосфер, что требует существенных сил, позволяющих выдержать высокое давление. Показано, что капсидный белок UL25 в HSV-1 и gpD в бактериофаге λ способствуют повышению структурной стабильности. При этом сила, требующаяся для разрушения капсида увеличивается на 70% для герпесовируса и фага. Данное свойство демонстрирует универсальную и эволюционную консервативную функцию данных минорных белков - удержание под давлением вирусного генома в капсиде. Несмотря на схожесть функций, данные белки достаточно сильно различаются. Сравнение аминокислотных последовательностей данных белков в программе Blastp показало наличие общего мотива TPLNNDT.

В работе Hendrix и др. сообщается о наличии сходства между ДНК-пакующими терминазами и функциональным порядком кодирующих капсидных белков фага T4 и герпесовируса HSV-1. Наличие данных сходств позволяет предположить, что данные вирусы имеют общее происхождение.

Однако, данные сходства наблюдаются, не только для HSV-1. Между терминазами фага T4 и герпесовирусом слона 1A также наблюдается небольшая гомология, а именно общий мотив RGNSF.

W. Newcomb показал сходство между портовым белком pUL6 вируса герпеса HSV-1 и коннекторными белками gp20, gp40 фага T4. Данное сходство подчеркивает эволюционные связи герпесовирусов и фагов, содержащих двухцепочечную ДНК.

Margaret C. M. Smith указала на сходные мотивы терминаз gp33 актинофага φс31 (Siphoviridae) и HSV-1 герпесовируса. Также для данного фага показано интересное сходство белков gp9 (геликазы/праймазы) с белками рс926R вируса африканской лихорадки African swine fever virus, MC094R вирусом группы оспы - контагиозный моллюск - Molluscum contagiosum virus.

В работе Sandra K. Weller описаны сходства функционирования рекомбиназ фага λ Echo/β и UL12/ICP8 герпесовируса HSV-1 (Weller, 2014).

2. Сходство белков бактериофагов семейства Microviridae и эукариотических вирусов семейства Parvoviridae.

В работе Robert McKenna показано значительное сходство между типом укладки β-цилиндра в капсидных белках F фага ФХ174 с вирусными белками капсида человеческого риновируса Rhinovirus и собачьего парвовируса Parvoviridae, это позволяет предположить, что многие белки капсида вирусов, вероятно, произошли от общего предка.

Заключение. Согласно концепции большого вирусного мира с широкой эволюционной сетью можно представить эти находки как часть этой сети, в том числе как продукт горизонтального переноса генов путем рекомбинации при заражении одного и того же хозяина или нахождении двух вирусных геномов в клетке из-за других причин. Во втором случае примером может быть лизогенная бактериальная клетка как «плавильный котел» эволюции фагов.

Мы не исключаем и альтернативного сценария, который мог бы привести к подобным слабым сходствам функционально одинаковых белков. Если встать на позицию теорий абиогенного происхождения первых генов и наличия первых генов, не связанных в мультигенные геномы, то нахождение сходных белковых последовательностей в различных по строению геномах вирусов можно легко объяснить комбинаторным происхождением первых геномов вирусов, заражавших ранние «предклеточные» («квазиклеточные») формы жизни. Слабое сходство в этом случае является продуктом долгой независимой истории этих белков. Конвергенцию аминокислотных последовательностей мы при этом исключаем из рассмотрения как процесс, в природе не существующий.

ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССА ЗАСОРЕННОСТИ ОРГАНОВ ХЛОПЧАТНИКА СПОРАМИ МИКРООРГАНИЗМОВ

Бабажанова В.А.

Нукусский филиал ТашПМИ, Республика Каракалпакстан, Нукус, Узбекистан.

В экологически неблагоприятных регионах культурные и дикорастущие виды растений подвергаются интенсивной атаке со стороны насекомых.

Как правило, при атаке насекомых на различных органах находят выделения, состоящие из промежуточных продуктов их метаболизма. Эти выделения, по-видимому, могут способствовать процессу воспроизводства этих особей, обладая высокой вязкостью и закрепляя их на поверхности растений, а также процессу их развития, выступая в роли питательной среды. Одновременно эта среда может являться субстратом для разнообразных видов микроорганизмов. Работа направлена для изучения природных «ловушек», которые образуются на растениях за счет их «атаки» вредителями, в частности тлями. Химический состав «ловушек» включает в себя: продукты метаболизма насекомых в виде их выделений в результате взаимодействия насекомых с растениями. Состав выделений, образующихся при взаимодействии тлей с хлопчатником до конца не выявлен. Вместе с тем можно предположить, что эти выделения состоят из

сахаров, в том числе высокомолекулярных, белков или продуктов их гидролиза, пигментов и других соединений. Такого рода выделения могут служить субстратом для многочисленных видов микроорганизмов. По нашим представлениям эти продукты гидролиза образует клейкость волокна хлопка-сырца. Характерно то, что клейкость волокна хлопка-сырца наблюдается при нарушении агротехники возделывания хлопчатника, не рациональном использовании дефолиантов и десикантов, избыточным питанием азотными удобрениями, повышенной густоте стояния растений, нехватке калийных и фосфорных удобрений. Для того чтобы прийти к решению довольно сложной и нетривиальной задачи – предотвращению причин, приводящих к образованию клейкого волокна, необходимо изучить состав выделения тли при формировании “ловушек”, засоренность органов растений и волокна спорами микроорганизмов, которые главным образом приводят к деструкции целлюлозы волокна и резкому снижению качества хлопка-сырца. Ранее при проведении исследований по выявлению причин возникновения клейкости волокна хлопка-сырца было установлено, что при созревании семян они выделяют производные липидов, белков и сахаров, которые могут быть использованы в качестве субстрата для микроорганизмов, приводящих к возникновению клейкости волокна хлопка-сырца. Кроме того, было показано, что в зависимости от густоты стояния растений менялся состав микрофлоры на волокне хлопка-сырца. В этой работе будут продолжены и углублены эти исследования в части решения фундаментальных задач, связанных с формированием “ловушек”, изучен их химический состав, проведена идентификация деструкторов целлюлозы и разработана биологическая модель причин возникновения клейкости волокна-сырца.

Таким образом при получении результатов фундаментальных исследований и их обобщения в виде биологической модели причин возникновения клейкости волокна хлопка-сырца появится реальная возможность направить усилия на разработку практических рекомендаций по устранению причин возникновения клейкости, что будет иметь огромное практическое значение в получении высококачественной продукции волокна хлопка-сырца.

ПРЕОДОЛЕНИЕ РЕЗИСТЕНТНОСТИ КЛЕТОК РАКА ТОЛСТОЙ КИШКИ К ОКСАЛИПЛАТИНУ С ПОМОЩЬЮ ТАРГЕТНОГО ИНГИБИРОВАНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ МАЛЫМИ ИНТЕРФЕРИРУЮЩИМИ РНК

¹Бавыкин А.С., ¹Коротаяева А.А., ¹Сырцев А.В., ²Тюляндин С.А., ¹Карпухин А.В.

¹ФГБУ МГНЦ РАМН, Москва, Россия.

²ФГБУН РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва, Россия.

Более чем в 50% случаев противоопухолевая терапия с использованием стандартных препаратов на основе платины оказывается не эффективной вследствие развития химиорезистентности, не говоря уже о выраженных побочных, токсических эффектах для организма. Данное исследование посвящено разработке подхода, нацеленного на оптимизацию химиотерапии с использованием малых доз препарата на фоне ингибирования экспрессии генов, непосредственно ответственных за развитие устойчивости опухоли к оксалиплатину, с помощью малых интерферирующих РНК (иРНК). Экспрессионные характеристики клеток рака толстой кишки при действии малых доз оксалиплатина исследовалась с помощью ПЦР в реальном времени по специально разработанному алгоритму. В результате анализа профиля

экспрессии панели генов, участвующих в ответе на оксалиплатин, в том числе, в ингибировании апоптоза, были определены потенциальные гены-мишени, включая семейство каспазных ингибиторов, экспрессия которых подавлялась с использованием малых интерферирующих РНК. Случайные по последовательности нуклеотидов иРНК были использованы в качестве отрицательного контроля. Анализ апоптотической гибели клеток оценивался флюоресцентным микроскопированием с использованием красителей пропидия иодида и Hoechst 33258. В результате проведенного исследования выявлены гены активация которых непосредственно обусловлена воздействием химиопрепарата. Комплексное одновременное ингибирование нескольких генов-мишеней приводило к 7 – кратному увеличению чувствительности раковых клеток к оксалиплатину на фоне малых доз препарата. Цитотоксичность в результате использования случайно подобранной иРНК не отличалась от эффекта малых доз без использования иРНК. Найдено, что подавление одиночных мишеней не приводит к значительным показателям снижения химиорезистентности. Противоопухолевая эффективность иРНК при данном подходе достигается выключением нескольких ингибиторов каспаз 3 и 9, ответственных за выживаемость раковой клетки.

**АНАЛОГ ФРАГМЕНТА АВП(6-9) - АС-D-SPRG - ЯВЛЯЕТСЯ
АНТИДЕПРЕССАНТОМ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ПОСТНАТАЛЬНОМ
ВВЕДЕНИИ**

Белякова А.С., Синюшин А.А., Воскресенская О.Г., Каменский А.А.
МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия.

Нейротропное действие аргинин-вазопрессина (АВП), его фрагментов и их аналогов было продемонстрировано в различных поведенческих тестах на животных различных видов и в настоящее время не вызывает сомнения. Обнаружено, что продукты протеолиза АВП могут проявлять высокую поведенческую активность. Данные исследования позволили выдвинуть гипотезу о том, что наряду с самим вазопрессином поведенческой активностью могут обладать фрагменты, образующиеся в процессе деградации этого нейрогормона под действием протеолитических ферментов. Позднее выяснилось, что под действием пептидаз АВП распадается в организме на несколько линейных фрагментов, включающих в себя с 4-го по 9-ый аминокислотные остатки. Эти метаболиты обладают нейротропной активностью, которая не уступает, а зачастую и превосходит активность целой молекулы АВП в отношении стимуляции поведения, улучшения обучения и памяти.

На основании данных конформационного анализа был синтезирован тетрапептид N-Ас-D-Ser-Pro-Arg-Gly-NH₂ (Ас-D-SPRG). Данная работа была посвящена изучению отставленных эффектов интраназального введения оригинального структурного аналога фрагмента аргинин-вазопрессина (6-9) - Ас-D-SPRG, на депрессивные составляющие поведения белых крыс. Препарат вводили детенышам обоего пола с 3 по 7 дни жизни в дозах 0,01; 0,1; 1,0 и 10,0 мкг/кг в объеме 1 мкл/10 г массы тела. Влияние пептида на депрессивность животных оценивали на 63й день жизни с использованием стандартной методики принудительного плавания по Порсолту. В тесте "принудительное плавание" животные, получавшие препарат во всех дозах, продемонстрировали снижение депрессивности. Это выражалось в увеличении суммарного времени активного и пассивного плавания и, соответственно, уменьшении суммарного времени

иммобилизации. Значительных различий в поведении детенышей разного пола выявлено не было.

Полученные результаты указывают на то, что раннее постнатальное введение оригинального структурного аналога фрагмента аргинин-вазопрессина (6-9) Ac-D-SPRG в дозах 0,01; 0,1; 1,0 и 10,0 мкг/кг оказывает длительное положительное влияние на поведенческую адаптацию и снижает депрессивность животных в выбранных условиях. Данный эффект наблюдается на 63 день жизни крысят, что подтверждает факт длительного сохранения эффекта препарата после хронического введения в первые дни жизни и позволяет предположить его влияние на процессы онтогенеза нервной системы.

**ПОДАВЛЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА АПОЛИПОПРОТЕИНА А-1 В
КЛЕТКАХ ГЕПАТОМЫ ЧЕЛОВЕКА НЕРG2 ЧЕРЕЗ ПРЯМОЙ И
ОПОСРЕДОВАННЫЙ МЕХАНИЗМЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АГОНИСТА
ЯДЕРНОГО РЕЦЕПТОРА PPAR γ GW1929**

Богомолова А.М., Никитин А.А., Шавва В.С., Орлов С.В., Перевозчиков А.П.

ФБГУН Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербургский
государственный университет, Санкт-Петербург, Россия.

PPAR γ – транскрипционный фактор суперсемейства ядерных рецепторов, вовлеченный в регуляцию метаболизма липидов в печени. До сих пор остается невыясненной его роль в контроле экспрессии гена аполипопротеина А-1 – главного белкового компонента липопротеинов высокой плотности, играющих важную роль в регрессии атеросклероза. Для исследования регуляторной роли PPAR γ в сочетании с путями контроля положительных (PPAR α , HNF4 α) и отрицательных (LXR α , LXR β) регуляторов экспрессии ApoA-1 использовались методы ПЦР в реальном времени, ДНК-афинной хроматографии и трансфекции клеточной линии гепатомы человека плазмидными конструкциями.

Агонист PPAR γ GW1929 подавил активность промотора ApoA-1 и снизил уровень секреции белка. Отмечено связывание PPAR γ с сайтами А и С гепацитарного энхансера – регуляторного элемента гена ApoA-1. Использование плазмидных конструкций с репортерным геном люциферазы под контролем минимального промотора гепацитарного энхансера с мутантными сайтами А и С установило, что мутация сайта С подавляет GW1929-зависимое угнетение активности энхансера, мутация сайта А не приводит к такому эффекту. Уровни мРНК и белка HNF4 α возросли под действием GW1929. Гиперэкспрессия HNF4 α привела к росту активности люциферазы, GW1929 отменил эффект. Мутация сайта А снизила действие GW1929, подавляющее HNF4 α -зависимую активность люциферазы, мутация сайта С не имела такого проявления. GW1929 повысил уровни мРНК и белка LXR β , снизив активность экспрессии PPAR α . Выявлено GW1929-зависимое уменьшение сродства PPAR α и увеличение сродства LXR β к энхансеру.

Полученные результаты указывают на то, что агонист PPAR γ GW1929 снижает уровень экспрессии ApoA-1 в клетках линии НерG2 через прямой и опосредованный механизмы. PPAR γ самостоятельно связывается с сайтом С гепацитарного энхансера гена ApoA-1, а за связь с сайтом А конкурирует с HNF4 α , это играет ключевую роль в спаде регуляторного эффекта HNF4 α . Повышая уровень экспрессии LXR β , GW1929 подавляет активность гена PPAR α , создавая условия для замещения PPAR α ядерным рецептором LXR β на гепацитарном энхансере. Все это угнетает экспрессию гена ApoA-1.

Работа поддержана грантом РФФИ 15-04-32173 мол_а.

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО АЛЬБУМИНА И
РЕКОМБИНАНТНЫХ ДЕРИВАТОВ АЛЬБУМИН-СВЯЗЫВАЮЩЕГО
БЕЛКА СТРЕПТОКОККА ГРУППЫ G.**

Бормотова Е.А., Гупалова Т.В.

ФГБУ "Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины" СЗО
РАМН, Санкт-Петербург, Россия.

Патогенез стрептококковых инфекций является итогом взаимодействия биологических систем организма хозяина и микроба. Вирулентность стрептококков коррелирует с их способностью продуцировать на своей поверхности ряд белков. Одним из таких белков является альбумин (ЧСА)-связывающий белок стрептококков группы G, *Streptococcus canis*, выделенный. Этот белок обладает только ЧСА-связывающей активностью в отличие от G белка. Ранее нами были сконструированы рекомбинантные полипептиды A2, A3 и A4 на основе поверхностного ЧСА-связывающего белка путем амплификации в ПЦР фрагментов хромосомной ДНК штамма DG 13 *Streptococcus canis* и их последовательного клонирования в системе экспрессионных векторов pQE-30/31/32. Дериваты ЧСА-связывающего белка, A2, A3 и A4 состоят из 346, 140 и 223 аминокислотных остатка, соответственно. Рекомбинантные полипептиды A2, A3 и A4 предположительно должны обладать свойствами, характерными для их прототипа и одно из них - селективное взаимодействие с молекулами ЧСА. Изучение такого взаимодействия позволит определить перспективу применения производных ЧСА-связывающего белка.

Настоящее исследование посвящено анализу особенностей и структурных аспектов взаимодействия ЧСА с полипептидами A2, A3 и A4. Все три полипептида обладали способностью к селективному связыванию ЧСА в любом из использованных вариантов постановки ИФА: прямом, непрямом и ингибиторном. Установлена способность полипептидов A2, A3 и A4 вступать во взаимодействие с ЧСА как в растворе, так и в адсорбированном состоянии. Однако, наибольшая способность связывать ЧСА принадлежит полипептиду A2, обладающего самой длинной аминокислотной последовательностью. Изученные особенности во взаимодействии с ЧСА открывают широкие перспективы практического применения рекомбинантных полипептидов A2, A3 и A4 при создании диагностикумов по определению уровня ЧСА, а также в качестве ЧСА-связывающих реагентов для аффинного выделения ЧСА и удаления ЧСА из сыворотки для последующего ее протеомного анализа.

**ИЗМЕНЕНИЕ ТРАНСКРИПЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ
РЕГУЛЯТОРНЫХ ЛОКУСОВ ПОСРЕДСТВОМ ПЦР-МУТАГЕНЕЗА**

^{1,2}Быков А.А., ^{1,2}Шавкунов К.С., ^{1,2}Озолинь О.Н.

¹ – Пушкинский государственный естественно-научный институт
(ПушГЕНИ), Пушкино, Россия.

² – Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия.

Для эффективного начала транскрипции необходимо перед геном необходимо присутствие промотора, однако во многих случаях экспрессия может быть иницирована с нескольких стартовых точек. Подобная кластеризация промоторов типична для генов рРНК, митохондриальных генов растений, а также широко распространена среди позвоночных,

включая человека. Присутствует она и у бактерий, в частности и у *E. coli*. При этом в кластере может содержаться от двух до девяти независимых точек старта транскрипции. В связи с этим неожиданным было обнаружение при картировании генома *E. coli* алгоритмом PlatProm 434 локусов с чрезвычайно высокой плотностью промотор-подобных сайтов (≥ 8 в бегущей рамке 100 нп, длиной ≥ 300 нп). Данные области были названы «промоторными островками» (ПО).

Высокоэффективное комплексобразование РНК-полимеразы с «островками» предполагает активный синтез РНК-продуктов, однако образование полноценных транскриптов с таких областей фактически не происходит. При этом было обнаружено, что в 85% случаев «островки» располагаются перед генами, горизонтально привнесенными в хромосому *E. coli* из других бактерий. Таким образом, представляется возможным, что «промоторные островки» являются частью системы, отвечающей за ингибирование нежелательных генов.

Мы предположили, что их продуктивность подавляется молекулами РНК-полимеразы, связывающимися с перекрывающимися промоторами и тем самым мешающими друг другу. Если это так, то уменьшение плотности промоторов в «островках» должно активировать синтез РНК. Для проверки этого предположения был использован метод SELEX (Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment), в котором 2 фрагмента, содержащие «промоторный островок» гена *appY* и обычную промоторную область гена *dps*, подвергали ПЦР-мутагенезу. Полученные ампликоны клонировали в плазмиду pET28b-eGFP перед не содержащим собственный промотор геном *gfp*. После трансформации отбирали клетки, несущие конструкции с изменённой активностью.

В ходе негативной селекции промоторная активность обеих областей оказалась полностью подавленной 6 (в случае *dps*) или 11 (*appY*) мутациями. В обоих случаях на ~30% уменьшилось число потенциальных точек старта. Но «островок» гена *appY* всё ещё содержит 62 промотор-подобных последовательности. В ходе позитивной селекции участка, содержащего промотор *dps*, было накоплено 9 мутаций. Это повысило транскрипционную активность в ~4 раза, увеличив число потенциальных точек старта с 10 до 12 (20%). Для 6,1-кратной активации *островка* потребовалось 24 замены и 3 делеции, но это сопровождалось снижением, а не увеличением числа потенциальных точек инициации транскрипции с 85 до 63 (31.5%). Т.е. селекция в обоих направлениях привела к уменьшению числа промоторов в «островке». Подтверждая возможность участия конкурирующих промоторов в подавлении транскрипции, это также может означать нестабильность их высокой плотности в «островках», для сохранения которой могут быть нужны специальные регуляторные системы.

Исследования поддержаны грантом РФФИ 13-04-00997.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ФАГОВОЙ ТЕРАПИИ В КИШЕЧНИКЕ МЫШИ

¹Васильева Е.Л., ²Скобников Н.Э., ³Дьяченко И.А., ³Мурашев А.Н.

¹Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.Скрябина РАН,
Пушино, Россия.

²Северо-кавказский НИИ животноводства, Краснодар, Россия.

³Филиал Института биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пушино, Россия.

Существенным препятствием к широкому применению фаговых препаратов является недостаток знаний об отношениях фаг-хозяинская клетка, особенно в организме животного. Для создания экспериментальной модели для исследования трансдукции в кишечнике животного в данной работе были взяты лабораторные штаммы, отличающиеся по физиологическим и генетическим характеристикам. На начальном этапе работы была проведена проверка жизнеспособности выбранных штаммов в кишечнике экспериментального животного. Было показано, что клетки ни одного из штаммов не колонизируют кишечник и элиминируются примерно через сутки после введения. Этот факт можно объяснить существованием резидентной микрофлоры и связанной с ней колонизационной резистентностью желудочно-кишечного тракта животного. Для продолжения исследования был выбран штамм E.coli CR204, так как он обладал наибольшей длительностью сохранения в толстой кишке мыши с наиболее высоким титром и наличием маркера устойчивости к антибиотику – канамицину, хромосомной локализации. Данный штамм E.coli заражали в кишечнике мыши различными бактериофагами, входящими в состав антибактериального фагового препарата, предназначенного для борьбы с колибактериозом поросят, и следили за изменением титра CR204 и бактериофага в кишечнике мыши. Таким образом, была сконструирована модельная система фаговой терапии в кишечнике мыши. *Работа была частично поддержана грантом РФФИ №15-04-00991.*

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

Веряскина Ю. А.

ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск,
Россия.

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

($p < 0.05$) и уменьшение уровня экспрессии четырех миРНК: миРНК - 221, 222, 205, 125b ($p < 0.05$) в опухолевой ткани в отличие от прилегающей условно нормальной ткани. Таким образом, полученные результаты позволили сформировать уникальный профиль экспрессии миРНК для различных опухолей человека.

СВЕРХПРОДУКЦИЯ ПОЛНОРАЗМЕРНОГО БЕЛКА FtsZ МИКОПЛАЗМЫ ACHOLEPLASMA LAIDLAWII В КЛЕТКАХ ESCHERICHIA COLI

^{1,2}Вишняков И.Е., ²Сабанцев А.В., ²Ведяйкин А.Д., ²Рунов А.Л., ¹Борхсениус С.Н.

¹ – Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия.

² – Санкт-Петербургский Политехнический Университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия.

Известно, что в клетках *Escherichia coli* высокий уровень продукции как собственного белка деления FtsZ, так и гетерологичных белков FtsZ вызывает нарушение процесса цитокинеза, что может приводить к их гибели. В своё время проблема получения FtsZ *Acholeplasma laidlawii* в клетках *E. coli* была решена за счёт использования химеры, содержащей небольшой участок FtsZ, и клонирования гена этой химеры в низкокопийном векторе pBeloBAC11. Химерный белок можно было использовать для антителогенеза, но не для изучения свойств FtsZ. Таким образом, до настоящего времени представлялось сложным получить большое количество гетерологичного FtsZ в клетках *E. coli*. Мы использовали вектор pBAD/HisB (Invitrogen) для дозо-зависимой экспрессии рекомбинантных белков в клетках *E. coli* для того, чтобы клонировать ген *ftsZ A. laidlawii* и инициировать сверхпродукцию полноразмерного гетерологичного белка FtsZ в клетках штамма-продуцента *E. coli* DH5 α . Для получения методом ПЦР фрагмента ДНК, содержащего полноразмерную последовательность гена *ftsZ*, из клеток микоплазмы выделяли геномную ДНК. Клонирование *ftsZ* осуществляли по сайтам рестрикции для BglII и HindIII таким образом, чтобы последовательность из шести гистидинов находилась с N-конца молекулы рекомбинантного FtsZ. Плазмидой, несущей полноразмерный ген *ftsZ A. laidlawii*, трансформировали клетки *E. coli* DH5 α . Затем готовили ночную культуру *E. coli*, пересеивали клетки в свежую жидкую питательную среду LB, культивировали при 37°C до OD₆₀₀=0.4 и вносили арабинозу (до 2мМ), после чего клетки инкубировали при 37°C ещё 2 ч. Успешную сверхпродукцию FtsZ *A. laidlawii* клетками *E. coli* подтвердили с помощью электрофореза в ПААГ. Кроме того, при микроскопии клеток *E. coli*, продуцирующих FtsZ микоплазмы, обнаружили их удлинение в несколько раз. По-видимому, сверхэкспрессия FtsZ *A. laidlawii* блокирует деление клеток *E. coli*. Данный эффект аналогичен таковому при сверхэкспрессии собственного белка FtsZ *E. coli* в клетках кишечной палочки, что указывает на значительное сходство белков и их потенциальное взаимодействие между собой. При этом использование pBAD/HisB исключило преждевременный синтез гетерологичного FtsZ, что позволило избежать ранней гибели клеток *E. coli* и получить большие количества искомого белка для исследования его физико-химических свойств.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант №15-04-07472-а).

ОЦЕНКА УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ NO-СИНТАЗ В БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЯХ МОЗГА КРЫС В ПОСТГИПЕРОКСИЧЕСКИЙ ПЕРИОД

Внуков В.В., Корниенко И.В., Гуценко О.И., Милютин Н.П.

ФГАО ВПО ЮФУ, Ростов-на-Дону, Россия.

Окислительно-нитрозильный стресс, индуцированный гипербарооксигенацией (ГБО), является адекватной моделью для разностороннего исследования влияния активированных кислородных метаболитов на экспрессию генов. В последние годы показана роль оксида азота в условиях окислительного стресса.

Целью настоящего исследования стало изучение особенностей транскрипционного ответа генов NO-синтаз, регулирующих развитие оксидативно-нитрозильного стресса в условиях гипероксии (0,5МПА, 90 мин, через 6, 12, 24 часа после действия ГБО) в больших полушариях мозга крыс. Исследования экспрессии генов NO-синтаз выполняли методом ПЦР «в реальном времени» со специфическими праймерами производства фирмы «Синтол» (Россия). В качестве референсного транскрипта использовали ген «домашнего хозяйства» – β -актин (ВАСТ).

Было показано значительное ингибирование экспрессии гена iNOS в больших полушариях мозга крыс во всех группах крыс спустя 6, 12 и 24 часа после сеанса ГБО. Экспрессия eNOS и nNOS в больших полушариях мозга крыс спустя 6 часов после сеанса ГБО достоверно не отличается от контрольной группы животных, однако через 12 часов наблюдается супрессия данных изоформ NO-синтазы. Через 24 часа отмечено увеличение экспрессии генов eNOS и nNOS в больших полушариях мозга крыс по сравнению с контрольными значениями.

В дальнейшем подобные исследования будут способствовать раскрытию и более глубокому пониманию механизмов экспрессии генов в условиях окислительно-нитрозильного стресса в целом, который является широко распространённым состоянием организма, как в условиях развития патологических процессов, так и при экстремальных воздействиях.

ВЛИЯНИЕ СЕКРЕТОРНЫХ БЕЛКОВ СРЕДЫ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА РЕГЕНЕРАЦИОННЫЕ ПРОЦЕССЫ В ЭПИТЕЛИИ ТРАХЕИ ПОСЛЕ ХИМИЧЕСКОГО ОЖОГА

Волков А.Т., Темнов А.А., Шарапов М., Новосёлов В.И.
ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия.

В настоящей работе исследован эффект аппликации кондиционированной среды мезенхимальных стволовых клеток на регенерационные процессы в эпителии трахеи после термической ингаляционной травмы верхних дыхательных путей крысы, вызванной ингаляцией нагретого пара (70 С). В данной модели происходит массовая гибель всех типов клеток эпителия трахеи (от 30 до 100% поверхности эпителия), максимум гибели клеток наблюдался на 3 день после ингаляционной травмы, частичное восстановление эпителия трахеи происходило через 7 дней после ожога. При аппликации Среды MSC в трахею после ожога степень в первые сутки после ожога количество погибших клеток уменьшалась на 10-20% по сравнению с контрольным ожогом. В последующие дни наблюдалось ускорение восстановления эпителия и к 7 дню восстанавливалось до 60-70% поверхности эпителия. Так как термическая травма верхних дыхательных путей сопровождается мощным окислительным стрессом в эпителии трахеи, в последующих экспериментах была проведена одновременная аппликация в трахею после ожога среды MSC и фермента-антиоксиданта пероксиредоксина б (Prx6), способного нейтрализовать неорганические и органические

гидропероксиды. При одновременной аппликации среды MSC и P_{rx}6 в трахею в первые сутки после ожога количество погибших клеток уменьшалась на 50-60%, к третьему дню после ожога наблюдался практически сохранный эпителий. Таким образом, в данной модели продемонстрирован синергизм нейтрализации окислительного стресса эффектов паракринных факторов, присутствующих в кондиционированной среде мезенхимальных стволовых клеток, которые представляют собой различные группы цитокинов, которые обладают выраженными антиапоптотическими и прогенеративными свойствами.

СВЯЗЫВАНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ АНАЛОГОВ ХРОМОФОРА GFP С ЛИПОКАЛИНОМ: ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КОМПЛЕКСОВ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДЛЯ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО МЕЧЕНИЯ ЖИВЫХ КЛЕТОК.

Гавриков А.С.

ФГБОУ ВПО МГУ им. М. В. Ломоносова, кафедра биохимии, Москва, Россия.

Флуоресцентное мечение внутриклеточных структур с помощью синтетических флуорогенов - хромофоров, которые флуоресцируют только при связывании со специализированными активаторами, является мощным методом изучения локализации, перемещения и функций белков интереса. Активация флуорогена происходит при его нековалентном взаимодействии с лиганд-связывающим "карманом" белка. Одним из преимуществ такого мечения является обратимость взаимодействия, что позволяет отмыть образец от флуорогена после окрашивания. Также считается, что фотостабильность обратимого комплекса белок-флуороген может существенно превышать фотостабильность традиционных систем флуоресцентного мечения. В данной работе определены спектральные свойства, константы диссоциации и фотостабильность комплексов синтетических флуорогенов (GFP-подобных хромофоров) и мутантных вариантов липокалина в качестве белков-активаторов.

В рамках работы проводили титрование липокалина дикого типа, а также его мутантных форм, содержащих парные и единичные замены в области лиганд-связывающего "кармана" по положениям 65, 67, 132 в присутствии трех GFP-подобных хромофоров с различной структурой. Установлено, что хромофоры связываются с белками-активаторами обратимо и константы диссоциации этих комплексов находятся в диапазоне от 0.02 мкМ до 20 мкМ. Некоторые комбинации белок-хромофор дают увеличение флуоресценции в 60-130 раз. Для измерения фотостабильности на модели культуры клеток млекопитающих были выбраны комплексы мутантных форм липокалина и хромофоров с константами диссоциации, различающимися более чем на два порядка. Созданы белки слияния с гистоном H2B, которые были экспрессированы в клеточной линии НЕК293Т. Фотостабильность комплекса белок-флуороген оценивали по изменению интенсивности флуоресценции во времени в условиях конфокальной микроскопии. Обнаружено, что фотостабильность комплекса белок-флуороген выше при более высокой константе диссоциации. Такую зависимость можно объяснить тем, что при низкой аффинности вероятность необратимого светоиндуцированного разрушения комплекса снижается из-за меньшего времени жизни комплекса. Показана более высокая фотостабильность флуоресцентного мечения гистонов с использованием системы белок-флуороген, по сравнению с мечением флуоресцентными белками, при сравнимой интенсивности флуоресценции.

Система белок-флуороген открывает новые возможности для многоцветного флуоресцентного мечения живых систем. Высокая фотостабильность комплексов белок-флуороген является существенным преимуществом в длительных экспериментах, а также в экспериментах, сопряженных с высокой интенсивностью облучения.

ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АНТИСТРЕПТОКОККОВОГО БЕЛКА СНАР-В30

Голенченко С.Г., Прокулевич В.А.

Белорусский Государственный Университет, Минск, Беларусь.

Streptococcus agalactiae является распространённым патогеном человека и животных, вызывая целый ряд опасных и экономически значимых заболеваний. Цель данной работы – получить антибактериальный белок, активный в отношении штаммов *S. agalactiae*, ассоциированных с маститом у крупного рогатого скота.

В качестве антибактериального агента нами был выбран СНАР-домен лизирующего фермента стрептококкового бактериофага В30 (СНАР-В30). Нуклеотидная последовательность была получена обратной трансляцией аминокислотной последовательности (GenBank AY149214.3) с оптимизацией кодонов. Фрагмент в 470 п.н. был синтезирован ПЦР и клонирован в составе экспрессионного вектора рЕТ24b(+) в бактерии *E. coli* BL21-CodonPlus(DE3)-RPL. После индукции 1М ИПТГ в бактериях накапливался растворимый белок соответствующей массы (18 КДа). Лизат клеток после индукции был подвергнут анионообменной хроматографии на колонке с Toyopearl-Q, в результате чего был получен препарат целевого белка чистотой не менее 95 %.

Для определения активности полученного препарата, из молока коров с клинической картиной мастита, с использованием модифицированной среды Эдвардса, были выделены 3 изолята *S. agalactiae*. Видовая принадлежность изолятов была подтверждена ПЦР к специфическим участкам 16S РНК. Полученный на предыдущей стадии белок проявлял антибактериальную активность ко всем исследованным изолятам в равной степени. Активность СНАР-В30 составила 18 ЕА/мг. Предполагается, что данный белок может стать основой для антимаститного препарата.

СОСТОЯНИЕ СПЕРМАТОГЕНЕЗА У КРЫС ПРИ НАРУШЕНИИ ГТБ НА ФОНЕ АКТИВАЦИИ МАКРОФАГАЛЬНОГО ЗВЕНА

Григорьева Е.В., Храмцова Ю.С.

ФГАОУ ВПО "Уральский федеральный университет им.первого Президента России Б.Н.Ельцина", Екатеринбург, Россия.

В норме созревающие половые клетки изолированы от контактов с клетками иммунной системы гематотестикулярным барьером (ГТБ), основной структурой которого являются клетки Сертоли. При повреждении ГТБ против клеток сперматогенного эпителия развиваются аутоиммунные реакции. В данное время показано, что макрофаги играют ключевую роль в регуляции регенераторных процессов. Однако вопрос участия данных клеток в восстановлении иммунопривилегированных органов не достаточно изучен. В связи с этим целью исследования является изучение влияния активации макрофагов на состояние сперматогенеза при тотальном разрушении ГТБ.

Исследование проведено на 35 беспородных половозрелых самцах крыс массой 200-400 г, разделенных на 3 группы: 1) интактные животные; 2) крысы, которым в бедренную мышцу вводили раствор CdCl в концентрации 1,75 мг/кг; 3) крысы, которым в бедренную мышцу помимо хлорида кадмия вводили иммуномодулятор «Галавит» в концентрации 2 мг/кг через день курсом 5 инъекций для активации макрофагов. Забор семенников и периферической крови осуществлялся на 1, 7 и 14 сутки после воздействия. При помощи светового микроскопа на гистологических препаратах семенников измеряли различные функциональные показатели, по которым оценивали репаративные процессы. Анализ периферической крови проводили на гематологическом анализаторе. При разрушении ГТБ хлоридом кадмия на ранние сроки отмечается снижение индекса сперматогенеза, связанное с элиминацией поврежденных клеток из канальцев благодаря наличию остаточной популяции фагоцитов и антиспермальных антител. За счет разрушения части клеток Сертоли наблюдается уменьшение сперматограммы и уменьшение числа нормальных сперматогоний в канальце, связанное с тем, что при этом угнетается их трофика. На поздние сроки в сперматогенном эпителии наблюдаются некротические изменения, что свидетельствует о невозможности восстановления семенников после данного воздействия.

Развитие лейкоцитоза, лимфоцитоза, моноцитоза и гранулоцитоза у животных из обеих экспериментальных групп подтверждает наличие воспалительных и некротических изменений в семенниках, свидетельствует об активации иммунной системы и указывает на аутоиммунный характер патологических процессов. На фоне стимуляции макрофагов препаратом «Галавит» в семенниках наблюдаются изменения схожие с теми, что происходят в группе животных, не получавших лечение. Можно сделать вывод, что проведенная активация макрофагов недостаточна для восстановления функции семенников после данного вида нарушения ГТБ.

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

Давыдова А. С., Воробьева М. А.

ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия.

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

Данная работа посвящена отбору методом SELEX новых устойчивых в биологических средах РНК-аптамеров, способных связывать рецептор инсулиноподобного фактора роста человека (IGF-1R) на поверхности живых клеток. Выбор в качестве мишени IGF-1R человека обусловлен тем, что этот трансмембранный белок, относящийся к семейству рецепторных тирозинкиназ, участвует в регуляции роста, миграции и подвижности многих типов опухолевых

клеток. Для повышения устойчивости полученных РНК-аптамеров к действию нуклеаз в биологических средах все пиримидиновые нуклеозиды были заменены их 2'-F-аналогами.

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

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

Евдокимов А.В., Бурмистрова А.Л., Сташкевич Д.С., Филиппова Ю.Ю.
ФГБОУ ВПО ЧелГУ, Челябинск, Россия.

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

Цель исследования - определить частоту встречаемости аллелей и генотипов по точковому полиморфизму 721A>С гена толл-подобного рецептора 10 (TLR6) в популяциях русских и башкир Челябинской области. Исследовалась геномная ДНК, полученная от двух групп: русские (137 человек) и башкиры (127 человек). Полиморфизм 721A>С гена TLR10 определён при помощи анализа длин рестрикционных фрагментов (рестриктаза NlaIII), с электрофоретической детекцией в 3% агарозном геле. Полученные частоты генотипов были проверены на соответствие закону Харди – Вайнберга. Для определения различий в частотах распределения аллелей и генотипов между популяциями были рассчитаны отклонения Фримана–Тьюки. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,050$. Аллель 721*А достоверно чаще встречался в популяции русских (65,7%, $p = 0,001$), чем в популяции башкир (50,0%, $p < 0,001$), в то время как аллель 721*С был более частым в популяции башкир по сравнению с популяцией русских (50,0% и 34,3% соответственно, $p < 0,001$). В исследованных популяциях были обнаружены статистически значимые различия в распределении гомозигот: доля гомозигот по аллелю 721*А выше в популяции русских (45,3% по сравнению с 26,8% у башкир, $p = 0,004$), а гомозиготы по аллелю 721*С достоверно чаще встречаются в популяции башкир (26,8% по сравнению с 13,9% у русских, $p = 0,006$).

**ОЛЕСОКСИМ УСКОРЯЕТ ЦИКЛ СИНАПТИЧЕСКИХ ВЕЗИКУЛ В
ДВИГАТЕЛЬНЫХ НЕРВНЫХ ТЕРМИНАЛЯХ**

Закирьянова Г.Ф., Зинин А.А., Петров А.М.

Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия.

В пресинаптических нервных окончаниях содержится большое количество везикул, заполненных нейромедиатором. В ответ на потенциал действия синаптические везикулы подвергаются экзоцитозу, в результате нейромедиатор освобождается. В ходе эндоцитоза образуется новая везикула, которая заполняется нейромедиатором и становится снова способной к экзоцитозу. При синаптической активности в нервном окончании постоянно происходит оборот везикул (цикл). Существенное значение в везикулярном цикле принадлежит холестерину мембран. В ходе синаптической активности, а также старения, при нейродегенеративных заболеваниях холестерин синаптических мембран может окисляться как под влиянием активных форм кислорода, так и ферментативным путем цитохромами. Однако о влиянии окисленных форм холестерина на синаптическую передачу известно крайнем мало. В нашей работе, используя оптические и электрофизиологические подходы, исследовали воздействие 200 нМ 4-холестен-3-она (4Хн, олесоксим) на везикулярный цикл в нервно-мышечном соединении лягушки. Спонтанная секреция и вызванная секреция в ответ на одиночные раздражения не изменялись после 30 мин 4Хн. В условиях продолжительной высокочастотной стимуляции (20 Гц) 4Хн существенно снижал выраженность синаптической депрессии. В итоге за 3 мин стимуляции с частотой 20 Гц освобождалось на 25-35% больше медиатора. Анализ процессов экзо-эндоцитоза с использованием флуоресцентных красителей (FM1 43, FM2-10) выявил усиление экзоцитоза в ходе высокочастотной стимуляции при обработке препаратов 4Хн. Сравнение оптических и электрофизиологических данных позволило выявить время рециклирования синаптических везикул в ходе высокочастотной активности. Оказалось, что 4Хн – ускоряет (до 30 сек) среднее время рециклирования везикул (60 сек в контроле). Таким образом, действуя в наномолярных концентрациях 4Хн усиливает синаптическую активность, ускоряя рециклирование везикул.

Работа поддержана грантами РФФИ №14-04-00094а и МК-108.2013.4.

**ИНДУКЦИЯ КЛЕТОЧНОГО ОТВЕТА В ХОДЕ ЭНДОГЕННОЙ
ЭКСПРЕССИИ ТОКСИНА *BACTEROIDES FRAGILIS* В КУЛЬТУРЕ
КЛЕТОК НЕК-293**

Захаржевская Н.Б., Харлампиева Д.Д., Побегуц О.В. Лазарев В.Н., Говорун В.М.
ФГБУН НИИ ФХМ ФМБА, Москва, России.

Развитие технологий высокопроизводительного секвенирования нуклеиновых кислот обусловило старт проектов по изучению метагенома человека. Накоплен большой материал о составе микробных сообществ, колонизирующих слизистую толстой кишки, созданы базы данных геномов бактерий. Тем не менее, механизмы взаимодействия микрофлоры и эпителиальных клеток остаются до сих пор малоизученными. Одним из частных вопросов является установление возможных механизмов эндогенного воздействия на эпителий секретлируемых бактериальных токсинов. В этом отношении, представляется особенно перспективным исследование умеренно патогенных бактериальных штаммов.

Целью настоящей работы являлось изучение внутриклеточной экспрессии бактериальных токсинов на примере модельного объекта - фактора вирулентности *Bacteroides fragilis* фрагилизина (BFT). Воздействие BFT осуществлялось в условиях его тетрациклин-зависимой эндогенной экспрессии в составе плазмидного вектора pBI/BFT/rTTA в линии клеток HEK-293. Трансфекцию клеток проводили с использованием TransPass™ COS/293 Transfection Reagent (Biolabs, США). Для оценки воздействия использовали методы: ПЦР в режиме реального времени и двумерный электрофорез.

В ходе протеомного профилирования были определены белки, количественно различающиеся в культуре с эндогенно-экспрессированным токсином BFT и в контроле, среди которых: Hsp70, eIF-5A-1, PRDX2, NOB1, Lamin B, TUBB2. При этом изменение уровня экспрессии генов, сопоставимое с количественным различием белка в опыте и контроле было продемонстрировано только для гена TUBB2. Также был зарегистрирован высокий уровень внутриклеточной экспрессии гена BFT, однако соответствующий ему белок обнаружен не был. Так как действие токсина BFT основано на протеолитическом расщеплении внеклеточного домена E- кадгерина, то изменение количественного состава белкового компартмента и экспрессии гена TUBB2 внутриклеточно может свидетельствовать о наличии механизмов распознавания ДНК-РНК материала бактерий эукариотическими клетками. В ходе работы показано влияние экспрессии гена фрагилизина на физиологию эукариотической клетки, однако механизмы распознавания бактериальной РНК клеткой требуют дальнейших интенсивных исследований.

МОДУЛЯЦИЯ ЛЮМИНОЛЗАВИСИМОЙ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ПЕРИТОНЕАЛЬНЫХ МАКРОФАГОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ H₂O₂

^{1,2}Зинатулина Г.Г., ^{1,2}Куприянова Е.С., ^{1,2}Стенякина М.Д., ^{1,2}Наумов А.А.,
¹Серебрякова Л.Т., ^{1,2}Поцелуева М.М.

¹Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия.

²Пущинский государственный естественно-научный институт, Россия.

NADPH-оксидаза (NOX) - мембраносвязанный ферментный комплекс, локализующийся на плазматической мембране фагоцитов. Во время работы NOX на наружной стороне клетки образуется супероксид-анион. Супероксид дисмутирует в пероксид водорода (H₂O₂), который попадает и в цитоплазму, и во внеклеточное пространство. H₂O₂- активный кислородный метаболит, внутри- и межклеточная сигнальная молекула. Известные внутриклеточные мишени H₂O₂ – тирозиновые фосфатазы. В частности, H₂O₂ инактивирует тирозиновую фосфатазу PTP 1B, которая в свою очередь является ингибитором тирозинкиназных рецепторов. Не заингибированная работа тирозинкиназных рецепторов может привести к образованию на мембране фосфатидил инозитолтрифосфата, активации цитозольного белка Rac1 и выходу Ca²⁺ в цитоплазму с последующей активацией протеинкиназы C. Эти сигнальные молекулы ведут к сборке и активации NOX. То есть, по литературным данным известно, что H₂O₂ опосредованно через инактивацию фосфатазы PTP 1B, может стимулировать сборку NOX, и активировать наработку АФК. В связи с этим целью данной работы являлось выявление диапазона концентраций пероксида водорода, способного активировать хемилюминесцентный ответ (ХЛ-ответ) перитонеальных макрофагов мышей. Исследовали ХЛ-ответ макрофагов, проинкубированных с H₂O₂ в диапазоне концентрации 10⁻⁵-10⁻⁹М без

воздействия стимулов (контроль). Для активации макрофагов использовали хемотактический пептид (fMLP) и бактериальный липополисахарид (LPS). Для регистрации АФК-генерирующей активности макрофагов использовали метод люминолзависимой хемилюминесценции. Перитонеальные макрофаги, инкубированные с 10^{-5} - 10^{-9} М H_2O_2 не вызывали достоверного ХЛ-ответа на стимуляцию fMLP. Макрофаги, проинкубированные с 10^{-5} - 10^{-9} М H_2O_2 и дополнительно простимулированные LPS дали концентрационно-зависимые изменения ХЛ-ответа, достоверно отличающиеся от контроля. С увеличением концентрации H_2O_2 от 10^{-7} до 10^{-5} М в среде инкубации ХЛ-ответ макрофагов увеличивался по сравнению с контролем. Максимальный ХЛ-ответ на LPS зарегистрирован в среде с макрофагами, при обработке 10^{-5} М H_2O_2 , достоверно отличается на 350% от ХЛ-ответа без воздействия LPS. Таким образом, пероксид водорода в концентрации 10^{-5} М праймирует АФК-генерирующую активность перитонеальных макрофагов мышей. Этот эффект, по-видимому, мог быть обусловлен усилением скорости оборота активации NOX по выше описанному механизму.

Работа поддержана проектом НИР, выполняемым в рамках госзадания Минобрнауки №2014/281.

РОЛЬ СИСТЕМЫ РЕПАРАЦИИ ДНК В АДАПТАЦИИ К СТРЕССОВЫМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ У БАКТЕРИЙ КЛАССА МОЛЛИКУТ

Израельсон М.А., Горбачев А.Ю., Говорун В.М.
ФГБУН НИИ ФХМ ФМБА, Москва, России.

Организмы, принадлежащие к роду *Mycoplasma* (класс Mollicutes, для которого характерно отсутствие клеточной стенки), являются наименьшими известными организмами, способными к самостоятельному существованию. Для них характерны: значительная редукция генома, размеры которого варьируют от 580 тыс. до 1.4 млн. пар оснований; низкое содержание Г-Ц оснований, а также значительная пластичность генома.

Ключевой особенностью всех представителей класса Mollicutes является отсутствие LexA-репрессора, основного регулятора SOS-ответа и системы репарации с внесением ошибок. Следует отметить, что микоплазмы, являясь облигатными паразитами, постоянно подвергаются стрессовым воздействиям (повышенная температура, активные формы кислорода, антибиотики) и активно приспосабливаются к ним, что может указывать на существование системы ответа клетки на стресс. Кроме того, ключевые белки SOS-системы (в частности мутаторная ДНК-полимераза IV типа) присутствуют у всех без исключения микоплазм, геномы которых известны в настоящее время.

В настоящей работе мы исследовали методом количественной ПЦР, сопряженной с обратной транскрипцией, изменения уровней мРНК генов, кодирующих ферменты репарации ДНК в условиях стресса, вызванного различными агентами: высокая температура, кислота (HCl), соль (NaCl), перекись водорода. В результате представленной работы мы охарактеризовали систему репарации ДНК у *Mycoplasma gallisepticum* и *Acholeplasma laidlawii*. Кроме того, для теплового и перекисного стресса была показана значительная индукция генов SOS-ответа. Поскольку индукция генов SOS-ответа может приводить к повышению частоты мутаций геномной ДНК, мы также провели сравнения уровней мутагенеза в клетках *Mycoplasma gallisepticum*, подвергнутых стрессовым воздействиям и без них. Оценку частоты мутаций проводили

сравнивая число колоний, выросших на среде со смертельной дозой антибиотиков (ципрофлоксацин и тетрациклин). На сегодняшний день мы не получили значимых отличий по частотам возникновения мутаций, однако планируем продолжить исследовать стресс-индуцированный мутагенез в будущих исследованиях.

МОДЕЛИРОВАНИЕ АНЕМИИ НА КРЫСАХ МЕТОДОМ ЧАСТИЧНОЙ НЕФРЭКТОМИИ ДЛЯ ИСПЫТАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Исмаилова А.М., Панченко Н.А.

ФГБУН Филиал Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Пущино, Россия.

МГУ им. Ломоносова, Москва, Россия.

На данный момент, около четверти населения нашей страны в большей или меньшей степени подвержено анемии. Основными причинами заболевания являются нарушения образования эритроцитов и синтеза гемоглобина. Для испытания лекарственных препаратов нормализующих состав крови необходима адекватная и как можно менее затратная лабораторная модель заболевания. Существует несколько способов моделирования анемии *in vivo*, но все они имеют определенные недостатки. Добиться понижения уровня эритроцитов в крови можно угнетением процесса пролиферации их клеток предшественников – ретикулоцитов. Эритропоэтин – гормон активирующий митоз и созревание эритроцитов из ретикулоцитов, который синтезируется почками. Метод частичной нефрэктомии заключается в удалении 5/6 всей массы почек хирургическим путём в два этапа: первый – удаление 2/3 правой почки, второй – удаление левой почки полностью через две недели после первой операции. Это приводит к значительному снижению уровня эритропоэтина в крови. В результате формируется эритропоэтиндефицитная анемия (ЭДА). В дальнейшем, на этой модели могут тестироваться препараты стимулирующие эритропоэз. Прооперированным крысам вводятся действующие вещества, и через различные промежутки времени проводится забор крови, отслеживаются изменения в ее составе. Активность изучаемого препарата, а так же её зависимость от вводимой дозы можно будет выявить после проведения эксперимента, на основе сопоставления результатов с показателями препарата сравнения. Было выявлено, что метод частичной нефрэктомии достаточно достоверен и наиболее доступен для изучения противоанемических препаратов.

5 α -ХОЛЕСТЕН-3-ОН ИЗМЕНЯЕТ ЦИКЛ СИНАПТИЧЕСКИХ ВЕЗИКУЛ

Касимов М.Р., Петров А.М.

ФГБОУ ВОП Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия.

Синаптическая передача основывается на процессах экзо- и эндоцитоза синаптических везикул. В ходе экзоцитоза содержащие нейромедиатор везикулы сливаются с пресинаптической мембраной, выпуская медиатор в синаптическую щель. Впоследствии эндоцитозом, из встроенных фрагментов мембран везикул, образуется новая везикула, которая заполняется нейромедиатором и может снова обеспечивать секрецию.

Мы исследовали влияние 5 α холестензона (5X3, 200 нМ) на синаптическую передачу в диафрагмальных мышцах мышей. 5X3 не влиял частоту миниатюрных

потенциалов концевой пластинки (МТКП, показатель спонтанной секреции), но угнетал ТКП (показатель вызванной секреции) в ответ на одиночные потенциалы действия. Обработка 5X3 значительно углубляла депрессию ТКП и замедляло выгрузку маркера FM1-43 из синаптических везикул (показатель экзоцитоза везикул) при высокочастотной активности. При этом оцененное время рециклирования (экзо-эндоцитозного цикла) везикул не изменялось, а снижение эффективности синаптической передачи было связано с сокращением популяции везикул, участвующих в освобождении нейромедиатора. Эффект 5X3 зависел от содержания мембранного холестерина. При насыщении плазматических мембран холестерином (с помощью комплекса метил- β -циклодекстрин-холестерин) 5X3 переставал оказывать влияние на выгрузку FM1-43, также обработка препарата удаляющим холестерин агентом (0.1 и 1 мМ метил- β -циклодекстрина) ослабляло эффект 5X3 на выгрузку. Воздействие 5X3 на синаптическую передачу может быть связано с изменением свойств мембраны.

Нами было обнаружено, что 5X3 снижает окрашивание синаптических регионов субъединицей В холерного токсина (маркирующей липидные рафты) и увеличивает флуоресценцию 22-NBD-холестерина, указывая на увеличение жидкой фазы мембраны. Таким образом, предполагается, что, изменяя свойства мембранных микродоменов, 5X3 может уменьшать популяцию везикул, активно участвующих в синаптической передаче в нервно-мышечном синапсе мыши.

Работа поддержана грантами РФФИ №11-04-00094-а и МК-108.2013.4.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ АГОНИСТОВ КАННАБИНОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА СЕКРЕЦИЮ МЕДИАТОРА В НЕРВНО-МЫШЕЧНОМ СИНАПСЕ МЫШИ

Королёва Л.С., Лебедева Ю.А, Герасимова Е.В, Чернова К.С., Ситдикова Г.Ф.
Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Россия.

Каннабиноиды - вещества, оказывающие мощные фармакологические воздействия на нервную систему. Данные эффекты возникают благодаря взаимодействию этих веществ с каннабиноидными рецепторами мембраны двух типов (CB1 и CB2). Оба подтипа рецепторов вовлечены во множество физиологических функций, которые хорошо изучены в центральной нервной системе. Показаны эффекты агонистов CB1-рецепторов и в периферической нервной системе у холоднокровных, где их применение снижало вызванный выпуск медиатора. Однако их действие в периферической нервной системе теплокровных остается не исследованным. В связи с этим, целью данной работы было определение влияния агонистов каннабиноидных рецепторов на секрецию медиатора в нервно-мышечном синапсе мыши. Эксперименты проводили на нервно-мышечных препаратах диафрагмальной мышцы мыши. Двигательный нерв раздражали одиночными электрическими стимулами сверхпороговой амплитуды (частота – 0.2 имп/с). Стеклянными микроэлектродами методом внеклеточного отведения регистрировали токи концевой пластинки (ТКП). В качестве агонистов использовали WIN 55,212-2, который связывается с двумя типами рецепторов и AM 356, агонист CB1 каннабиноидных рецепторов. Результаты обрабатывались стандартными методами. Добавление WIN 55,212-2, в концентрации 10 мкМ, показало обратимое уменьшение амплитуды ТКП до $49,7 \pm 5\%$. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что агонисты каннабиноидных рецепторов WIN 55,212-2 и AM 356, в микромолярных концентрациях, уменьшают вызванное освобождение медиатора в нервно-

мышечном синапсе диафрагмы мышцы. Таким образом, мы можем предположить, что в двигательном нервном окончании мышцы система каннабиноидов эндогенно участвует в модуляции освобождения ацетилхолина.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПОПУЛЯЦИЙ LARIX SIBIRICA LEDEB. НА УРАЛЕ

Красильников В.П., Нечаева Ю.С., Пришнивская Я.В., Боронникова С.В.
ФГБОУ ВПО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Россия.

В настоящее время все наиболее остро встает вопрос сохранения лесов и контроль над промышленным использованием лесных ресурсов. В соответствии с ФЗ №415 от 28 декабря 2013 г. лесоматериалы обязательно должны быть идентифицированы с помощью технологии маркировки. В связи с этим разработка и внедрение эффективных методов молекулярно-генетической идентификации и контроля географического происхождения популяций древесных хвойных видов растений и их древесины приобретает все большую актуальность. Молекулярно-генетическая идентификация популяций *L. sibirica* проведена на основании технологии, предложенной С.В. Боронниковой с учетом нуклеотидного полиморфизма. Для молекулярно-генетической идентификации популяций изучаемого вида отобраны четыре наиболее информативных ISSR-прайма, с помощью которых выявлены эффективные для изучаемых видов рода *Larix* ISSR-маркеры и проведен отбор идентификационных молекулярных маркеров. Для выявления видовых и родовых ISSR-маркеров были использованы данные молекулярно-генетического анализа лиственницы сибирской (*L. sibirica*) и лиственницы европейской (*L. decidua*). В ходе молекулярно-генетического анализа были выявлены уникальные ISSR-маркеры. Из 10 анализируемых популяций лиственницы сибирской уникальные ISSR-маркеры отмечены в 4 популяциях.

Работа выполнена в рамках базовой части государственного задания Минобрнауки России (проект 144, № гос. рег. 01201461915).

ВЛИЯНИЕ ФЛУОКСЕТИНА НА АКТИВНОСТЬ КАРБОКСИПЕПТИДАЗЫ Е В НЕРВНОЙ ТКАНИ КРЫС

Кручинина А.Д., Гамзин С.С., Григорьева О.М.
ФГБОУ ВПО Пензенский государственный университет, Пенза, Россия.

В настоящее время депрессия является одним из наиболее распространенных психических нарушений. Возникновение патологического состояния связывают с нарушениями в функционировании лимбико-таламической и гипоталамо-гипофизарной структур мозга. До сих пор точно не известны механизмы формирования заболевания. Согласно моноаминовой теории данное психическое заболевание связывают с недостатком биогенных аминов, таких как серотонин, норадреналин, дофамин. В связи с этим в фармакотерапии данного заболевания находят широкое применение антидепрессанты, относящиеся к селективным ингибиторам обратного нейронального захвата моноаминов. Флуоксетин является наиболее популярным представителем класса селективных ингибиторов обратного нейронального захвата серотонина в синапсах нейронов центральной нервной системы. Считается, что формирование психических расстройств обусловлено дисбалансом взаимодействий между норадренергической,

серотонинергической, дофаминергической, а также пептидергической системами. Целью данного исследования является изучение влияния флуоксетина на активность фермента обмена регуляторных пептидов – карбоксипептидазы E в различных отделах мозга крысы и надпочечниках. Эксперимент проводился на трехмесячных самцах белых беспородных крыс массой 200-250 г, содержащихся в стандартных условиях вивария. Флуоксетин вводили животным внутривентрикулярно в течение 14 дней, контрольным животным вводили физиологический раствор. Животных декапитировали под хлороформным наркозом, определяли активность карбоксипептидазы E флуориметрически модифицированным методом Fricker и Snyder в отделах мозга. Полученные результаты обрабатывались при помощи методов статистического анализа: 3S критерия и t критерия Стьюдента. По данным исследования было установлено достоверное увеличение активности карбоксипептидазы E в 1,7 раза в гипофизе. Полученные данные свидетельствуют о влиянии селективных ингибиторов обратного нейронального захвата серотонина на функционирование пептидергической системы.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА КАТАЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ЦИТОХРОМА P450

Кузиков А.В., Махова А.А., Шумянцева В.В., Арчаков А.И.

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н.
Ореховича Российской академии медицинских наук, Москва, Россия.

В клинической практике все чаще применяется комплексная терапия при лечении основного заболевания. На сегодняшний день влияние широко используемых в фармакотерапии метаболитических лекарственных препаратов на активность главной системы биотрансформации лекарств – цитохром P450-монооксигеназной системы изучено недостаточно. Эффективность и безопасность проводимой фармакотерапии напрямую зависит от функциональной активности монооксигеназной системы. Многие биологически активные соединения, применяющиеся в комплексной терапии, являются мощными ингибиторами, индукторами или прямыми активаторами каталитической активности различных изоферментов цитохрома P450.

Целью настоящей работы явилось: 1) разработка электрохимического метода анализа каталитической активности цитохрома P450, 2) разработка скринингового электрохимического метода оценки влияния метаболитических препаратов на активность цитохрома P450.

Исследование *in vitro* активности цитохрома P450 является весьма сложной задачей. Цитохромы P450 являются мембранными белками, работа которых требует участия редокс-партнерных белков, коферментов НАДФН или НАДН. Таким образом, исследование цитохрома P450 сопряжено со сложным реконструированием монооксигеназной системы. Электрохимические методы анализа каталитической активности цитохрома P450 не требуют реконструирования системы, использования дорогостоящих редокс-партнеров и неустойчивых коферментов, донором электронов для их работы служит электрод. Высокая чувствительность метода позволяет использовать минимальное количество фермента (до 10-15 моль/электрод).

МЕМБРАНОПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ ПЕПТИДА ДЕЛЬТА-СНА ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОМ СТАРЕНИИ ОРГАНИЗМА

¹Кутилин Д.С., ¹Харченко Е.Ю., ¹Бондаренко Т.И., ²Михалева И.И.

¹Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия.

²Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А.

Овчинникова РАН, Москва, Россия.

Поиск средств, замедляющих преждевременное старение и улучшающих качество жизни, относится к приоритетным научным направлениям современной биомедицины. В этом плане особый интерес представляет дельта-сон индуцирующий пептид – ДСИП, проявляющий геропротекторное и антиоксидантное, действие на организм, молекулярные механизмы реализации которого окончательно не известны. Старение характеризуется «тетрадой» признаков: поражением мембран, инактивацией ферментов, нарушением клеточного деления и накоплением балластных полимеров, включая нуклеиновые кислоты, липиды и белки.

В связи с этим целью нашей работы явилось изучение влияния ДСИП на состояние лизосомальных мембран, которое оценивали, определяя активность кислых пептидгидролаз (рН 4,5) (КПГ) во фракции, обогащенной лизосомами, и растворимой фракции, и по приросту их активности в последней судили о структурно-функциональном состоянии лизосомальной мембраны. Эксперимент выполнен на 158 белых беспородных крысах - самцах в возрасте 2-24 месяцев. Экзогенный ДСИП вводили подкожно крысам в возрасте от 2 до 24 месяцев постнатального развития в дозе 100 мкг/кг массы тела животного курсами по 5 последовательных дней (ежемесячно).

Нами обнаружено, что активность КПГ в растворимой фракции мозга крыс увеличивается в 6-20 и 24-мес., в сердечной мышце в 4 и 8-24 мес., а в печени в 8-24 мес. возрасте по сравнению с 2 месячными животными, что свидетельствует о дестабилизации структуры лизосомальной мембраны с возрастом. При введении ДСИП в течение жизни наблюдается снижение активности КПГ в растворимой фракции мозга у 6, 12-24-мес., сердечной мышцы у 4, 6, 12, 18-24-мес., печени у 6-22-мес. возрасте по сравнению с 2 месячными животными, что характеризует стабилизацию структуры мембран лизосом.

Таким образом, проведенное исследование показало, что ДСИП при старении обладает мембранопротекторным действием, которое вероятно связано с его антиоксидантным эффектом, а также влиянием на состояние биомембран путем изменения их физико-химических параметров: асимметрии, микровязкости, степени погружения белков в мембрану, степени их ассоциации, снижения полярности в гидрофобной зоне бислоя, отрицательного поверхностного заряда мембран, состава и подвижности белков и липидов.

ЛОКАЛИЗАЦИЯ КИССПЕПТИНА И ЕГО РЕЦЕПТОРА В НОРМАЛЬНОМ И ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКОМ ЭНДОМЕТРИИ СРЕДНЕЙ СТАДИИ СЕКРЕЦИИ У ЖЕНЩИН

Ладыгина М.Д.

ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Россия.

Кисспептины являются семейством пептидных медиаторов, обеспечивающим, главным образом, оптимизацию функционирования гонадотропной оси через контроль секреции гонадотропинов. Кисспептин и его рецептор KISS1R,

сопряженный с G-белком, играют ключевую роль в пубертатном развитии и фертильности[1]. Выявлена сильная экспрессия системы KISS/KISS1R в эпителиальных клетках, выстилающих просвет матки и яичники, что указывает на роль в регуляции эпителиальных функций. Отмечена их связь с активностью матриксных металлопротеиназ, пролиферацией и миграцией раковых клеток, ангиогенезом и подавлением метастазирования.

Целью данной работы является изучение локализации кисспептина и его рецептора в ткани эндометрия в норме и при гиперплазии эндометрия (ГЭ). Исследования экспрессии KISS/KISS1R в эндометрии будут полезными в изучении нарушений гормональной регуляции, для установления происхождения заболеваний, характеризующихся нарушением процессов пролиферации и апоптоза, таких как ГЭ. Иммуногистохимическим методом, с применением антител к кисспептину (1:100, Abcam), рецептору кисспептина (1:200, Abcam) и рецепторов прогестерона (1:50, Dako), были исследованы образцы эндометрия средней стадии секреции пациенток с ГЭ (n=20) и контрольной группы (n=10). В эндометрии средней стадии секреции без патологии иммуногистохимическая реакция на антитела к кисспептину и его рецептору отсутствовала или была незначительной. В ходе данной работы было показано, что при гиперплазии эндометрия экспрессия кисспептина и рецептора к кисспептину достоверно выше в железистом компоненте по сравнению со стромальным. Установлена прямая достоверная зависимость между увеличением количества рецептора к кисспептину и рецепторов к прогестерону в стромальном компоненте эндометрия при гиперплазии.

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ВЫДЕЛЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ФАКТОРА СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ VIII ЧЕЛОВЕКА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ АФФИННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Логунов Е.Д., Торохин А.А., Коржавин Д.В.

Биотехнологическая компания ЗАО «Биокад», Москва, Россия.

В последние десять лет статистика показывает неуклонный рост числа гематологических заболеваний, среди которых значительное место занимают наследственные нарушения свертываемости крови. Гемофилия А – наиболее распространенное наследственное заболевание, обусловленное дефицитом фактора свертывания крови VIII. Основное лечение больных гемофилией заключается в внутривенном введении гемопрепаратов, содержащих нативный или рекомбинантный фактор VIII. Наибольшей эффективностью и безопасностью обладают препараты на основе рекомбинантного Фактора VIII. В России для клинического использования зарегистрировано несколько зарубежных лекарственных препаратов, содержащих рекомбинантный фактор VIII. Однако, зарубежные препараты не могут полностью удовлетворить потребности лекарственного рынка России, и, в силу их высокой цены, недоступны широкой категории населения. В связи с этим существует острая необходимость создания аналогичного отечественного препарата.

Для выделения и очистки рекомбинантного фактора VIII использовали ряд последовательных хроматографий на аффинных, ионообменных и гидрофобных сорбентах. Рекомбинантный фактор свертывания крови VIII продуцируется с использованием клеточной линии СНО (клетки яичников китайского хомячка). Молекула состоит из тяжелой 88 кДа и легкой 79 кДа цепи. Эти цепи связаны между собой нековалентной связью. Первоначальную очистку проводили при

помощи аффинной хроматографии. Исследованы некоторые параметры, влияющие на эффективность выделения и чистоту рекомбинантного фактора свертывания крови VIII. Для анализа чистоты и гомогенности полученного белка были использованы методы SDS-электрофореза, ВЭЖХ, молекулярной ДНК-гибридизации, иммуноферментного анализа. Для определения активности полученного белка *in vitro* использовали метод хромогенного субстрата. Показано, что такие параметры, как состав буфера, ионная сила раствора, pH значительно влияют на процесс выделения белка. Подобраны и оптимизированы условия, обеспечивающие максимальный выход рекомбинантного белка из культуральной жидкости.

СОДЕРЖАНИЕ НСЕ И BDNF В СЫВОРОТКЕ КРОВИ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ С ЗАДЕРЖКОЙ ВНУТРИУТРОБНОГО РАЗВИТИЯ И ДИАБЕТИЧЕСКОЙ ФЕТОПАТИЕЙ

Морозова А.Ю., Андреева Н.Г., Милютин Ю.П.

Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии имени Д.О. Отта
Санкт-Петербург, Россия.

В последние десятилетия у новорожденных диагностируется рост неврологических расстройств, развитие которых связано с такими патологиями, как синдром задержки внутриутробного развития (ЗВУР) и диабетическая фетопатия (ДФ). В связи с этим необходимо изучить биохимические параметры, определяющие нарушения формирования функций ЦНС, возникающих в условиях хронической плацентарной недостаточности, наблюдаемой при этих патологиях. Известно, что нейротрофический фактор головного мозга (BDNF) участвует в дифференцировке нейронов головного мозга и является ингибитором апоптоза нервных клеток. Кроме того, показано, что увеличение концентрации нейроспецифических белков, к которым относится нейроспецифическая енолаза (НСЕ), служит маркером повреждения клеточных мембран нейронов головного мозга. Целью работы явилось определение влияния ЗВУР и ДФ на содержание BDNF и НСЕ в сыворотке пуповинной и венозной крови новорожденных. Мы выявили, что ДФ ведет к снижению уровня BDNF в сыворотке пуповинной крови в 2 раза, а при ЗВУР отмечена тенденция к снижению содержания BDNF в 1.3 раза по сравнению со здоровой группой детей. Нами показаны достоверные различия у детей с ДФ между содержанием BDNF в пуповинной крови и венозной крови, а именно уже на первые сутки содержание данного фактора возрастает в 1.5 раза. Результаты определения уровня содержания НСЕ выявили достоверные различия между показателями в пуповинной крови и в венозной крови здоровых детей, т.е. уже на первые сутки содержание НСЕ возрастает в 1.8 раз. Аналогичные изменения наблюдаются в группах детей с ДФ и ЗВУР, при которых содержание НСЕ повышается в 1.7 и 2.1 раз соответственно. Установлено, что у новорожденных с ДФ содержание НСЕ возрастает по сравнению со значениями у здоровых детей в 1.8 раз, как в сыворотке пуповинной крови, так и в венозной крови. При ЗВУР наблюдается тенденция к повышению содержания НСЕ в 1.44 раз по сравнению со здоровой группой на первые сутки жизни новорожденных. Оценив полученные результаты, можно полагать, что после родов у новорожденных детей с ДФ и ЗВУР содержание BDNF ниже, чем у детей в здоровой группе, что свидетельствует об отставании в развитии нейронов и формирования синапсов. Однако уже к первым суткам содержание BDNF практически не отличается от содержания у здоровых детей, что обусловлено

восстановлением нейропротекторных функций данного фактора. Кроме того,ДФ и ЗВУР приводят к повышению содержания в сыворотке крови НСЕ, что указывает на возможные ишемические повреждения головного мозга, которые ведут к нарушению структурной целостности мембран нейрональных клеток.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ МИКРОВЕЗИКУЛ КРОВИ НА ДИНАМИКУ ФИБРИНООБРАЗОВАНИЯ

¹Набиуллина Р.М., ¹Мустафин И.Г., ²Литвинов Р.И., ³Файзуллин Д.А.

¹ФГБОУ Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия.

²ФГБОУ Казанский (Приволожский) федеральный университет, Казань, Россия.

³ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, Казань, Россия.

Существуют значительные индивидуальные вариации структуры фибринового сгустка, так как и генетические и экзогенные факторы определяют баланс между стабильностью и подверженностью сгустка фибринолизу. В крови присутствуют микровезикулы, механизм образования которых, заключающийся в «отшнуровке» от наружной клеточной мембраны, обеспечивает им прокоагулянтные свойства. Целью настоящего исследования явилась оценка кинетики фибринообразования под влиянием циркулирующих микровезикул, образующихся *in vivo* у здоровых людей.

Методы: венозную кровь 15 здоровых доноров стабилизировали 3,8% цитратом натрия и центрифугировали дважды 1500 g, 15 минут и далее 10000 g, 5 мин, 21°C для получения свободной от тромбоцитов плазмы (СТП). Применяли фильтрацию СТП через фильтр с размерами пор 0,1мкм (Millipore) для получения обедненной микровезикулами плазмы (ОМП). Подсчет микровезикул в СТП и ОМП производился методом проточной цитометрии. Турбидиметрическое исследование свертывания СТП и ОМП производили после рекальцификации по увеличению оптической плотности среды. Полученные сгустки исследовали методом сканирующей микроскопии.

Результаты: количество микровезикул в СТП составило $10,75 \pm 4,5 \times 10^4$ /мкл; ОМП – $1,03 \pm 0,47 \times 10^4$ /мкл, то есть при выбранном режиме фильтрации достигалось удаление ~90% микровезикул. При сравнительной турбидиметрии рекальцифицированных СТП и ОМП выявлено, что удаление популяции микровезикул, размером больше 0,1 мкм, сопровождается удлинением лаг периода T1, времени возрастания оптической плотности T2, повышением максимальной оптической плотности A350 и снижением tg α . При обогащении ОМП фосфолипидами происходило укорочение лаг периода T1 и снижение максимальной оптической плотности A350 по сравнению с ОМП. Вместе с тем, время возрастания оптической плотности T2 сокращалось, а tg α повышался по сравнению с СТП. Это свидетельствует о том, что фосфолипидная поверхность микровезикул, является не единственным фактором, обеспечивающим их влияние на кинетику фибринообразования и структуру фибрина. Поскольку в наших экспериментах свертывание не инициировалось тромбином, то лаг-период включает в себя как время, необходимое для генерации тромбина в образце, так и время образования мономеров фибрина из фибриногена. Более медленная полимеризация приводит к формированию более толстых волокон фибрина с высокой оптической плотностью. Этот факт нашел подтверждение при сканирующей микроскопии сгустков СТП и ОМП.

**КОНСТРУИРОВАНИЕ АНТИСЕНС-ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ,
ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИХ С БАКТЕРИАЛЬНОЙ РИБОНУКЛЕАЗОЙ Р**
Назаров А.С.

ФГБОУ ВОП Новосибирский государственный университет, Россия.

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

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

**PSIA: НОВЫЙ ПРОТЕОМНЫЙ МЕТОД ИДЕНТИФИКАЦИИ БЕЛКОВ,
ФОРМИРУЮЩИХ АМИЛОИДЫ И ДЕТЕРГЕНТ-УСТОЙЧИВЫЕ
КОМПЛЕКСЫ**

¹Нижников А.А., ^{1,2}Рыжова Т.А., ³Александров А.И., ³Митькевич О.В., ^{1,2}Инге-Вечтомов С.Г., ^{1,2}Галкин А.П.

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Россия.

²Санкт-Петербургский филиал ИОГен им. Н.И. Вавилова РАН, Россия.

³Институт биохимии им А.Н. Баха РАН, Россия.

Амилоиды представляют собой фибриллярные упорядоченные белковые агрегаты, в которых мономеры связаны за счет формирования упорядоченных межмолекулярных бета-слоев. Специфической подгруппой амилоидов являются прионы, представляющие собой амилоиды, обладающие инфекционными свойствами. Феномен амилоидогенеза в настоящее время привлекает внимание исследователей по всему миру не только из-за крайне высокой биомедицинской значимости, вызванной тем, что около 40 неизлечимых заболеваний человека

ассоциированы с различными амилоидами, но также и потому, что в последнее время накапливается все больше свидетельств в пользу важной функциональной роли этих белковых агрегатов. Наиболее существенной проблемой, с которой сталкиваются исследователи при изучении амилоидов, является отсутствие универсальных методов их идентификации. Именно поэтому идентификация каждого нового амилоида или приона является заметным событием в научном мире. Нами разработан метод, названный PSIA (Proteomic Screening for Identification of Amyloids), который впервые позволяет идентифицировать всю совокупность клеточных белков, формирующих амилоиды. Он основан на необычной устойчивости амилоидов к ионным детергентам. Данный метод обладает высокой разрешающей способностью, обусловленной использованием двумерного разностного гель-электрофореза (2D-DIGE), а также оригинального способа разделения полимерных белковых фракций по их устойчивости к хаотропным агентам. Эффективность PSIA доказана путем идентификации целого ряда контрольных амилоидов (PrP, A β , Htt, Bgl2p, а также прионных форм Sup35p и Rnq1). Также к настоящему времени с его помощью удалось выявить целый ряд белков, которые, как и охарактеризованные ранее амилоиды, формируют детергент-устойчивые полимеры в клетках *Saccharomyces cerevisiae*. В целом, разработка PSIA открывает широкие перспективы для описания нормальных и патологических ландшафтов амилоидных белков у различных организмов от прокариотов до человека.

**ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКИ ПОТРЕБЛЯЕМЫХ АНТИОКСИДАНТОВ
ФЛАВОНОИДА КВЕРЦЕТИНА И ЭКСТРАКТА ЗЕЛЕННОГО ЧАЯ НА
ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЙ БАЛАНС В КРОВИ КРЫС,
ПОДВЕРГАВШИХСЯ БЕГОВОЙ НАГРУЗКЕ**

Новожилов А.В., Тавровская Т.В., Морозов В.И., Гончаров Н.В.

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия.

Необходимость использования антиоксидантов продиктована их способностью улавливать свободные радикалы, образующиеся в избыточном количестве при физических нагрузках и повреждающие клеточные структуры. Благодаря этому они способны повышать восстановительные способности крови как за счет экономии собственных внутриклеточных и внеклеточных растворимых антиоксидантов, так и антиоксидантных ферментов. Данная особенность антиоксидантов может быть использована для противодействия окислительному стрессу в клетках и повышению работоспособности организма. Исследовалось влияние кверцетина и экстракта зеленого чая (ЭЗЧ) на состояние антиоксидантной системы эритроцитов при регулярной беговой нагрузке у крыс (7 дней, 10 мин/день). Крысы были поделены на 4 группы: 1 – бег, 2 – бег + ЭЗЧ (Sunphenon, Japan; главный компонент - катехины 80%) (7 дней, 12 мг/кг п/о), 3 – бег + кверцетин (7 дней, 20 мг/кг п/о) (n=10 в каждой группе), 4 – интактный контроль (n=5). На 7-й день крысы были подвергнуты бегу на тредмиле до отказа. Кровь собирали путем декапитации. В отмытых эритроцитах определяли концентрацию восстановленного глутатиона (ВГ), ТБК реагирующих продуктов (МДА) и активность ферментов: супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), глутатионпероксидазы (ГП) и глутатионредуктазы (ГР) и соотношение СОД/КАТ (прямо пропорционально скорости накопления H₂O₂ в клетках, который является инициатором ПОЛ). Установлено, что регулярная беговая нагрузка

способствовала достоверному увеличению активности СОД (+19.0%) и повышению концентрации ВГ (+10.4%) по сравнению с интактным контролем (р *Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант 13-04-00509.*

ХОЛЕСТЕРИН И ЭФФЕКТЫ АКТИВАЦИИ БЕТА2-АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ ПРЕДСЕРДИЙ

Одношивкина Ю.Г., Косарева А.В., Петров А.М.

ФГБОУ ВОП Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия.

β 2-адренорецепторы играют важную роль в регуляции сердечной деятельности. Большинство β 2-адренорецепторов располагается в обогащенных кавеоломином 3 и холестерином микродоменах (кавеолах). Удаление холестерина ведет к нарушению кавеол и, следовательно, изменению микроокружения рецептора. С помощью тензометрического и флуоресцентных (метка на холестерин – филиппин III, Са-индикатор Fluo4AM, маркер на оксид азота – DAF-FM) методов исследовалась роль холестерина в эффекте активации β 2-адренорецепторов предсердий мыши агонистом фенотеролом (50 мкМ). Для этого предварительно удаляли мембранный холестерин с помощью 1 и 5 мМ метил- β -циклодекстрина (МЦД). Инкубация с 1 и 5 мМ МЦД приводила к снижению содержания мембранного холестерина примерно на 15 и 35%. Предварительная обработка МЦД (1 и 5 мМ) существенно снижала положительный инотропный эффект, вызываемый фенотеролом. После удаления мембранного холестерина 1мМ МЦД, под воздействием фенотерола наблюдалось более сильное увеличение продукции NO, тогда как после предварительной обработки препарата 5 мМ МЦД фенотерол не только существенно увеличивал продукцию NO, но и значительно слабее увеличивал амплитуду Са-волн (сигналов). Инотропная реакция на агонист почти полностью восстанавливалась при блокировании NOсинтазы (в случае 1 мМ МЦД) и ингибирования протеинкиназы В (в случае 5 мМ МЦД). Существенно менее выраженное угнетение положительной инотропной реакции на фенотерол после обработки МЦД (1 и 5 мМ) происходило у мышей, которым предварительно был инъецирован коклюшный токсин, ингибирующий Gi-протеин. Следовательно, холестерин плазматических мембран – необходим для правильного сопряжения β 2-адренорецептора с внутриклеточными сигнальными каскадами, контролирующими сократительную функцию. При этом удаление холестерина усиливает бета2-адренэргическую активацию каскада Gi-белок- протеинкиназа В – NO синтаза, препятствующего увеличению силы сокращений.

Работа поддержана грантами РФФИ №14-04-00422-а и МК-108.2013.4.

ИНТЕРНЕТ-РЕСУРС ДЛЯ АППРОКСИМАЦИИ ЭНЦЕФАЛОГРАММ

Оплачко Е.С., Рыкунов С.Д., Устинин М.Н.

ФГБУН Институт математических проблем биологии РАН, Пущино, Россия.

Разработана система для анализа данных энцефалографии, в данный момент доступны возможности построения высокоточного разложения в ряды Фурье полных спектров, разложения в ряды Фурье скользящим окном и восстановления временных рядов по заранее рассчитанному спектру. Исполнение в виде веб-приложения даёт возможность использовать систему без установки дополнительного программного обеспечения и не требует от пользователя наличия значительных вычислительных мощностей. Организация системы в виде

веб-приложения позволяет снизить порог вхождения для использования кластера, так как не требует от пользователя специфических навыков работы с кластерным программным обеспечением.

Интернет-ресурс состоит из четырех функциональных блоков: пользовательского веб-интерфейса, системы хранения, системы управления вычислительными ресурсами и набора расчетных программ. Веб-интерфейс написан на языке PHP и служит для загрузки входных данных, задания параметров расчета, визуализации и скачивания результатов. Система хранения представляет собой связку из скриптов на языках Python и PHP и базы MySQL, в которой хранятся ссылки на файлы данных, формализованные описания энцефалографических экспериментов, основные параметры расчетов и визуализации полученных спектров. Система управления ресурсами состоит из набора программ, написанных на языке Python с использованием библиотеки SAGA, и менеджера ресурсов SLURM. Использование такой связки предоставляет возможности создания очереди вычислительных заданий, распределения ресурсов между пользователями системы и, при необходимости, легкого расширения вычислительной мощности системы путём добавления в неё дополнительных вычислительных узлов или использования сторонних вычислительных мощностей, например, существующего кластера. Использование библиотеки SAGA позволяет взаимодействовать с такими системами управления очередями, как PBS, TORQUE, SGE (Sun/Oracle Grid Engine), SLURM и LSF, также имеется механизм для взаимодействия с Amazon EC2. Расчетные программы написаны на языке Python с использованием библиотек numpy, scipy и numexpr. Такое сочетание библиотек позволяет быстро разрабатывать и внедрять новые расчетные методы, и манипулировать данными в формате Matlab. Для визуализации используется библиотека Matplotlib.

Работа выполняется при поддержке РФФИ, проекты 14-07-12183, 13-07-00162, 14-07-31309.

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ, ЛЕЖАЩИХ В ОСНОВЕ КИНЕТОХОР-ЗАВИСИМОГО РОСТА МИКРОТРУБОЧЕК У DROSOPHILA MELANOGASTER: АНАЛИЗ РОЛИ БЕЛКОВ EB1, MAST, MARS И MEI-38

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

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

² ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск, Россия.

³ ФГБОУ ВОП Новосибирский государственный университет, Россия.

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

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

посредством РНК-интерференции приводило к укорочению митотического веретена деления. При истощении белка Mast наблюдались нарушения взаимодействия МТ с кинетохорами, что проявлялось как в частом образовании монополярного веретена деления, так и в остановке деления клетки с биполярным веретёном на стадии прометафазы или метафазы. РНК-интерференция генов Eb1, mars и mei-38 задерживала переход делящейся клетки из метафазы в анафазу. Исследования ПРМТ показали, что истощение белка Eb1 или Mast значительно подавляет кинетохор-зависимый рост МТ, в то время как истощение белка Mei-38 имеет лишь незначительный подавляющий эффект. РНК-интерференция гена mars не влияет на ПРМТ.

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО УМЕРЕННОГО НЕКОНТРОЛИРУЕМОГО СТРЕССА ПОВСЕДНЕВНОСТИ НА КРЫС СРЕДНЕГО ВОЗРАСТА

Райт Д.В., Грошев Д.С., Виноградова Е.П.

Санкт-Петербургский государственный университет, Россия.

На сегодняшний день депрессивное расстройство является одним из самых распространенных психических заболеваний человечества, и наибольшую опасность представляет депрессия, формирующаяся в результате хронического умеренного неконтролируемого стресса, когда человек ежедневно подвергается неблагоприятным разномодалым воздействиям внешней среды, характер и вероятность возникновения которых он не может предсказать. Целью данной работы было изучение влияния возрастного фактора на возникновение депрессивно-подобного состояния после хронического умеренного неконтролируемого стресса в модельных экспериментах на крысах.

В эксперименте были использованы 80 самцов крыс линии Wistar. В возрасте 8 месяцев животные были протестированы в батарее тестов для выявления психофизиологических характеристик - предпочтение сладких растворов, приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ) и тест Порсолта. Затем крыс подвергли процедуре стрессирования с использованием набора умеренных стрессоров в течение месяца и провели вышеуказанные тесты снова.

Хронический умеренный неконтролируемый стресс вызывает депрессивно-подобное состояние, характеризующееся развитием агедонии, снижением двигательной активности и когнитивных функций. В нашем исследовании было выявлено развитие агедонии (снизилось потребление раствора 20% сахарозы ($33,78 \pm 1,77$ г, $23,49 \pm 2,22$ г, р

Таким образом, в ходе нашего исследования было показано, что основной паттерн поведенческих изменений у пожилых животных сходен с поведенческой картиной, показанной ранее на молодых животных: развивается депрессивно-подобное состояние и агедония, так же выявлены недостоверные изменения двигательной активности, которые по-прежнему спорны и неоднозначны.

УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ПОВЕРХНОСТНЫХ СТРУКТУР КЛЕТОК НОВЫХ УЛЬТРАМЕЛКИХ БАКТЕРИЙ (ШТАММЫ Ф2 И ФМ3), ХАРАКТЕРИЗУЮЩИХСЯ ШИРОКИМ СПЕКТРОМ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ

Росс Д.В., Поливцева В.Н.

ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина
РАН, Пушкино, Россия.

Изучение новых продуцентов биологически активных веществ, в том числе обладающих антимикробной активностью, приобретает особое значение на фоне растущей резистентности патогенных микроорганизмов к известным антибиотикам.

Нами выделены два новых штамма, обладающие антагонистической активностью по отношению к широкому ряду грамположительных и грамотрицательных бактерий: штамм Ф2 (принадлежит к роду *Microbacterium*), выделен из многолетнего нефтешлама, и штамм FM3 (принадлежит к роду *Stenotrophomonas*), выделен с поверхности кожных покровов шпорцевой лягушки *Xenopus laevis*. На клетках этих штаммов обнаружены особые поверхностные ультраструктуры, возможно участвующие в процессе контактного взаимодействия с бактериями-жертвами. Штамм FM3 формирует везикулы наружной мембраны, которые экскретируются в межклеточное пространство в ассоциированном с S-слоем состоянии, S-слой образует протяженные трубчатые структуры, которые выявляются в межклеточном пространстве как в свободном, так и в прикрепленном к поверхности клеток тест-культур состоянии. На поверхности клеток штамма Ф2 были выявлены электронно-плотные глобулы размером до 40 нм, равномерно распределенные по всей поверхности клеточной стенки. Анализ негативноокрашенных препаратов бактерий штамма Ф2 позволил выявить в межклеточном пространстве множественные глобулярные структуры диаметром преимущественно 25-35 нм. Численность глобулярных структур резко уменьшается в препаратах клеток, взятых из глубокого стационара.

Полученные результаты позволяют считать, что выделенные штаммы являются перспективными объектами для дальнейшего изучения межмикробных антагонистических взаимодействий, а также роли в этих процессах поверхностных клеточных структур.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЗАЩИТНЫХ ЭФФЕКТОВ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ ИЗ *RHODOBACTER CAPSULATUS* PG ОТ ДЕЙСТВИЯ ЭНДОТОКСИНОВ НА СИНТЕЗ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ

¹Серов Д.А., ²Зубова С.В., ²Кабанов Д.С.

¹Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль, Россия.

²Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Россия.

Грамотрицательный септический шок – одна из основных причин гибели пациентов даже при наличии адекватной лечебной терапии, поэтому поиск новых подходов к лечению септического шока является актуальной проблемой современной медицины. Один из подходов в лечении сепсиса – использование нетоксических форм липополисахаридов (ЛПС). Кандидатом в средства превентивного лечения септического шока является ЛПС из *Rb. capsulatus*. Основным цитокином, запускающим каскад реакций развития септического шока, является TNF- α , следовательно, по его уровню можно оценить степень развития септического шока. В качестве модельной системы были выбраны дифференцированные клетки линии THP-1.

Цель исследования: Оценить защитные эффекты ЛПС из *Rb. capsulatus* от активации клеток эндотоксинами по уровню синтеза TNF- α . Материалы и методы: Материалы исследования – ЛПС из *E. coli* O55:B5 и *Salmonella enterica* серотип Typhimurium (Sigma); в качестве антагониста использовали ЛПС из *Rb. capsulatus* PG. Объект исследования – клетки моноцитарной линии THP-1,

дифференцированные 1,25-дигидрокси-витамином D₃. Определение уровня TNF- α в образцах проводили методом твердофазного ИФА.

В ходе исследования установлено, что предварительная инкубация дифференцированных ТНР-1 клеток с ЛПС из *Rb. capsulatus* до стимуляции эндотоксинами вызывает достоверное снижение индукции TNF- α по сравнению с клетками, стимулированными только токсическими ЛПС. При стимуляции ЛПС из *E. coli* продукция TNF- α снижалась с $74 \pm 8,2$ пг/мл до $38,7 \pm 6,7$ пг/мл, в случае с *S. enterica* – с $85,3 \pm 17,9$ пг/мл до $48,5 \pm 0,4$ пг/мл. Мы определили наличие защитного эффекта ЛПС из *Rb. capsulatus* против действия эндотоксинов и возможного развития септического шока в ответ на них. При выполнении аналогичных исследований на цельной крови человека были выявлены те же закономерности, но интенсивность ответов была более выраженной зависела от конкретного донора. На ТНР-1 клетках, дифференцированных 1,25-дигидрокси-витамином D₃, ЛПС *Rb. capsulatus* PG проявляет защитный эффект от действия эндотоксинов из *E. coli* и *S. enterica*, определяемый по уровню индукции TNF- α . Дифференцированные клетки ТНР-1 могут служить удобной моделью для исследования влияния эндотоксинов.

ИССЛЕДОВАНИЕ КОНФОРМАЦИОННЫХ ПЕРЕХОДОВ ПЕПТИДНОГО АНТИГЕНА, МОДЕЛИРУЮЩЕГО ИММУНОДОМИНАНТНЫЙ ЭПИТОП 2-Й ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ПЕТЛИ β 1-АДРЕНОРЕЦЕПТОРА

Сидорова М.В., Орлова А.В.

ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс»
Минздрава РФ, Москва, Россия.

β 1-Адренорецептор экспрессируется в кардиомиоцитах и играет важную роль в регуляции сердечной деятельности. Аутоантитела к нему вызывают особый интерес среди маркеров аутоиммунных процессов, т.к. обладают катехоламиноподобным действием, вызывая нарушения в работе рецептора *in vitro*. Антитела к β 1-адренорецептору выявляют у 50% больных идиопатическими желудочковыми аритмиями и 35% больных нарушениями проводимости. Ранее с помощью методов компьютерного моделирования была построена полипептидная структура конформационного антигена, получен оригинальный бициклический полипептид, соответствующий предложенной структуре конформационного антигена, изучена пространственная структура синтетического конформационного антигена. При этом было показано существование двух конформационных форм.

Целью данного исследования было определение возможности конформационного перехода между этими формами при помощи флуоресцентного анализа полученного конформационного антигена. В качестве основного параметра использовалось отношение интенсивности флуоресценции образцов на длинах волн 320 и 360 нм при возбуждающей длине волны 280 нм.

В ходе исследования было показано, что антиген имеет жесткую структуру и не изменяет своей конформации при варьировании показателей рН и окислительно-восстановительного потенциала среды. Также было установлено, что присутствие высоких концентраций мочевины также не способствует изменению конформации антигена.

**ПОЛУЧЕНИЕ ХИМЕРНОГО БЕЛКА GFP-ЛИЗОЦИМ ДЛЯ
ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОЦЕССОВ НУКЛЕАЦИИ БЕЛКОВЫХ
КРИСТАЛЛОВ ПРИ ПОМОЩИ КОНФОКАЛЬНОЙ
МИКРОСПЕКТРОСКОПИИ**

¹Симановская А.А., ²Горященко А.С., Липкин А.В.¹, ^{1,2}Качалова Г.С.

¹Национальный исследовательский центр Курчатовский институт, Москва, Россия.
ФГБУН Иститут биохимии им.А.Н.Баха РАН, Москва, Россия.

В современных структурных, геномных и протеомных проектах рентгеноструктурный анализ (РСА) кристаллов биополимеров является основным методом определения пространственной структуры биологических макромолекул и их комплексов. Это важно как для решения фундаментальных проблем механизмов их функционирования, участия в метаболической регуляции и организации надмолекулярных структур, так и для рационального дизайна новых лекарственных препаратов и биокатализаторов. Ограничение применения РСА для таких исследований связано с доминированием эмпирических подходов выращивания биокристаллов, в основном, метода проб и ошибок, что согласно статистике проводимых структурно-геномных проектов приводит к успеху лишь в 10% случаев. Для разработки общих теоретических представлений о процессах кристаллизации макромолекул необходимы новые экспериментальные подходы, особенно при изучении механизма зародышеобразования кристаллической фазы, а также формирования обратимых ассоциатов (кластеров) в насыщенных растворах биополимеров на стадии, предшествующей возникновению зародышей. Для исследования процессов нуклеации белковых кристаллов предложено использовать метод лазерной сканирующей конфокальной спектроскопии. В качестве объекта исследования был выбран фьюжн-белок лизоцима(HEWL) и EGFP (Enhanced Green Fluorescence Protein — (S65T) мутантный вариант зеленого флуоресцентного белка), флуоресцентные свойства которого необходимы для визуализации процессов кристаллизации рекомбинантного лизоцима. EGFP использован, так как его пик поглощения (484 нм) существенно удален от ультрафиолетовой области, к которой близок максимум возбуждения GFP (395нм), что предпочтительней при работе с методами оптической микроскопии, а также позволяет избежать радиационного разрушения S-S мостиков лизоцима ультрафиолетовым излучением. В данной работе представлены результаты по конструированию, экспрессии, очистки и предварительной кристаллизации EGFP и EGFP-HEWL рекомбинантных белков. Приведены сравнительные спектральные и физико-химические характеристики полученных белков и обсуждаются предварительные условия их кристаллизации.

**ЭФФЕКТЫ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО ВВЕДЕНИЯ СИНТЕТИЧЕСКИХ
ФРАГМЕНТОВ ЭНДОГЕННОГО ПЕПТИДА НЕСФАТИНА-1 НА
ПОВЕДЕНИЕ БЕЛЫХ КРЫС**

Скобелева В.М., Тарасова А.Ю., Рудько О.И.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
биологический факультет, Москва, Россия.

Пептид несфатин-1 (82 а.к.) является продуктом белка-предшественника нуклеобиндина-2. В литературе были показаны анорексигенные эффекты несфатина-1 и выдвинуты предположения о его влиянии на психоэмоциональные проявления нервной анорексии. Ответственным за поведенческие и

физиологические изменения считается центральным сегментом несфатина-1 - M30, однако данных об эффектах его прямого введения на животных практически нет. Целью работы явилось изучение поведенческих эффектов прямого периферического введения впервые синтезированных нами фрагментов активного участка несфатина-1(M30) на поведение белых крыс.

В работе использовались пептиды Nesf18 (18 а.к.) и Nesf27 (27 а.к.), являющиеся фрагментами M-30. Работа выполнена на 50 белых крысах-самцах (*Rattus norvegicus*). Nesf18 и Nesf27 вводились внутривентриально в дозе 100 мкг/крысу в 0,2 мл физраствора. Контролю вводился физиологический раствор в том же объеме. Поведенческие эффекты оценивались после однократного и после курсового введения препаратов (11 дней) в тестах: приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ) и тест Порсольты.

После однократного введения в ПКЛ для обеих опытных групп было показано статистически значимое снижение числа выглядываний, для группы Nesf18 статистически значимое снижение числа стоек и поведения риска. В тесте Порсольты наблюдалось статистически значимое увеличение времени иммобилизации для группы Nesf27, а также статистически значимое снижение времени пассивного плавания для обеих групп. Данные изменения позволяют говорить о наличии анксиогенного и депрессивного компонента в поведении.

После курсового введения изменения стали более выраженными, при сохранении своей направленности. Депрессивноподобное поведение крыс подтвердилось значительным статистически значимым увеличением времени иммобилизации обеих опытных групп, также статистически значимым снижением времени пассивного плавания для группы Nesf18. В ПКЛ для группы Nesf27 было показано снижение двигательной активности - статистически значимое уменьшение числа переходов по лучам лабиринта. Данные изменения сопровождались статистически значимым снижением веса животных:(85% контроля р

Таким образом, хроническое введение Nesf18 и Nesf27 оказывает анорексигенный эффект, сопровождаемый появлением депрессивных компонентов в поведении крыс, сходный с показанными в литературе эффектами несфатина-1. Впервые показанные эффекты курсового введения фрагментов несфатина-1 в дальнейшем могут оказаться ценными в разработке терапии избыточной массы тела.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (15-04-02188).

МУТАЦИИ ГЕНА FGFR3 У ПАЦИЕНТОВ С НЕМЫШЕЧНО-ИНВАЗИВНЫМ РАКОМ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

Смаль М.П., Ролевич А.И., Красный С.А., Поляков С.Л., Гончарова Р.И.

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси. Минск, Беларусь.

Рак мочевого пузыря (РМП) занимает девятое место среди всех злокачественных новообразований. Для опухолей мочевого пузыря характерна морфологическая и клиническая гетерогенность, обусловленная их генетической разнородностью. Предполагается существование двух альтернативных генетических путей в патогенезе уротелиальной карциномы, один из которых характеризуется высокой частотой активирующих мутаций гена FGFR3. В ряде работ было показано, что мутации данного гена наблюдаются чаще в папиллярных немышечно-инвазивных опухолях и коррелируют с благоприятным прогнозом.

Целью исследования явилось изучение частоты и спектра точечных мутаций гена FGFR3 при немышечно-инвазивном РМП и их связи с демографическими и клинико-морфологическими характеристиками.

В период с 2010 по 2013 гг. у всех пациентов с первичными и рецидивными опухолями мочевого пузыря, подлежащих ТУР либо диагностической цистоскопии с биопсией, производился забор опухолевого материала. Из свежего и парафинизированного материала выделяли ДНК, мутационный статус гена FGFR3 определяли с помощью метода SNaPshot. Всего в проспективное исследование включено 272 пациента (217 мужчин и 55 женщин), средний возраст которых составил $66,5 \pm 11,0$ лет. Мутации гена FGFR3 обнаружены в 164 случаях (60,3%), причем двойные мутации выявлены в 10 опухолях. Определены 9 различных однонуклеотидных миссенс-мутаций, среди которых наиболее часто присутствовали мутации S249C (63,8%), R248C (13,2%) и Y375C (16,1%), локализованные в 7 и 10 экзонах исследуемого гена. Мутации гена FGFR3 статистически значимо ассоциированы с высокой степенью дифференцировки опухоли. Так, в G1 опухолях мутации встречались с частотой 72,4%, G2 – 52,6% и G3 – 27,3%. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что мутантный статус гена FGFR3 характерен для немышечно-инвазивных опухолей с высокой степенью дифференцировки и может быть использован в качестве дополнительного маркера благоприятного течения РМП.

ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ КОМПОНЕНТЫ МЕТАБОЛИЗМА РЕТИНОЛА ПРИ СВЕТЛОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ПОЧКИ МЕТОДОМ ПЦР-РВ

Снежкина А.В., Садритдинова А.Ф., Дмитриев А.А., Мельникова Н.В.,
Кудрявцева А.В.

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии
наук, Москва, Россия.

Канцерогенез – сложный многоэтапный процесс перерождения нормальных клеток в злокачественные. Опухолевая трансформация характеризуется комплексными генетическими (соматические мутации, хромосомные aberrации, рекомбинации ДНК) и эпигенетическими (метилование ДНК, гистоновый код, некодирующие РНК) нарушениями, которые приводят к изменению экспрессии онкогенов и генов-супрессоров опухолевого роста. Также характерной особенностью канцерогенеза является изменение основных путей метаболизма. Например, известно, что при карциномах, в том числе раке почки, происходит изменение метаболизма ретинола. Ретинол регулирует процессы роста, деления и дифференцировки клеток. Основным продуктом метаболизма ретинола - ретиноевая кислота связывается с транскрипционными факторами и регулирует экспрессию множества генов. Воздействие ретиноевой кислотой *in vitro* вызывает многочисленные биохимические и метаболические изменения в тканях. В настоящее время благодаря своему широкому спектру действия ретиноевая кислота используется в клиниках для лечения кожных заболеваний и является потенциальным кандидатом для профилактики рака и терапии клеток на стадии дифференцировки.

Нами проведен комплексный биоинформатический анализ нескольких типов транскриптомных данных нормальных и опухолевых тканей почки: нуклеотидных последовательностей E-North и SAGE, данных гибридизации кДНК на микропанелях MAGE. Эти данные позволили провести предварительную

оценку содержания мРНК генов, кодирующих компоненты основных этапов метаболизма ретинола: ферменты, ретинолсвязывающие белки и рецепторы ретиноидов в опухолевых тканях почки и исключить из экспериментального исследования гены с относительно низким уровнем экспрессии - RPE65, LRAT, RDH8, RBP2, RXRG и RORB. С помощью метода ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) нами проведена оценка относительного уровня мРНК 23-х генов, кодирующих компоненты метаболизма ретинола при светлоклеточном раке почки (СПР). Выявлено несколько потенциальных генов-супрессоров со значительным снижением экспрессии: ADH1B, RDH12, ALDH1A2, RBP4, а также один ген со значительным повышением экспрессии, потенциальный онкоген – RBP7. Для генов AKR1C1, RDH14, RDH5, RDH13, ALDH1A3, RARB, RARG и RORC показана дерегуляция экспрессии. Экспрессия остальных 10-ти генов не изменялась. Таким образом, полученные данные о разнонаправленных значительных изменениях экспрессии исследуемых генов при СПР свидетельствуют о нарушении метаболизма ретинола в опухолевых клетках.

**ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ
АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ ИЗ КУЛЬТУРЫ LACTOBACILLUS
PLANTARUM 8PA-3**

¹Соболева А.В., ¹Колобов А.А., ¹Гришина Т.В.

¹ФГБОУ ВОП Санкт-Петербургский Государственный университет, Санкт-Петербург, Россия.

Профилактика и терапия заболеваний, вызываемых патогенными микроорганизмами, является одной из важнейших задач современной медицины. Антимикробные пептиды пробиотических лактобактерий можно рассматривать в качестве потенциальных антибактериальных и противогрибковых лекарственных веществ, перспективных для последующего создания медицинских препаратов. Секвенирование генома промышленного пробиотического штамма *Lactobacillus plantarum* 8PA-3 выявило наличие локуса, отвечающего за синтез двух бактериоцинов EF и NC8.

В работе охарактеризован спектр молекулярных масс пептидов, обладающих антимикробной активностью, выделенных из культуры *Lactobacillus plantarum* 8PA-3.

Экстракцию низкомолекулярных бактериоциноподобных пептидов проводили из культуры *Lactobacillus plantarum* 8PA-3 препаративными методами: кислотная экстракция пептидных фракций раствором 5% уксусной кислоты и ультрафильтрация через фильтры 10 кДа и 1 кДа. Фракционирование группы низкомолекулярных полипептидов осуществляли хроматографическими методами, такими как катионообменная хроматография и обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография на хроматографе ÄKTAexplorer 10S. Хромато-масс-спектрометрический анализ производили на приборе LC/MS Agilent Technologies. В процессе хромато-масс-спектрометрического анализа полученной ранее фракции антимикробных пептидов с молекулярной массой до 10 кДа было показано наличие множества однозаряженных компонентов белковой низкомолекулярной матрицы (масса/заряд 300-750), входящей в состав питательной среды MRS, а также присутствие относительно высокомолекулярных пептидов с молекулярной массой: 2946,7 Да; 3784,2 Да; 3883,9 Да; 3896,2 Да; 3900,0 Да; 4611,1 Да; 5454,9 Да и 6280,4 Да. Несмотря на наличие высокой антимикробной активности полученной фракции низкомолекулярных пептидов из

культуры *Lactobacillus plantarum* 8PA-3, спектр молекулярных масс пептидов, охарактеризованных с помощью хромато-масс-спектрометрического анализа, не соответствуют массам предсказанных бактериоцинов.

Работа выполнялась в рамках гранта НИР СПбГУ Ф-№0.37.123.2011 "Морфофизиологические и биохимические аспекты антимикробного воздействия бактериоцинов".

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

Спицын М.А., Кузнецова В.Е., Шершов В.Е., Гусейнов Т.О., Лапа С.А., Киселева Я.Ю., Радько С.П., Чудинов А.В.

ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия.

Определенные последовательности нуклеиновых кислот (НК) способные специфично взаимодействовать с биологическими мишенями принято называть аптамерами. Модификация нуклеотидов с помощью различных функциональных групп повышает способность аптамеров к взаимодействию с их мишенями и расширяет спектр мишеней. Для получения аптамеров с модифицированными нуклеотидами ферментативным методом SELEX необходимым условием является совместимость модифицированных нуклеозидтрифосфатов с ДНК-полимеразами и высокое аффинное сродство получаемой модифицированной НК к молекуле-мишени. Нами синтезированы пять трифосфатов дезоксиуридина, содержащих на гетероциклических основаниях по С5-положению функциональные группы, характерные для аминокислот, которые часто входят в антигенсвязывающие центры иммуноглобулинов, фенилаланина, триптофана, валина и лейцина. Проведена экспериментальная оценка степени включения модифицированных нуклеотидов в ДНК в реакции достраивания праймера (primer extension) с Taq, DeepVent и KOD XL ДНК-полимеразами при полной замене природного dTTP на модифицированный трифосфат дезоксиуридина. Найдено, что модифицированные нуклеозидтрифосфаты совместимы с ДНК-полимеразами, наблюдается образование полноразмерного продукта, при этом эффективность включения модифицированных нуклеотидов KOD XL ДНК-полимеразой превосходит другие полимеразы.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ, проект № 14.604.21.0111.

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

Тимарова А.В., Боронникова С.В., Пришневская Я.В.

ФГБОУ ВОП Пермский государственный национальный исследовательский университет, Россия.

Повышение эффективности контроля происхождения племенных лошадей – одна из важнейших задач коневодства. В наше время в связи с появлением большого числа частных владельцев, высокой стоимостью племенных животных, участием в соревнованиях, а также применением биотехнологических методов при воспроизводстве, необходимость надежной системы идентификации и контроля

происхождения лошадей становится особенно актуальной и осуществляется, в первую очередь, с помощью молекулярно-генетического анализа. Кровь для молекулярно-генетического анализа *Equus caballus* (L.,1758) была собрана в двух выборках из поголовий лошадей, расположенных в конных клубах “Престиж” и “Реприз” Пермского края. Тотальная ДНК выделена с использованием коммерческого набора «ПРОБА-ГС» из крови 91 животных. В результате исследований была определена эффективность 20 ISSR-праймеров, по шкале 1-5: от низкой (1) до высокой (5). Выявлены 5 эффективных ISSR-праймеров: M3 (AC)8CT; M27 (GA)8C; CR-217 (GT)6GG; X9 (ACC)6G; X11 (AGC)6G. Первые три из пяти ISSR-праймеров являются динуклеотидными, а два – тринуклеотидными, в зависимости от числа нуклеотидов в коровом мотиве. Каждый праймер был индивидуально анализирован с использованием ISSR-метода анализа полиморфизма ДНК [2]. Использование полиморфизма межмикросателлитных локусов является одним из перспективных методов ДНК-тестирования животных и уже широко практикуется при контроле происхождения и оценке генетического разнообразия популяций.

**ИЗУЧЕНИЕ ПИЩЕВОГО ПОВЕДЕНИЯ БЕЛЫХ КРЫС НА ФОНЕ
КУРСОВОГО ВВЕДЕНИЯ СИНТЕТИЧЕСКИХ ФРАГМЕНТОВ
ЭНДОГЕННОГО ПЕПТИДА НЕСФАТИНА-1**

Тарасова А.Ю., Скобелева В.М., Рудько О.И.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
биологический факультет, Москва, Россия.

Анорексия рассматривается как одна из форм пищевого невроза, преимущественно выражающаяся в истощении, значительной потере веса, изменении эмоционального статуса с преобладанием депрессивно-тревожных компонент в поведении и нарушении пищевой мотивации. Показано, что недавно выделенный N-концевой фрагмент белка нуклеобиндина, названный несфатин-1, обладает анорексигенным действием, способствуя подавлению потребления пищи. В тоже время предполагается роль несфатина-1 в регуляции именно психической составляющей пищевого поведения, в частности модуляции пищевой мотивации и усиления чувства насыщения. Целью настоящей работы было изучение пищевого поведения белых крыс на фоне курсового введения впервые синтезированных нами фрагментов несфатина-1 на поведение белых крыс

Работа выполнена на 30 белых крысах-самцах (*Rattus norvegicus*). В работе использовались пептиды Nesf18 (18 а.к.) и Nesf27 (27 а.к), являющиеся фрагментами центрального сегмента несфатина-1. На протяжении 13 дней Nesf18 и Nesf27 вводились внутрибрюшинно в дозе 100 мкг/крысу в 0,2 мл физраствора. Контрольным животным вводился физиологический раствор в том же объеме. По литературным данным наиболее активное потребление крысами корма приходится на ночное время, поэтому нами использовалась ночная трехчасовая видеофиксация поведения животных: регистрировалось число подходов к корму и время, проведенное у кормушки. Также на протяжении всего эксперимента проводился мониторинг веса животных и количества потребленного корма.

Известно, что судить об анорексигенном эффекте вещества следует по изменению веса животных, а также уровню насыщения. Нами наблюдалось статистически значимое снижение веса животных из обеих опытных групп.

Таким образом, нами показано, что оба синтезированных нами пептида - Nesf18 и Nesf27 участвуют в регуляции пищевого поведения сходным с несфатином-1 образом, модулируя не только вес животных, но и уровень насыщения и вызывая тем самым анорексигенный эффект, более выраженный в случае Nesf27.
Работа выполнена при поддержке РФФИ (13-04-02188).

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

Тюлькина Д.В., Плешкан В.В., Свердлов Е.Д.

ФГБУН Институт биоорганической химии имени академиков М. М. Шемякина и
Ю. А. Овчинникова РАН, Москва, Россия.

Исследованы гены STGF, JAG1, IGFBP2 и CXCL12, обладающие повышенным уровнем экспрессии в клетках стромы опухоли поджелудочной железы. Строма опухоли задействована в таких процессах как поддержание, выживание и распространение опухолевых клеток. Уровень экспрессии данных генов в клеточных линиях PANC-1, MIA PaCa-2, AsPC-1, Calu-1 и линии фибробластов был определен методом ПЦР относительно представленности генов домашнего хозяйства 18S РНК и EEF1A1. Все исследованные гены являются низкопредставленными, их количество не превышает 10-100 копий транскриптов на клетку во всех исследованных образцах, кроме гена CXCL12, чьи транскрипты были детектированы только в фибробластах.

Проведено *in vitro* исследование активности промоторов выбранных генов на четырех клеточных линиях человека и культуре фибробластов человека. Промоторы генов JAG1 и CXCL12 практически не проявляют активности, промотор гена IGFBP2 наиболее активен в линиях PANC-1, AsPC-1 и фибробластах, а промотор гена STGF как минимум на порядок активнее остальных промоторов во всех исследованных культурах. Данные экспериментов были проанализированы для выявления наиболее оптимального регуляторного элемента (промотора) с точки зрения эффективности и потенциальной тканеспецифичности действия. Несмотря на то, что в исследованных культурах разница в эндогенном уровне транскрипции исследованных генов составляла иногда 1-2 порядка, показатели активности соответствующих им промоторов в искусственных конструкциях обычно варьируют меньше.

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

Проект поддержан грантом РФФИ 15-04-07773 А.

**ВВЕДЕНИЕ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА В ТЕЧЕНИЕ РАННЕГО
ПОСТНАТАЛЬНОГО ПЕРИОДА ОНТОГЕНЕЗА НАРУШАЕТ
ФОРМИРОВАНИЕ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ПОВЕДЕНИЯ И УСЛОВНО-
РЕФЛЕКТОРНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ВЗРОСЛЫХ КРЫС**

¹Трофимов А.Н., ²Сечина М.С.

¹ФГБУ "НИИ экспериментальной медицины" СЗО РАМН

²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия.

Различные патологии ранних периодов развития (родовые травмы, мозговая ишемия, гипоксия, аллергические и инфекционные заболевания), могут приводить к нарушению развития ЦНС и, как следствие, нарушению когнитивных функций взрослого мозга. Такие патологии сопровождаются повышением продукции провоспалительных цитокинов клетками иммунной и нервной систем. Предполагается, что провоспалительные цитокины, действующие в раннем возрасте, могут приводить к развитию шизофрении и синдрома дефицита внимания. Целью настоящего исследования было изучение влияния введений индуктора синтеза провоспалительных цитокинов – липополисахарида (ЛПС) – в течение третьей недели жизни (критического периода для развития мозга крыс) на формирование исследовательского поведения крыс подросткового возраста и выработку условного рефлекса активного избегания (УРАИ) половозрелых животных. Работа выполнена на 103-х самцах Wistar. Крысят делили на 3 группы – опытную (i.p. введения ЛПС 25 мкг/кг на P15,18,21), контрольную (i.p. введения физ.р-ра в те же сроки) и интактную. P42-47 – открытое поле в течение 3-х минут. P75-90 – УРАИ. Условный стимул (УС) – свет, безусловный (БС) – ток. Интервал м/у УС и БС – 5 с. Интервал м/у попытками 20-40 с. Правильная попытка – животное перебегает с одной платформы на другую в течение 5-и секунд после УС до БС. Эксперимент – 5 последовательных дней: 1-й день – 10 попыток, 2-5-й – по 20 попыток. Статистическая обработка – Н-критерий Краскела-Уоллиса и U-критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$. В результате исследования показано, что крысы подросткового возраста, которым в детстве вводили ЛПС, отличаются более тревожным поведением в открытом поле (увеличивается количество и длительность фризинга, длительность вертикальных стоек по сравнению с контрольной группой, количество обнюхиваний, движений на месте, а также общее число актов по сравнению с контрольной и интактной группами). Крысы контрольной и интактной групп по поведению в открытом поле не различались. В тесте УРАИ показано, что на 5-й день обучения крысы опытной группы показывают меньшее количество правильных попыток по сравнению с животными интактной группы. Различий между животными контрольной и интактной групп по этому показателю не выявлено. Таким образом, в данной модели показано, что введения ЛПС в течение ранних периодов постнатального онтогенеза приводят к отдалённым нарушениям поведения – к увеличению тревожности в подростковом возрасте и ухудшению когнитивных функций взрослых животных.

ОСОБЕННОСТИ БЕЛКОВОГО СОСТАВА ПОКОЯЩИХСЯ ФОРМ MYCOBACTERIUM SMEGMATIS

Трутнева К.А., Шлеева М.О., Демина Г.Р., Капрельянц А.С.
ФГБУН Институт биохимии им. А.Н.Баха РАН, Москва, Россия.

Латентность туберкулеза имеет важное медицинское значение, так как одна треть мирового населения латентно инфицирована возбудителем туберкулеза – *Mycobacterium tuberculosis*. Один из наиболее важных аспектов, касающихся этого явления - изучение причин устойчивости покоящихся форм к стрессовым воздействиям факторов внешней среды и выяснение причин неэффективности антибиотиков. Очевидно, что под этим явлением лежат как метаболические, так и структурные изменения в покоящихся клетках. Были получены овоидные

покоящиеся формы *Mycobacterium smegmatis* с измененной морфологией и пониженной метаболической активностью. Такие уникальные клетки обладали значительно утолщенной клеточной стенкой и устойчивостью к антибиотикам.

Анализ мембранных белков методом двумерного электрофореза показал значительные отличия в составе белков покоящихся и активных клеток *Mycobacterium smegmatis*. В том числе, в покоящихся клетках присутствует уникальный белок, принадлежащий к семейству PadR-подобных белков. Так же в этих клетках в большем количестве представлены трегалозофосфатаза; гистон-подобный белок; белок-транспортер (extracellular solute-binding protein), связывающийся с растворимыми веществами; 3-кетоацил-АСР-редуктаза, гепарин-связывающий гемагглютинин и белок LpqE.

В цитозольной фракции такие ферменты, как малатсинтетаза, аланиндегидрогеназа и алкогольдегидрогеназа являются более выраженными у покоящихся клеток по сравнению с активными. Кроме этого, обнаружено много сходных белков, имеющих как в активных, так и в покоящихся клетках *Mycobacterium smegmatis*. К этим белкам относятся: глицеролкиназа, металлопептидаза, оксидоредуктаза, синтетаза миколовых кислот, фосфоенолпируваткарбоксилаза, супероксиддисмутаза, метилмалонат-семиальдегиддегидрогеназа, пропионил-коэнзимА-карбоксилаза, б-фосфоклюконат-дегидрогеназа, фумаратгидратаза, альдегиддегидрогеназа, фруктоза-1,6-бифосфатаза, фосфорибозиламин-глицинлигаза, транскетолаза. Стоит отметить, что в цитозольной фракции также обнаружен уникальный для покоящихся клеток белок семейства PadR и белок семейства USP (universal stress protein).

Эти данные свидетельствуют о том, что в покоящемся состоянии у бактерий наблюдаются изменения как в составе мембран, так и в цитозоле, влекущие за собой морфологические и физиологические изменения в клетках *Mycobacterium smegmatis*.

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ C1Q ИЗ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

Умнякова Е.С.

ФГБОУ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия.

Система комплемента играет важную роль в осуществлении функций врожденного иммунитета. Она представляет собой систему протеолитических белков, которые последовательно активируют друг друга, запуская каскад реакций, что приводит к опсонизации патогена и его элиминации фагоцитами, а также к клеточному лизису за счет формирования мембран-атакующего комплекса.

Неконтролируемая активация или недостаточность компонентов каскада комплемента являются первопричиной патофизиологических процессов многих заболеваний, в том числе и таких как системная красная волчанка и астма. Таким образом, изучение активации и регуляции каскада важны для лечения или предотвращения такого рода заболеваний.

Для проведения исследований на тему влияния антимикробных пептидов на активацию каскада комплемента получали белок C1q. Эта рецепторная молекула связывается с Fc-фрагментами молекул IgG или IgM в составе иммунного комплекса, запуская каскад по классическому пути.

Выделение С1q из сыворотки крови проводили по описанному в литературе методу, используя сочетание аффинной и ионообменной хроматографий, для быстрой очистки белка и получения С1q в препаративных количествах. Метод был несколько модифицирован:

1. Внесли изменения в процедуру аффинной хроматографии.

В литературе описан метод для выделения С1q с использованием аффинной матрицы с иммобилизованным иммунным комплексом (ИК). К матрице ковалентно присоединены IgG человека, являющиеся в данной системе антигеном, к этой системе добавлялись IgG кролика к IgG человека в качестве антител. В нашей работе тоже был использован подход, подразумевающий создание иммобилизованного ИК. В качестве антигена использовали миелопероксидазу человека (МПО) и в эту систему добавляли IgG кролика к МПО человека в качестве антител. Нами было показано, что для успешного выделения С1q можно использовать данный иммунный комплекс.

2. Поменяли очередность проводимых процедур, т.е. после осаждения белков проводилась ионообменная хроматография на КМЦ, а затем проводили аффинную хроматографию. Нам удалось увеличить выход белка в несколько раз. Таким образом, разработанный нами метод может быть использован для получения С1q из сыворотки крови с высоким выходом белка.

СИСТЕМНАЯ ОБРАБОТКА ДАННЫХ ПРОТЕОМНОГО АНАЛИЗА КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ NEISSERIA GONORRHOEAЕ

^{1,2}Хлебус Э.Ю., ^{1,2}Алтухов И.А., ¹Малахова М.В., ¹Побегуц О.В., ¹Ильина Е.Н.,
^{1,2}Алексеев Д.Г.

¹НИИ физико-химической медицины, Москва, Россия.

²Московский физико-технический институт (государственный университет),
Долгопрудный, Россия.

Протеомное тестирование с последующей биоинформатической обработкой данных – движущая сила современной биологической науки, в том числе системной биологии прокариот. Целью нашего исследования был системный анализ данных протеомного профилирования штаммов *N. gonorrhoeae* с целью обнаружения новых молекулярных механизмов лекарственной устойчивости.

В работе были исследованы три штамма вида *N. gonorrhoeae*, проявляющие разные фенотипические свойства, а именно: клинический изолят i19.05 (донор), проявляющий устойчивость к пенициллину; чувствительный к пенициллину клинический изолят n01.08 (реципиент); и NG03(SurAmut, Omp85mut) – штамм, полученный в ходе трансформации клеток реципиента n01.08 фрагментами геномной ДНК донора i19.05. Штамм-трансформант, в отличие от реципиентного штамма, проявлял сниженную восприимчивость к пенициллину.

Для трех изучаемых штаммов в трех биологических повторах проведен масс-спектрометрический LC-MS/MS анализ, осуществлена идентификация пептидов с помощью программного пакета Mascot v2.2.07. После этого проводился безметочный количественный протеомный анализ с использованием программного пакета Progenesis LC-MS (Nonlinear Dynamics). С помощью этой программы было квантифицировано 986 белков. Для статистического анализа использовался язык программирования R. Сравнительный количественный анализ был проведен с использованием t-теста Стьюдента, каждому белку для трех сравнений был поставлен в соответствие p-value. По результатам проведенных расчетов было отобрано 122 белка, достоверно различающихся по количеству

между штаммами. Полученные результаты помогут дать ответ в изучении механизмов устойчивости гонококка на системном уровне.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЛОТНОСТИ ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРА DR3/LARD В КРОВИ ПРИ ГЕРПЕСВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

¹Хилал Н.Р., ^{1,2}Уткин О.В., ²Пекшева О.Ю., ^{1,2}Новиков В.В.

¹ФГБОУ ВПО ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия.

²ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия.

Одним из представителей семейства рецепторов смерти, участвующих в передаче апоптотического сигнала, является трансмембранный белок DR3/LARD. Он экспрессируется в основном на поверхности лимфоидных клеток. Вне иммунной системы рецептор DR3/LARD представлен на низком уровне на поверхности эпителиальных клеток, остеобластов, а также некоторых линиях клеток лимфом. Известно, что активация разных типов клеток сопровождается согласованным повышением уровня экспрессии мРНК и белка DR3/LARD. В зависимости от типа клеток стимуляция DR3/LARD приводит или к активации сигнальных событий апоптоза, или к пролиферации клеток. В доступной литературе отсутствуют данные о функциональной роли рецептора DR3/LARD при инфицировании герпесвирусами из разных этиологических групп (вирус ветряной оспы, цитомегаловирус, вирус Эпштейна-Барр).

Целью работы явилось определение плотности экспрессии рецептора DR3/LARD в крови пациентов с герпесвирусной инфекцией в сравнении со здоровыми донорами. Для определения плотности экспрессии рецептора DR3/LARD на мембране клеток крови (лимфоцитов) использовался метод проточной цитометрии. Для этого образцы крови окрашивались двухцветной комбинацией моноклональных антител к рецепторам DR3/LARD и CD45 конъюгированных с флуоресцентными красителями PE/FITC (фикоэритрин/флуоресцеинизотиоционат), соответственно (Beckman Coulter, США). Плотность экспрессии рецептора DR3/LARD на мембране лимфоцитов крови выражали как показатель средней интенсивности флуоресценции (MFI).

Проведенный анализ показал, что по сравнению со здоровыми донорами у инфицированных лиц разного пола и возраста, а также вне зависимости от этиологии герпесвирусной инфекции показатель MFI имел тенденцию к увеличению ($p > 0,05$). Корреляционный анализ не выявил связи между показателем MFI рецептора DR3/LARD с полом, возрастом инфицированных лиц, а также этиологией герпесвирусной инфекции.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект №11-04-97088р_поволжье_а).

ИССЛЕДОВАНИЕ УСЛОВИЙ ХРАНЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ РЕКОМБИНАНТНЫХ АНТИТЕЛ В СОСТАВЕ БАКТЕРИОФАГА M13.

¹Щанникова М.П., ¹Фурсова К.К., ¹Шепеляковская А.О.,

²Павлик Л.Л., ¹Бровко Ф.А.

¹ Филиал института биоорганической химии им. академиком М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Пущино, Россия.

² Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия.

Бактериофаги получили широкое распространение в лабораторной практике. Метод фагового дисплея различных белков и пептидов активно используется в

иммунохимии, как в области получения рекомбинантных антител, так и для различных методов иммуноанализа (детекция антигенов, иммунохимическое картирование). Однако склонность таких препаратов к агрегации осложняет их дальнейшее использование. В связи с этим, актуальным является поиск способов стабилизации препаратов рекомбинантных бактериофагов.

Цель данного исследования: определение условий лиофилизации фаговых частиц, несущих на своей поверхности фрагменты антител в целях их длительного хранения.

В данном исследовании использовались рекомбинантные фаговые частицы фага M13, в которых scFv-фрагмент антител экспонируется на поверхности в составе белка р3 (миниантитела в фаговом формате).

Препарат миниантител в фаговом формате лиофилизировали в присутствии стабилизирующих агентов. Сразу после лиофилизации и через 6 месяцев препараты проверяли на сохранение функциональной активности с помощью ИФА. В качестве стабилизирующих агентов использовали: 0.1 М сахароза, 0.1 М трегалоза, 0.1 М маннитол, 0.1 М аргинин, 0.1%, Tween 20, 2% BSA, растворенные в PBS. Для сравнения анализировалась стабильность препаратов, хранящиеся в течение тех же сроков, что и лиофилизованные, при -20°C в растворе PBS с добавлением глицерина (до 10%), и не подвергавшиеся лиофилизации образцы, хранящиеся в растворе при 4°C .

Полученные результаты подтверждали методом электронной микроскопии, при этом, полученные в ходе микроскопии данные коррелировали с активностью лиофилизованных фаговых препаратов.

Наибольшая активность показана при лиофилизации миниантител в фаговом формате в присутствии аргинина и трегалозы.

Показано, что использование трегалозы и аргинина в качестве стабилизирующих агентов при лиофилизации фаговых препаратов миниантител способствует сохранению функциональной активности.

ПОВЫШЕННОЕ СОДЕРЖАНИЕ ГОМОЦИСТЕИНА В КРОВИ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ ВЕДЕТ К РАЗВИТИЮ СТРЕССА У ПОТОМСТВА

^{1,2}Щербицкая А.Д., ²Милютин Ю.П.

¹Санкт-Петербургский Государственный Университет;

²ФГБУ "Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии
им.Д.О.Отта" СЗО РАМН, Россия.

Различные неблагоприятные воздействия в пренатальный период могут приводить к серьезным последствиям при постнатальном развитии потомства. Стресс, возникающий под влиянием повышенного уровня гомоцистеина у матери при беременности, может приводить к серьезным нарушениям плацентации, эмбриогенеза и формирования нормально функционирующих систем новорожденного. Опубликовано множество работ, посвященных изучению влияния различных видов стресса на содержание и секрецию катехоламинов в мозговом слое надпочечников у взрослых животных. Однако исследования, направленные на понимание того, каким образом воздействие гомоцистеина на организм матери приводит к развитию стресса у потомства, до сих пор являются актуальными.

Целью нашего исследования была оценка обмена биогенных аминов в надпочечниках крыс, перенесших пренатальную гипергомоцистеинемию. У самок крыс, матери которых на протяжении всей беременности находились на

ежедневной пероральной метиониновой нагрузке, были изучены уровни содержания катехоламинов в надпочечниках на первые сутки, через месяц и два месяца после рождения.

Показано, что экспериментальная модель гипергомоцистеинемии приводит к снижению содержания норадреналина и адреналина в надпочечниках как у новорожденных крысят, имеющих повышенный уровень гомоцистеина в сыворотке крови, так и через месяц после их рождения, когда содержание гомоцистеина снижается и достигает нормальных значений. В возрасте двух месяцев у потомства, подвергнутого пренатальной гипергомоцистеинемии, восстановление нормального уровня содержания норадреналина и адреналина происходит параллельно со снижением концентрации дофамина.

В нашей работе мы также определили содержание катехоламинов в сыворотке крови исследуемых крыс. Установлено, что наблюдаемое снижение уровня биогенных аминов в надпочечниках через месяц и два месяца после рождения является результатом усиления их секреции в кровь. В литературе имеются сведения о том, что уже через 30 минут после острого стресса матерей, в плазме крови плодов возрастает содержание норадреналина, адреналина и дофамина, значительно превышающее наблюдаемое у матерей до и во время стресса. Авторы предполагают, что это реакция плодов на стрессирование матерей, а не простое проникновение катехоламинов через плаценту. Полученные нами данные о снижении уровня содержания катехоламинов в надпочечниках крыс, перенесших пренатальную гипергомоцистеинемия, подтверждают это предположение.

Секция «КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ И БИМЕДИЦИНА»

**ФЕНОТИПИРОВАНИЕ АЛЬФА1-ПРОТЕИНАЗНОГО ИНГИБИТОРА В
ДИАГНОСТИКЕ ДЕФИЦИТА ИНГИБИТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ПРИ
ПАТОЛОГИИ**

Акбашева О.Е., Суханова Г.А., Черногорюк Г.Э., Букреева Е.Б., Дюкова Е.В.,
Степанова Е.А., Павлов В.С., Гулая В.С.
ГБОУ ВПО СибГМУ МЗСР, Томск, Россия.

Альфа 1-протеиназный ингибитор контролирует активность сериновых протеиназ плазмы крови и биологических жидкостей человека. Для гена $\alpha 1$ -ПИ характерен полиморфизм. Идентифицировано более 75 кодоминантных аллелей, продукты синтеза которых отличаются по электрофоретической подвижности: М - средний, F - быстрый, S - медленный и Z – очень медленный тип. Среди населения наиболее распространен аллель М, частота которого составляет 0,86-0,99. Выявлено несколько его фенотипов с различной антиэластазной активностью: М1, М2 и М3. Дефицит ингибитора связан с неконтролируемой активацией эластазы, протеолитической деградацией тканей, развитием заболеваний легких и желудочно-кишечного тракта.

Цель исследования заключалась в изучении фенотипа альфа1-протеиназного ингибитора и его активности при заболеваниях желудочно-кишечного тракта. Было обследовано 83 пациента с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, 60 человек с язвенным колитом и 42 человека с болезнью Крона. Фенотипирование $\alpha 1$ -ПИ проводили методом изоэлектрического фокусирования в боратполиольной системе. Активность $\alpha 1$ -ПИ определяли по торможению гидролиза трипсином N-бензоил-L-аргинин-этилового эфира.

Установлено, что при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки преобладает М2М2 фенотип альфа1-протеиназного ингибитора (43% больных). М1М1 фенотип выявлен у 24% больных, а М1М3 - у 33% обследованных. Активность $\alpha 1$ -ПИ при М1М3 фенотипе составила $43,1 \pm 4,3$ ИЕ/мл, при М1М1 - $28,0 \pm 1,1$ ИЕ/мл, а при М2М2 была равна $14,1 \pm 0,9$ ИЕ/мл, что на 40% ниже контрольных значений ($24,1 \pm 1,1$ ИЕ/мл). Таким образом, постгеномная модификация альфа1-протеиназного ингибитора может быть связана с его инактивацией активными формами кислорода и/или протеиназами, гидролизующими белок-ингибитор.

**ОЦЕНКА МУТАГЕННЫХ И ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ
ИММОБИЛИЗОВАННЫХ НА ХИТОЗАНЕ ФЕРМЕНТОВ ДЛЯ
ПРИМЕНЕНИЯ В КАЧЕСТВЕ РАНОЗАЖИВЛЯЮЩИХ ПРЕПАРАТОВ**

Байдамшина Д.Р., Холявка М.Г., Каюмов А.Р.
Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия.

Одним из современных направлений биотехнологии является создание перевязочных средств с иммобилизованными на нерастворимых носителях ферментами для лучшего ранозаживления. При закреплении ферментов на нерастворимых носителях получают гетерогенные биокатализаторы, которые обладают рядом преимуществ: значительно повышается не только стабильность, но и эффективность полученного препарата за счет возможности управления процессом протекания реакции. Перспективными носителями являются хитозаны. Молекулы хитозана содержат гидроксильные и аминогруппы, его полимерная матрица позволяет иммобилизовать ферменты, как внутри сетки, так и на ее

поверхности. Целью работы был анализ степени токсичности ферментов и различных хитозанов для клеток про- и эукариот. Концентрация ферментов составляла 1 (планируемая фармацевтическая концентрация) и 10 мкг/мл, что соответствует превышению планируемой фармацевтической концентрации в 10 раз. Установлено, что сам трипсин и все варианты хитозана не продемонстрировали мутагенного действия в тесте Эймса. Напротив, РНКаза и ДНКаза показали мутагенный эффект, и, следовательно, не могут быть рекомендованы к использованию.

Цитотоксичность соединений исследовали на линии MCF7 клеток рака молочной железы человека с помощью метаболического MTS – теста. Ни одно из исследуемых соединений не приводило к снижению активности митохондриальной дегидрогеназы по окислению MTS. Следовательно, все соединения не являются токсичными и могут быть использованы в качестве ранозаживляющих препаратов. Кроме MTS теста, также исследовали морфологию клеток, пролиферирующих в присутствии ферментов и хитозанов. Результаты микроскопии показали, что ни одно из исследуемых соединений не вызывало изменений в морфологии клеток и не оказывало цитостатического эффекта, в отличие от положительного контроля – азида натрия. Надо отметить, что присутствие трипсина значительно усиливало пролиферацию клеток, следовательно, можно ожидать высокого заживляющего эффекта этого фермента. Присутствие всех видов хитозана кроме сукцината хитозана также не нарушало морфологии клеток. Нерастворимые примеси в сукцинате хитозана значительно обрастали клетками измененной формы, в меньшей степени такая картина наблюдалась в случае высокомолекулярного хитозана. Этот факт также требует более глубокого исследования, поскольку данный эффект может негативно сказаться при использовании данных видов хитозанов при клиническом использовании с иммобилизованными ферментами.

СВЯЗЬ РЕЦЕПТОРНОГО СТАТУСА И ПРОЛИФЕРАЦИИ КЛЕТОК КАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Бриллиант А.А., Сазонов С.В., Засадкевич Ю.М.

ФГБУН Институт медицинских клеточных технологий, Екатеринбург, Россия.

Высокая пролиферация клеток карциномы молочной железы обеспечивается за счет активации сигнального пути RAS/Raf/MEK/Erk, которая обеспечивается напрямую через стимуляцию тирозинкиназных рецепторов лигандом (Her-2) или опосредованно через взаимодействие комплекса Estrogen + Estrogen receptor (ER) с указанным сигнальным путем. Механизмы, обеспечивающие высокую или низкую пролиферацию клеток опухоли в разных иммуногистохимических вариантах карциномы молочной железы остаются не до конца изученными.

Изучен материал 406 случаев инфильтративной карциномы молочной железы. Для исследования пролиферативной активности опухолевых клеток определялся индекс пролиферативной активности KI-67. Все случаи также были исследованы на наличие экспрессии Estrogen receptor, Progesterone receptor, HER-2/neu. Все исследования проводились иммуногистохимическим методом при помощи антител Mouse Anti-Human KI-67 Antigen, Polyclonal Rabbit Anti-Human c-erb-2 Oncoprotein, Monoclonal Mouse Anti – Human Estrogen Receptor, Monoclonal Mouse Anti-Human Progesterone Receptor (ДАКО, Дания).

Мы выявили, что большинство случаев карциномы молочной железы имели низкий уровень пролиферации, (<0,05). Выводы: Состояние пролиферативных

процессов в ткани инфильтративной карциномы молочной железы связано с особенностями рецепторного аппарата клеток опухоли и зависит от активации сигнального пути RAS-Raf-MAPK. Высокий уровень экспрессии HER-2/neu сочетается с высокой пролиферацией опухоли независимо от экспрессии ER. При увеличении экспрессии ER в клетках опухоли и отсутствии коэкспрессии HER-2/neu высокая пролиферация опухоли обеспечивается за счет участия ER в активации сигнального пути RAS-Raf-MAPK.

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЕЛЕЗЕНКИ И ТИМУСА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПАХ ПОВРЕЖДЕНИЯ ГЕМАТОТЕСТИКУЛЯРНОГО БАРЬЕРА

Бухарина А.Ю., Храмцова Ю.С.

ФГБОУ Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н.Ельцина, Екатеринбург, Россия.

Наименее изученный фактор бесплодия у мужчин - это аутоиммунные реакции против сперматозоидов. Одна из основных причин развития антиспермального иммунитета - нарушение целостности гематотестикулярного барьера (ГТБ), компонентом которого является иммунологический барьер. Таким образом, изучение структурной организации лимфоидных органов при повреждении семенников необходимо для раскрытия механизмов развития иммунологического бесплодия. Целью данной работы является изучение морфометрических показателей тимуса и селезенки при локальном и тотальном разрушении гематотестикулярного барьера.

Исследование проведено на 35 беспородных крысах-самцах массой 200-400 г, разделенных на 3 группы: (1) интактные животные (2) локальное повреждение путем прокола одного из семенников иглой диаметром 3 мм (3) тотальное повреждение путем введения в бедренную мышцу раствора $CdCl_2$ в концентрации 1,75 мг/кг. Исследование проводили на 1-е, 7-е и 14-е сутки. Производили забор тимуса и селезенки для гистологического исследования. Оценку лимфоидных органов проводили по гистологическому алгоритму с использованием морфометрического анализа структурных элементов. Статистическую обработку проводили с помощью критерия Манна-Уитни («Statistica 6.1», различия считали достоверными при $p < 0,05$).

После локального повреждения на ранние сроки происходит расширение белой пульпы селезенки (на 29% >контр.), что может быть связано с притоком иммунокомпетентных клеток в лимфоидные фолликулы селезенки; а после тотального повреждения - на все сроки эксперимента (на 64% >контр.), что говорит о высокой функциональной активности органа.

На все сроки после прокола семенника происходит расширение коркового вещества тимуса (на 25% >контр.), что, возможно, указывает на развитие специфического иммунного ответа в ответ на повреждение иммунокомпетентного органа; а после введения $CdCl_2$ лишь на 7-ые сутки (39% >контр.), которое к 14-м суткам сужается, не достигая нормы (на 24% >контр.), что возможно указывает на некоторое снижение функциональной активности тимуса, в связи с высоким иммунным напряжением.

Таким образом, структурно-функциональные преобразования в лимфоидных органах при различных повреждениях ГТБ направлены на активацию иммунных реакций и зависят от степени повреждения ГТБ, что проявляется в более выраженной реакции активации со стороны иммунной системы при тотальном

повреждении барьера по сравнению с локальным. Можно предположить, что изменения на ранние сроки связаны с неспецифической реакцией организма на стресс, а на более поздние сроки связаны с развитием специфических аутоиммунных процессов.

МУЛЬТИПОТЕНТНЫЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТРОМАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ И ГИПОКСИЯ

Буравкова Л.Б., Андреева Е.Р.
ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва, Россия.

Важная роль в процессах тканевого гомеостаза и физиологического ремоделирования в организме отводится малодифференцированным клеткам, таким как мультипотентные мезенхимальные стромальные (стволовые) клетки (ММСК). Их способность обеспечивать структурное единство тканей и отвечать на хемоаттрактивные стимулы с миграцией в поврежденные ткани-мишени, способствует обеспечению процесса репарации. Основной особенностью физиологического и регенеративного микроокружения ММСК является низкое парциальное давление кислорода, которое может модифицировать свойства стромальных клеток. Мы показали, что экспансия при 5% O₂ ММСК человека существенно изменяла их свойства: увеличивалась пролиферативная активность, количество КОЕ-Ф, а дифференцировка в остео- и адипогенном направлении замедлялась. ММСК быстро адаптировались к низкому O₂, переключая метаболизм глюкозы на анаэробный путь, что сопровождалось снижением трансмембранного потенциала митохондрий. Полногеномный анализ дифференциальной экспрессии генов в ММСК, экспансия которых велась при 5% O₂, выявил изменение 558 из 22184 проанализированных генов, в том числе отвечающих за пролиферативную активность, клеточный метаболизм и сигналинг, компоненты соединительнотканного матрикса и цитоскелета. Исследование межклеточных взаимодействий показало, что при 5% O₂ ММСК были способны более эффективно поддерживать рост недифференцированных CD34+гемопозитических предшественников и коммитированных БОЕ-Э. Кроме того, гипоксия потенцировала иммуносупрессивные эффекты ММСК. На основании полученных результатов был разработан новый методический подход для подготовки клеточных препаратов для нужд клеточной терапии и получены весьма обнадеживающие результаты при использовании таких препаратов для ускорения восстановления костной мозоли при экспериментальном переломе кости у крыс. Таким образом, низкое парциальное давление кислорода может существенным образом влиять на реализацию свойств ММСК, обеспечивая поддержание недифференцированного статуса этих клеток, необходимую пластичность и усиление репаративного потенциала.

Работа выполнена при поддержке программы ОФФМ РАН и программы №7 президиума РАН.

ЗАВИСИМОСТЬ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ В-КЛЕТОК ОТ ИНТЕНСИВНОСТИ СЕКРЕЦИИ ИНСУЛИНА ПАНКРЕАТИЧЕСКИМ ОСТРОВКОМ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ

Булавинцева Т.С.
ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УО РАН, г.Екатеринбург, Россия.

Исследования последних лет выявили функциональную и структурную неоднородность панкреатических островков (ПО), однако, ее роль в развитии сахарного диабета остается неизвестной. Данное исследование направлено на изучение взаимосвязи между функциональной неоднородностью ПО и пролиферацией β -клеток в норме и при патологии.

Экспериментальные животные (самцы крысы линии Wistar) были разделены на 3 группы: интактные (контрольные животные), животные с аллоксановым диабетом 30 и 60 суток. С целью оценки функциональной активности β -клеток срезы поджелудочной железы окрашивали с использованием антител к инсулину (Millipore). Пролиферирующие β -клетки выявляли путем двойного последовательного иммунофлуоресцентного окрашивания с использованием антител к инсулину и Ki-67 (Millipore), вторичные антитела были мечены TexasRed и Alexa488 (Abcam) соответственно. Ядра окрашивали NucRed Dead 647 (Life tech.). Визуализация изображений осуществлялась на конфокальном микроскопе LSM710 (Carl Zeiss). Все исследованные ПО были разделены на три группы: с низкой секрецией инсулина (интенсивность флуоресценции до 20 ед.), средней (21-40 ед.) и высокой (свыше 41 ед.).

В ходе исследования нами была выявлена секреторная и пролиферативная неоднородность ПО. Так в норме наибольшее количество ПО обладает средней интенсивностью секреции инсулина. Данный феномен не зависит от размера островков или плотности β -клеток в нем. В месте с этим островки с высокой секреторной активностью содержали наибольшее количество Ki-67+ β -клеток. Развитие аллоксанового диабета сопровождается снижением доли островков, с высокой секрецией гормона при этом с увеличением интенсивности секреции инсулина снижается размер островка. В месте с этим выявлено формирование двух типов ПО в зависимости от их специализации: часть островков обладают высокой секреторной активностью и часть островков на фоне низкой секреции гормона содержат большое количество пролиферирующих β -клеток

НАКОПЛЕНИЕ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ КЛЕТКАМИ HELa И СПЭВ В ПРИСУТСТВИИ БЕЛКА VIRE2

Волохина И.В., Гусев Ю.С., Мазилев С.И., Чумаков М.И.
ИБФРМ РАН, Саратов, Россия.

В 2001 году впервые был зарегистрирован перенос и интеграция T-ДНК из агробактерий в животные клетки культуры HeLa, что позволяет рассматривать транспортную систему агробактерий в качестве одного из кандидатов для доставки ДНК в животные клетки для целей генотерапии. В растительные клетки агробактериальная T-ДНК переносится в виде одноцепочечной ДНК в комплексе с белками VirE2 и VirD2, являясь уникальным природным вектором. Ранее мы обнаружили, что белок VirE2 может изменять электропроводность искусственной мембраны, формируя поры. Целью данной работы было проверка возможности переноса одноцепочечной ДНК (олигонуклеотиды, 25 н.о.) в нативные клетки HeLa и клетки почек эмбрионов свиньи (СПЭВ) в присутствии агробактериального белка VirE2 *in vitro*.

В работе представлены экспериментальные данные об увеличении флуоресценции клеток HeLa и СПЭВ после инкубации с FAM-мечеными олигонуклеотидами (ФМО) в присутствии белка VirE2, по сравнению с клетками, инкубированными только с ФМО. Это означает, что белок VirE2 каким-то образом способствует накоплению ФМО в животных клетках. Прединкубация

клеток HeLa с ингибиторами дыхания (5 мкМ карбонил цианид м-хлорфенилгидразоном, 10 мМ азидом натрия) приводила к снижению накопления ФМО, по сравнению с клетками без обработки, однако часть ФМО накапливается обработанными ингибиторами дыхания клетками HeLa благодаря присутствию белка VirE2. Анализ результатов использования ингибиторов эндоцитоза генестеина (200 мкМ) и хлорпромазина (30 мкМ) для прединкубации клеток СПЭВ позволяет сделать предположение об клатрин-, кавеолин- эндоцитоз-независимом транспорте ФМО в клетки СПЭВ в присутствии белка VirE2.

Работа поддержана грантом №8728 ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» Миннауки и образования РФ.

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

Верещагина К.П., Шатилина Ж.М., Аксенов-Грибанов Д.В.

Иркутский государственный университет, Россия.

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

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

Показано, что экспозиция амфипод в данных условиях приводила к статистически значимому снижению активности пероксидазы при достижении 17°C и лактатдегидрогеназы при достижении 9°C и до окончания эксперимента. Изменений в активности каталазы и глутатион S-трансферазы выявлено не было. Снижение активности пероксидазы может указывать на угнетение физиологического состояния организма и развитие оксидативного стресса у амфипод.

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

Работа выполнена при поддержке проектов МИНОБРНАУКИ РФ (ГЗ 1354–2014/51), РФФ (14-14-00400), CRDF (FSCX-15-61168-0), РФФИ (14-04-00501, 15-04-06685), Германской службы академических обменов (DAAD).

**ВЛИЯНИЕ АМИДА ЛАМБЕРТИАНОВОЙ КИСЛОТЫ НА БАЛАНС
ТОРМОЗНЫХ И ВОЗБУЖДАЮЩИХ МЕДИАТОРНЫХ СИСТЕМ
ГИППОКАМПА МЫШИ**

Вечкапова С.О., Сорокоумов Е.Д., Проскура А.Л., Запара Т.А., Ратушняк А.С.

Конструкторско-технологический институт вычислительной техники СО РАН,
Новосибирск, Россия.

Для нормального функционирования ЦНС необходим баланс между возбуждающими и тормозными медиаторными системами. Нарушение этого баланса может приводить к целому ряду отклонений. Считается, что наиболее распространённые нейродегенеративных заболевания, такие как болезни Альцгеймера, Паркинсона, Хантингтона, рассеянный склероз, эпилепсия, ишемические поражения мозга, хотя и вызваны различными механизмами, но могут совместно использовать общий путь – гиперактивацию ионотропных глутаматных рецепторов, особенно NMDA-подтипа.

В нашей работе эпилептиформную активность на переживающих срезах гиппокампов мышей линии ICR вызвали либо снятием магниевого блока с NMDA-рецепторного комплекса, либо блокадой хлорного канала ГАМК_A-рецептора коразолом. Добавление в физиологический раствор амида ламбертиановой кислоты (АмЛК) способствовало нормализации активности пирамидных нейронов поля CA1. Инкубация срезов в нормальном растворе с АмЛК не препятствовала развитию NMDA-зависимой синаптической потенциации. Превентивная обработка срезов АмЛК существенно замедляла развитие эпилептиформной активности при помещении срезов в эпилептогенную среду, либо полностью предотвращала её возникновение.

В этих же условиях эффекты АмЛК сравнивали с эффектами мемантина – хорошо известного неконкурентного низкоаффинного антагониста NMDA-рецепторов, применяемого в терапии нейродегенеративных заболеваний. Сходство эффектов АмЛК и мемантина позволяет предположить, что, возможно, мишенью АмЛК является NMDA-рецепторный комплекс.

Работа выполнена при поддержке базового проекта фундаментальных исследований РАН № IV 35.1.5, ФНМ-2012-46

СИНЕРГИЗМ ДЕЙСТВИЯ БЕЛКОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ СРЕДЫ КУЛЬТИВИРОВАННЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК И ФЕРМЕНТОВ-АНТИОКСИДАНТОВ, ПРИ ЛЕЧЕНИИ ХИМИЧЕСКИХ ОЖОГОВ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ

Волкова А.Г., Шарипов М.Г., Ковосёков В.И.

ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия.

Химический ожог – одна из наиболее распространённых разновидностей ингаляционных травм. Такого типа травмы сопровождаются массовой гибелью эпителиальных клеток дыхательных путей и вызывают мощный окислительный стресс органов дыхания. К естественным системам защиты от окислительного стресса относятся ферменты-антиоксиданты. Мезенхимальные стволовые клетки и секретируемые ими белки в настоящее время являются объектом интенсивного изучения. Описанные эффекты, оказываемые белками среды стволовых клеток на живую ткань, разделяют на три категории: прогенераторные, противовоспалительные, антиапоптотические.

Цель работы – сравнить эффект от воздействия на повреждённую эпителиальную ткань трахеи отдельно взятых ферментов-антиоксидантов, отдельно взятых белков среды стволовых клеток, а также от их одновременного воздействия.

Эксперимент проведён на модели химического ожога. Для получения ожога опытное животное было помещено в пары соляной кислоты на двадцать минут. Проведено варьирование интервала времени от ожога до введения препарата. На первый, третий и седьмой дни после ожога трахеи крыс подвергалась гистологическому и иммуногистохимическому анализу.

Результат эксперимента позволяет заключить, что наиболее высокий эффект наблюдается в случае синергетического применения препаратов. Эффект заключается в сохранении большего числа клеток эпителия и более скором образовании новых клеток, что соответствует заявленным ранее характеристикам белковсреды мезенхимальных стволовых клеток.

РАЗРАБОТКА ИНСТРУМЕНТАЛЬНОЙ МЕТОДИКИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНЫХ НАРУШЕНИЙ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ И РИСКОМ ЕГО РАЗВИТИЯ

Глазков А.А.

ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия.

Сахарный диабет (СД) опасен своими осложнениями, приводящими к снижению качества жизни, инвалидизации и смерти больных. В 2013 году в мире от сахарного диабета умерло 5,1 млн. человек, а на его лечение было потрачено 548 миллиардов долларов США. Наиболее эффективным способом борьбы с СД является профилактика развития осложнений, однако отсутствие способов их раннего выявления снижает возможности врачей. Развитию осложнений предшествуют специфические микроциркуляторные нарушения. Выявление этих нарушений может быть использовано для ранней диагностики осложнений, оценки эффективности лечения больных.

Наша цель – это создание инструментальной методики для диагностики микроциркуляторных нарушений у пациентов с СД и риском его развития. Одним из наиболее объективных методов изучения микроциркуляции крови является лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ). Для повышения информативности этого метода необходимо использовать функциональные пробы. Создание информативных и универсальных функциональных проб является одной из основных задач нашего исследования. Исследование проводится в лаборатории медико-физических исследований совместно с отделением эндокринологии ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского. Контрольные и исследуемые группы стандартизируются по полу, возрасту, стажу заболевания, уровню гликированного гемоглобина, наличию осложнений и др. Пациенты проходят исследование в рамках клинического обследования. Исследование микроциркуляции крови проводится на диагностическом комплексе ЛАКК-02.

На данный момент разработаны функциональные пробы и проведено «пилотное» исследование, которое подтвердило их высокую информативность. Дальнейший план работы выглядит следующим образом:

- Разработка и отработка методики проведения функциональных проб
- Разработка алгоритмов обследования пациентов и интерпретации данных
- Обследование пациентов и контрольных групп
- Обработка результатов, анализ полученных данных, сопоставление с результатами клинического обследования

В перспективе разрабатываемая методика будет использована для оценки риска развития осложнений и эффективности проводимой терапии с целью ее своевременной коррекции. Также возможно создание новых диагностических комплексов и разработка мобильных приложений. Помимо этого, в ходе нашего исследования мы, включив группу людей с высоким риском развития СД 2 типа, планируем изучить связь между микроциркуляторными нарушениями и формированием инсулинорезистентности, что в перспективе даст возможность количественно оценивать риск развития СД по состоянию микрокровоотока, что позволит более эффективно проводить профилактику развития этого заболевания.

РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМОВ ПОВЫШЕНИЯ ИНФОРМАТИВНОСТИ МЕТОДА ЛАЗЕРНОЙ ДОППЛЕРОВСКОЙ ФЛОУМЕТРИИ

^{1,2}Глазков А.А., ¹Куликов Д.А., ¹Лапитан Д.Г., ¹Рогаткин Д.А.

¹ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия.

²Факультет фундаментальной медицины Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия.

Клиническое использование метода лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) затруднено вследствие большого "перекрытия" результатов измерений контрольных и исследуемых групп, наблюдаемого в большинстве работ, что приводит к невозможности определения диагностических интервалов.

Целью данного исследования является повышение информативности метода ЛДФ. Это достигается путем использования последовательных комбинированных функциональных проб, математической обработкой получаемых данных и использованием корректных статистических критериев, что способствует увеличению выявляемых между группами различий.

На первом этапе работы было изучено влияние выбора алгоритмов математического преобразования и статистического анализа данных на результаты использования комбинированных функциональных проб. В исследовании участвовали пациенты с декомпенсированным сахарным диабетом и здоровые добровольцы. Включение в исследование большего количества обследуемых с нарушениями микроциркуляции различного генеза позволит разработать универсальные алгоритмы повышения информативности ЛДФ для использования как в клинических, так и в научных целях.

АНАЛИЗ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ НАНОСТРУКТУРИРОВАННОГО КОМПЛЕКСА ХИТОЗАН-ПЧЕЛИНЫЙ ЯД-НАНОЧАСТИЦЫ ЗОЛОТА НА ЖИВОТНЫХ С ПЕРЕВИТОЙ ОПУХОЛЬЮ ШТАММА РС-1 ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ И ИНЪЕКЦИОННОМ СПОСОБАХ ПРИМЕНЕНИЯ.

Дыдыкина В.Н., Ерёмин Ю.Д., Паратова М. П.

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

В настоящее время не утрачена актуальность поиска препаратов для химиотерапии, которые бы обладали специфичностью действия, максимальной терапевтической активностью и минимальной токсичностью для организма.

Высокая скорость увеличения частоты злокачественных опухолей человека обусловлена постоянным снижением его адаптационных возможностей, связанных с увеличением количества внутренних «поломок» в организме, что сопровождается нарушением функционирования целого ряда систем органов. Несомненный интерес в этом направлении исследований представляет поиск противоопухолевых комплексных препаратов с полифункциональными свойствами, на основе физиологически активных веществ природного происхождения, в частности хитозана и пчелиного яда.

Цель исследования – оценить рост-ингибирующую активность наноконплекса хитозан-пчелиный яд-наночастицы золота, а также его влияние на функциональное состояние организма животных-опухоленосителей, используя индикаторные показатели системы крови (лейкоцитарную формулу и лейкоцитарный коэффициент, характеризующих состояние организма – стресс, норма и др.) при пероральном и инъекционном способах применения

Исследования проводились на белых нелинейных крысах самках массой 150 – 200 г. с перевитой опухолью штамма РС-1. Животные были разделены на 4 группы по 5 особей в каждой (интактные; контроль - животные-опухоленосители без лечения; опытная группа - животные-опухоленосители, которым вводили препарат хитозан-пчелиный яд-наночастицы золота инъекционно; опытная группа - животные – опухоленосители, которым вводили препарат хитозан-пчелиный яд-наночастицы золота перорально). Дозы компонентов нанопрепаратов - ХТЗ 100мг/кг; пчелиный яд - 0,5мг/кг; золото – 0,25 мг/кг. На 28 сутки после курсового введения препарата определяли массу опухоли и индикаторные показатели - лейкоцитарную формулу, лейкоцитарный коэффициент.

В результате исследований было выявлено, что масса опухолей у опытной группы, получавшая препарат хитозан-пчелиный яд-наночастицы золота путем обкалывания опухоли, была в 5 раз меньше, чем в контроле. В опытной группе животных, получавшей препарат перорально статистически значимых отличий в массе новообразования по отношению к контролю не наблюдалось ($p > 0.05$), что свидетельствует о неэффективности перорального применения наноконплекса.

Значения индикаторных показателей у животных опытной группы, получавших нанопрепараты парентерально указывали, что их функциональное состояние соответствовало относительной норме. Контрольные, а также опытные животные получавшие препарат перорально находились в состоянии стресса.

Проведенные исследования свидетельствуют, что, в отличие от перорального, инъекционное применение наноструктурированного комплекса оказывает противоопухолевое и адаптогенное действие на животных-опухоленосителей, переводя их из состояния стресса в состояние относительной нормы.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОСНОВА ГИПОГОНАДОТРОПНОГО ГИПОГОНАДИЗМА

¹Енева Н.Г., ²Локтионова А.С., ³Иловайская И.А., ³Древаль А.В., ¹Нефедова Л.Н.,
¹Ким А.И.

¹ МГУ имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия.

² МГУ имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия.

³ ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия.

Гипогонадотропный гипогонадизм (ГГ) – синдром, характеризующийся задержкой либо отсутствием полового созревания вследствие расстройства гипоталамо-

гипофизарно-гонадной оси. ГГ может быть врожденным и приобретенным. Врожденные формы ГГ подразделяются на сопряженные с аносмией/гипосмией (синдром Каллмана) и с нормальным обонянием (нормосмический идиопатический ГГ, НИГГ).

Этиология ИГГ гетерогенна. На данный момент известны несколько десятков генов, вовлеченных в процесс становления репродуктивной оси, патологические изменения которых могут привести к развитию синдрома ГГ. Тем не менее, более чем в 65% случаев этого синдрома генетическая причина остается невыясненной. В рамках нашего исследования мы сосредоточили внимание на 4 генах-кандидатах: это PROK2, CHD7, GNRHR и GNRH1. В ходе работы было проведено количественное определение мРНК, характеризующее экспрессию генов, активных в данном образце с помощью ПЦР в реальном времени, обладающей высокой точностью количественного измерения.

Объект исследования: пациенты отделения терапевтической эндокринологии МОНИКИ с диагнозом «гипогонадотропный гипогонадизм». Количество участников исследования: 7 человек. Возраст обследуемых пациентов от 17 до 26 лет. Контрольная группа: 3 человека. Практически здоровы. Возраст от 22 до 28 лет. По полученным результатам изменения экспрессии генов-кандидатов на роль причины ИГГ присутствуют у всей исследуемой группы. У 6 из 7 исследуемых снижена экспрессия гена GNRH1, у 5 из 7 – снижена экспрессия GNRHR. По имеющимся на сегодня данным мы можем заключить, что генетические взаимосвязи могут быть ответственны за фенотипические проявления ИГГ в том или ином случае.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОТВЕТЫ ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА ПОД ВЛИЯНИЕМ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ТИТАНА

Жорник Е.В., Зайцева А.В., Баранова Л.А.

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь.

Бурное развитие нанотехнологий и коммерциализация наноразмерных продуктов, наблюдающиеся в последние годы, привели к значительному увеличению воздействия наноматериалов на человека. Учитывая, что в перспективе ожидается тесный контакт человека и других биологических объектов с наноматериалами изучение вопросов потенциальных рисков их использования представляется первостепенной задачей. В связи с этим целью данной работы являлось изучение токсического действия наночастиц диоксида титана широко используемых в различных областях на лимфоциты человека.

В работе было исследовано влияние наночастиц TiO₂ на жизнеспособность лимфоцитов человека, индукцию образования АФК и изменение экспрессии генов воспалительных реакций. Оценку жизнеспособности лимфоцитов при действии на них искусственных наноструктур проводили с помощью теста на захват клетками витального красителя нейтрального красного. Было показано снижение жизнеспособности клеток под влиянием наночастиц TiO₂, количество жизнеспособных клеток при этом зависело от времени воздействия и концентрации наночастиц. Уровень окислительных реакций в лимфоцитах оценивали с помощью флуоресцентных зондов DCFH-DA и DHE. Установлено, что обработка лимфоцитов наночастицами приводила к дозозависимому увеличению интенсивности флуоресценции зондов, что является показателем генерации активных форм кислорода.

Было также исследовано влияние наночастиц TiO₂ на экспрессию генов TNF, И-6 и И-8, отвечающих за синтез растворимых внутриклеточных медиаторов, участвующих в сигнальных каскадах воспалительных реакций. Было установлено увеличение уровня экспрессии данных генов по критерию транскрибируемости в зависимости от времени инкубации с наночастицами. Оценивая результаты проведенных исследований, можно говорить о потенциальном токсическом действии наночастиц TiO₂.

Работа проводилась при поддержке гранта БРФФИ №Б13М-132.

ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ АНАЛОГОВ ЭСТРОГЕНОВ НА КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК ФЕОХРОМОЦИТОМЫ (PC12)

Зорина И.И., Власова Ю. А., Аврова Н.Ф.

Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург, Россия.

Женские гормоны эстрогены (Е) проявляют множество эффектов и задействованы в работе сердечно-сосудистой, опорной, репродуктивной и нервной систем. Многочисленными исследованиями отмечается защитная роль эстрогенов. Показано, что Е влияют на когнитивные функции, снижают риск развития нейродегенеративных заболеваний. Многочисленные эксперименты, проведенные *in vitro* на различных культурах клеток показали, что Е, их производные и аналоги способны защищать нейроны от окислительного стресса в широком диапазоне концентраций: 0,1 нМ – 50 мкМ. Культура клеток феохромоцитомы PC12 проявляет нейрональные свойства и является удобной моделью для изучения процессов, происходящих в клетках нервной системы, как на клеточном, так и на молекулярном уровнях.

Целью данной работы стало изучение возможных цитопротекторных свойств следующих аналогов Е: 17β-этинилэстрадиол (ЕЕ); соединение №1: 3-гидрокси-7α-метил-6-окса-8α-эстра-1,3,5(10)-триен-17-он; соединение №2: 3,17β-дигидрокси-7α-метил-6-окса-8α-эстра-1,3,5(10)-триен. Опыты проводили на культуре нейрональной клеточной линии PC12. Клетки были преинкубированы с данными соединениями в концентрации 10 мкМ в течение 1 часа, а затем проводилась 2-х часовая коинкубация клеток с 0,3 мМ H₂O₂ для индукции окислительного стресса. Оценка цитотоксичности проводилась по активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в супернатанте разрушенных клеток и вычислялась в %. В ходе работы было показано, что все исследуемые соединения обладают цитопротекторными свойствами. Так, добавление в среду ЕЕ и соединения №1 достоверно снижало (в 2 раза) выход фермента из клеток: активность ЛДГ соответственно составила 9,77±0,06% и 9,15±1,58% по сравнению с клетками, инкубированными только в присутствии H₂O₂ (20,67±1,26%). Соединение №2 также проявляло защитные свойства, но менее выражено: активность ЛДГ составила 15,08±4,13%. Проявленные цитопротекторные свойства возможно определяются антиоксидантной активностью данных соединений, которая была обнаружена нами ранее. Выявленные в ходе работы защитные свойства аналогов эстрогенов представляют особый интерес для поиска терапевтических подходов для лечения различных нейродегенеративных заболеваний, что открывает дальнейшие перспективы для их исследования.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ТРАНСГЕННЫХ G93A МЫШЕЙ ПОСЛЕ КСЕНОТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ КЛЕТОК МОНОНУКЛЕАРНОЙ ФРАКЦИИ ПУПОВИННОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА И АДЕНОВИРУСНОГО ВЕКТОРА, КОДИРУЮЩЕГО СОСУДИСТЫЙ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫЙ ФАКТОР РОСТА (VEGF)

Измайлов А.А., Сафиуллов З.З., Шарифуллина Г.А., Соловьёва В.В., Федотова В.Ю., Салафутдинов И.И., Баширов Ф.В., Калигин М.С., Абдулхаков С.Р., Киясов А.П., Ризванов А.А., Исламов Р.Р.
ФГБОУ ВОП КГМУ, Казань, Россия.

Поддержание жизни нейронов с помощью нейротрофических факторов может повысить качество и продолжительность жизни больных с нейродегенеративными заболеваниями. Целью исследования явился анализ эффективности генно-клеточной терапии у трансгенных G93A мышей с фенотипом бокового амиотрофического склероза. В работе использовали рекомбинантные аденовирусы, экспрессирующие гены зелёного флуоресцентного белка (Ad-GFP) или VEGF (Ad-VEGF121). Инъекцией в ретроорбитальное пространство была произведена трансплантация 2×10^6 клеток в объеме 100 мкл. Для модели заболевания были выбраны трансгенные мыши G93A. Первой группе (n=12) трансплантировали моноклеарные клетки, трансдуцированные аденовирусным вектором Ad-GFP, второй группе (n=10) - Ad-VEGF121. Третьей (n=11), контрольной группе - физиологический раствор. Трансплантация проведена на 27-ой неделе жизни. Через 8 недель после трансплантации, горизонтальная активность в открытом поле у мышей контрольной группы снизилась до $50,1 \pm 10,1\%$, МКПК+AV-GFP до $45,7 \pm 10,8\%$, МКПК+AV-VEGF до $75,1 \pm 9,5\%$. Сила хватки к этому сроку в контрольной группе мышей снизилась до $21,9 \pm 4,8\%$, в МКПК+AV-VEGF - $70,2 \pm 20,4\%$. На 11-ой неделе после трансплантации в живых оставались 27,3% мышей в группе контроля, 60% в МКПК+AV-VEGF, 41,7% в группе МКПК+AV-GFP. Выявленные различия позволяют предположить, что генно-клеточная терапия, основанная на генетически модифицированных моноклеарных клетках пуповинной крови, экспрессирующих сосудистый эндотелиальный фактор роста, может быть эффективна для лечения бокового амиотрофического склероза.

УЧАСТИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНОГО ОНКОМАРКЕРА - БЕЛКА ЯДРЫШКА SURF6 ЧЕЛОВЕКА В БИОГЕНЕЗЕ РИБОСОМ И РЕГУЛЯЦИИ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА

Кордюкова М.Ю., Самойлова Д.В., Ползиков М.А., Шишова К.В., Зацепина О.В.
Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва, Россия.

Белок SURF6 относится к эволюционно консервативным белкам ядрышка эукариот. У человека SURF6 относят к белкам, ассоциированным с канцерогенезом и опухолевым ростом, ген Surf6 оверэкспрессирован также в эмбриональных и стволовых клетках млекопитающих. Эти и другие наблюдения говорят о том, что SURF6 может быть связан с регуляцией пролиферации у млекопитающих. Однако функции SURF6 млекопитающих и человека до сих пор остаются неизвестными. Для ответа на этот вопрос мы проанализировали влияние

индуцированного нокдауна SURF6 человека на биогенез рибосом и динамику клеточного цикла в клетках HeLa.

Анализ содержания различных участков 47S пре-рРНК, проведенный методом RT-qPCR, показал, что нокдаун SURF6 увеличивает содержание внешнего и внутренних транскрибируемых спейсеров пре-рРНК. Методом нозерн-блоттинга выявлено, что нокдаун SURF6 изменяет содержание как мало процессированной рРНК (45S и 41S рРНК), так и коротких предшественников 18S, 5.8S и 28S рРНК. В совокупности, эти наблюдения позволяют сделать вывод о том, что SURF6 человека принимает участие в биогенезе рибосом и процессинге рРНК. В пользу этого вывода говорят также результаты анализа белковых партнеров SURF6, полученные методами ко-иммунопреципитации человека и аффинной хроматографии с использованием белка GST-SURF6. Они показали, что в клетках HeLa SURF6 образует комплекс с белками процессинга рРНК нуклеолином, фибрилларинном, NPM1, NOP52, EBP2, а также кофактором РНК полимеразы I, UBF.

Показано, что нокдаун SURF6 приводит к двукратному уменьшению числа апоптотических клеток по сравнению с контролем. Содержание клеток в G1/G0 периоде клеточного цикла уменьшается на 20%, тогда как содержание клеток в S периоде увеличивается почти на 20%. Мы наблюдали также увеличение митотического индекса в культуре клеток с нокдауном SURF6. Эти наблюдения указывают на то, что нокдаун SURF6 не является токсичным для клеток HeLa и оказывает влияние на их пролиферацию, либо стимулируя ее, либо удлиняя S и M периоды клеточного цикла.

В целом, полученные результаты работы впервые показали, что SURF6 млекопитающих, подобно дрожжевому гомологу белку Rrp14, участвует в процессинге пре-рРНК и сборке рибосомных частиц и оказывает влияние на регуляцию пролиферации у млекопитающих через фундаментальную роль в биогенезе рибосом, а также путем возможного непосредственного влияния на прохождение клеточного цикла. Однако точные механизмы функционального действия SURF6 нуждаются в дальнейшем изучении.

Работа финансировалась грантом Президента РФ (МК-6426.2013.4).

ОЦЕНКА КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ПАНКРЕАТИТОМ: РОЛЬ РЕГУЛЯТОРНЫХ Т-КЛЕТОК

Кравченко П.Н., Олейник Е.К., Жулай Г.А., Чуров А.В., Олейник В.М.,
Островский К.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия.

Острый панкреатит (ОП) сопровождается возникновением системной воспалительной реакции, в связи с чем становится возможным участие популяций лимфоидных клеток в развитии заболевания. Целью работы являлась оценка состояния клеточного иммунитета у больных ОП, в особенности популяции регуляторных Т-лимфоцитов (Treg). Определяли содержание клеток с регуляторным фенотипом CD4+CD25^{hi} и CD4+CD25+CD127^{lo}, а также количество CD3+CD4+, CD3+CD8+ Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов и NK-клеток в периферической крови.

Образцы крови больных ОП и здоровых доноров анализировались методом проточной цитометрии. Достоверность различий между группами рассчитывали по критерию Манна-Уитни при уровне значимости $p < 0,05$.

В ходе исследования было показано, что у больных ОП относительно число CD3+ Т-клеток ($63,87 \pm 7,1\%$), а также отдельной субпопуляции CD3+CD4+ Т-хелперов ($34,46 \pm 9,0\%$) снижено по сравнению с контролем ($70,94 \pm 3,2\%$ и $44,56 \pm 7,0\%$, соответственно, $p < 0,05$).

Таким образом, результаты показали, что у больных ОП отмечено снижение числа CD4+ клеток, в то время как содержание Treg возрастало, что позволяет предположить развитие иммунной супрессии при ОП.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, проект № 13-04-98826.

ВЫДЕЛЕНИЕ И НАРАБОТКА АНТИГЕНСПЕЦИФИЧЕСКИХ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ Т-ЛИМФОЦИТОВ

Кузнецова М.С., Лопатникова Ю.А.

Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия.

Иммунотерапия онкологических заболеваний человека развивается в соответствии с общемировой тенденцией к индивидуализации подходов к лечению. Конечной целью клеточных вакцин в этой области является стимуляция специфического иммунного ответа, направленного против конкретных опухолевых антигенов. Ключевое значение в активации противоопухолевого клеточного ответа принадлежит дендритным клеткам (ДК), являющимся одними из основных стимуляторов иммунных реакций в организме. ДК способны распознавать и представлять опухолевые антигены Т-лимфоцитам, инициируя мощный специфический иммунный ответ.

Развитие методов обнаружения антиген-специфических Т-лимфоцитов позволило обосновать новые подходы к стимуляции специфического иммунного ответа в терапии онкологических заболеваний. Технология обратимого окрашивания Т-лимфоцитов стрептамерами позволяет выделять антигенспецифические Т-клетки с последующим эффективным удалением реагентов окрашивания с поверхности лимфоцитов, не влияя при этом на их жизнеспособность и функции.

Таким образом, создание технологии получения противоопухолевых антигенспецифических цитотоксических Т-лимфоцитов с помощью ДК и стрептамеров представляется перспективным для разработки на его основе Т-клеточных вакцин против опухолевых клеток.

Объектом исследования являются моноклеарные клетки периферической крови (МНК ПК) условно здоровых доноров, положительных по генотипу HLA A0201. В работе используются методы культуральной работы по выделению и культивированию МНК ПК, получению ДК, магнитной трансфекции ДК, проточной цитофлуориметрии, методы обратимого окрашивания стрептамерами и магнитной сортировки антигенспецифических Т-клеток.

В результате данной работы разработан протокол получения ДК, трансфецированных ДНК-конструкциями, кодирующими эпитопы опухолевого антигена HER2, сокультивирования ДК и аутологических МНК для представления антигена Т-лимфоцитам; отработан протокол идентификации HER2-специфических Т-клеток; отработан метод изоляции HER2-специфических Т-лимфоцитов с использованием стрептамеров и магнитной сортировки. Подобраны необходимые условия для стимуляции пролиферации культуры специфических CD8+ лимфоцитов с использованием коктейля цитокинов. Цитотоксический эффект полученных антигенспецифических Т-лимфоцитов оценивался в экспериментальных тестах *in vitro* по отношению к клеточной линии MCF-7. В работе показано, что используемый подход позволяет получать

антигенспецифические Т-лимфоциты, способные оказывать цитотоксичность в отношении опухолевых клеток.

**ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ТКАНИ ТИМУСА В
ИММУНОПРИВИЛЕГИРОВАННУЮ ОБЛАСТЬ КАК СПОСОБ
КОРРЕКЦИИ ИММУННЫХ ДЕФЕКТОВ И УВЕЛИЧЕНИЯ
ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ
ЖИВОТНЫХ**

Куликова П.А.¹, Филлюшкин Ю.Н.², Егоян Г.Г.²

¹Факультет фундаментальной медицины Московский Государственный
Университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия.

²ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический
институт им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия.

Известно, что у незимнеящих млекопитающих, в том числе человека, тимус подвергается выраженной возрастной инволюции. Считается установленным, что снижение функциональной активности этого центрального органа гемопоэза и иммуногенеза играет ключевую роль в дисфункциях иммунной системы и может ограничивать продолжительность жизни. Таким образом, разработка способов замедления возрастной инволюции тимуса может помочь в решении задач коррекции иммунологических дефектов и продления жизни.

В своей работе мы исследовали возможность трансплантологической коррекции изменений тимуса, возникающих в процессе естественного старения и после воздействия ионизирующего излучения. Объект исследования: крысы Вистар.

Была разработана методика трансплантации ткани тимуса в переднюю камеру глаза. Помещение трансплантата в иммунопривилегированную область позволяет избежать подбора донора и отказаться от иммуносупрессивной терапии.

Были проведены эксперименты по пересадке как алло-, так и аутогенных трансплантатов животным разных возрастных групп. Было установлено увеличение количества тимоцитов у экспериментальных животных по сравнению с контрольной группой. Исследования показали, что предложенная методика оказывает положительное влияние на продолжительность жизни экспериментальных животных, способствует повышению выживаемости после облучения в летальной и ускоренному восстановлению иммунного статуса организма после облучения в сублетальной дозе.

**ВЛИЯНИЕ ИНКАПСУЛИРОВАННОГО БЕЛКА ТЕПЛООВОГО ШОКА
БТШ70 НА ОСНОВНЫЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ФАГОЦИТОВ
КРОВИ**

Кочеткова О.Ю., ²Юринская М.М., ¹Шабарчина Л.И., ²Винокуров М.Г.

¹ ФГБУН ИТЭБ РАН, Пущино, Россия.

²ФГБУН ИБК РАН, Пущино, Россия.

При различных патологиях, в частности сепсисе, в крови человека резко увеличивается синтез основного стрессового белка, называемого «белком теплового шока» (БТШ70). Ранее было показано, что введение БТШ70 до введения липополисахарида (ЛПС), снижало смертность животных и нормализовало основные показатели крови. Использование микрокапсул, как средства направленной доставки данного белка в клетки представляется нам

весьма перспективным. Это позволит увеличить стабильность БТШ70, а так же на порядок сократит используемое количество для получения видимого эффекта. В результате проведенных исследований было показано, что инкапсулированный БТШ70 ингибирует апоптоз нейтрофилов более чем на 70% по сравнению со свободным белком, который в концентрации 1 мкг/мл практически не оказывает влияния. Исследование продукции нейтрофилами активных форм кислорода (АФК) показало, что применение инкапсулированного БТШ70 увеличивает продукцию АФК на 8%. Это связано с процессом фагоцитоза микрокапсул содержащих БТШ70, а так же с отсутствием защитного эффекта от действия ЛПС. Показано снижение продукции TNF-а под действием инкапсулированного БТШ70 в присутствии ЛПС. Таким образом, направленная доставка инкапсулированного БТШ70 внутрь клеток позволит ему принимать участие в различных клеточных процессах, что расширит возможности применения данного белка.

НИКЕЛЯ (II) И ОКСИДА МАРГАНЦА (II, III) НА КУЛЬТУРЕ ФИБРОБЛАСТОВ ЧЕЛОВЕКА

Кушнина Д. А., Дорофеева Н. В.

Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург
Уральский федеральный университет им. первого президента России Б. Н.
Ельцина, Екатеринбург, Россия.

Наночастицы меди способны повреждать ДНК, формируя ДНК-аддукты, которые блокируют репликацию, транскрипцию и, как результат, клеточную пролиферацию. Избыток наночастиц оксида марганца в клетке приводит к образованию активных форм кислорода, угнетению митохондриальной активности и апоптозу. Токсичность наночастиц оксида никеля проявляется в подавлении процессов пролиферации, синтеза белка, ДНК, образовании токсичного гидроксил-радикала. Целью нашего исследования стало изучение токсичности наночастиц меди, оксида никеля (II) и оксида марганца (II, III) на культуре фибробластов человека с помощью построения кривых роста и морфологического анализа.

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

После введения суспензии наночастиц меди в концентрациях 0,01, 0,05 и 0,1 мг/мл уже на 3 сутки после цитотоксического воздействия произошло резкое снижение количества клеток по сравнению с контролем. Клеточный рост был либо пролонгирован с дальнейшей гибелью клеток, либо вообще отсутствовал. Часть клеток набухшие, с нечёткими границами. На 6 сутки после воздействия число клеток сократилось в 2,5 – 4 раза, процессы апоптоза и некроза преобладали над процессами митоза. Наблюдаются округлые, открепленные клетки, фибробласты имеют нечёткие границы, их цитоплазма сильно вакуолизирована, клетки находятся на стадии апоптоза. На 9 сутки культура полностью погибла. Особенно сильное падение числа клеток наблюдается после введения частиц в концентрации 0,1 мг/мл.

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

Наночастицы меди, оксида марганца (II, III) и оксида никеля (II) в концентрациях 0,01, 0,05 и 0,1 мг/мл обладают цитотоксичностью. Цитотоксичность этих типов наночастиц растёт с увеличением их концентрации. Установлено, что с увеличением концентрации наночастиц меди, оксида марганца и оксида никеля, ускоряется процесс дифференцировки фибробластического дифферона с последующей гибелью клеток. Наиболее выраженным цитотоксическим эффектом обладают наночастицы оксида никеля (II).

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

Латыева О.О., Шуряева А.К.

ФГБОУ Новосибирский государственный университет, Россия.

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

Мы изучали связь между IL-17A G197A и IL-17F A7488G и раком желудка. ДНК выделялась стандартным фенол-хлороформным методом. Исследование IL-17A G197A и IL-17F A7488G полиморфизмов проводилось методом полимеразной цепной реакции и рестрикционным анализом. По IL-17F A7488G были исследованы выборки из 104 больных раком желудка и 38 здоровых людей. На основании полученных данных было сделано предположение, что при GG генотипе IL-17F 7488 наблюдается повышенный риск развития рака желудка.

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

**БИОМЕДИЦИНСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА В
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ФИБРОЗОВ ПЕЧЕНИ**

¹Люндуп А.В., ¹Николенко В.Н., ^{1,2}Онищенко Н.А.

¹ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия.

²ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова,
Москва, Россия.

Имеются противоречивые сведения относительно эффективности трансплантации мезенхимальных стромальных клеток костного мозга (МСК КМ) для лечения фиброза печени (П) как в эксперименте, так и в клинических испытаниях. Цель исследования: оценить в эксперименте влияние дозы клеток и сроков трансплантации МСК аллогенного КМ на эффективность коррекции фиброза печени. На 90 крысах породы Вистар был смоделирован фиброз печени (ФП) путем длительного курсового введения CCL4, животные были разделены на 5 групп. В 1 и 2 группах крысам с ФП МСК вводили внутривенно на ранних сроках после затравки. В 1 группе однократно на 3 сутки (2,5 млн кл.), во 2 группе - дважды на 3 и 10 сутки (общее кол-во кл. 5 млн.). В 3 и 4 группах МСК вводили на этапе выраженного (развитого) фиброза дважды на 30 и 37 сутки. В 3 группе, как и во 2 группе, МСК вводили в общей дозе 5 млн. кл., а в 4 группе 10 млн. кл. Моделирование ФП вызывало кратковременное (до 3-4 недель) повышение биохимических показателей во всех группах опытов. При этом более ранняя нормализация биохимических показателей наступала в 1 и особенно во 2 группах. Во всех группах при морфометрии фиброзирование выявлялось уже на 3 и 10 сутки после курсовой затравки, в дальнейшем в контрольной группе фиброз прогрессировал к 60 и 90 суткам, но к 120 суткам становился менее выраженным. В 1 и особенно во 2 группах процессы фиброзирования резко снижались к 60 суткам и достигали значений нормы во 2 группе к 90 суткам и значений близких к норме в 1 группе к 120 суткам. В 3 группе фиброгенез к 120 суткам был менее выражен, чем в контроле, но более выражен, чем в 1 и 2 группах. В 4 группе выявлено 2 варианта воздействия на фиброгенез: у 50% животных процесс фиброзирования к 120 суткам был менее выражен, чем в 3 группе, однако у других 50% животных фиброз был более выражен, чем в контроле к этому сроку. Иммуногистохимические исследования выявили двухфазную динамику фиброзирования и резорбции соединительной ткани, особенно выраженную во 2 группе. Трансплантация МСК аллогенного КМ при ФП способствует резорбции соединительной ткани в печени, которая имеет двухфазную динамику. Наиболее эффективной была трансплантация МСК на раннем этапе развития ФП в дозе 5 млн. При позднем введении МСК эффект резорбции соединительной ткани был менее выражен, чем при раннем введении МСК и требовал применения более высоких доз клеток (10 млн. МСК), причем для констатации развития резорбирующего эффекта требовались более длительные сроки наблюдения.

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАРКЕРОВ ПРОГНОЗА КОНСЕРВАТИВНОГО
ЛЕЧЕНИЯ ПРЕДРАКА И РАННЕГО РАКА ЭНДОМЕТРИЯ**

Маковский А.А., Данилова Н.В.

ФГУ ВПО Московский Государственный Университет имени М. В. Ломоносова,
факультет фундаментальной медицины, Москва, Россия.

Рак эндометрия - самое распространенное злокачественное онкологическое заболевание женской репродуктивной системы в Российской Федерации среди женщин всех возрастов. Для высокодифференцированных эндометриоидных аденокарцином и атипической гиперплазии эндометрия существует возможность проведения консервативной гормональной терапии с целью сохранения репродуктивной функции. Однако морфологические маркеры прогноза и эффективности консервативной терапии, по-прежнему не изучены. В нашем исследовании оценивалось прогностическое значение иммуногистохимических маркеров PTEN, Ki67, COX-2, PgR, ER для результатов консервативной гормональной терапии.

Исследование проводили на архивном материале от 25 больных аденокарциномой тела матки и атипической гиперплазией эндометрия. Все больные были разделены на 2 группы: контроль и группа с плохим прогнозом. В группу контроль отнесены пациентки (средний возраст 34 года) без цитологической атипии в эндометрии при повторном выскабливании через 6 мес после начала лечения (медиана наблюдения -15 мес). В группу с плохим прогнозом входили пациентки (средний возраст 37 лет) с гистологически подтвержденной неизлеченностью и рецидивами после проведенного лечения. Неизлеченность определялась как наличие цитологической атипии в соскобе в сроки через 6 мес после начала лечения. Рецидивы определялись как появление цитологической атипии в соскобах эндометрия в срок через 3 месяца после констатированного излечения.

При сравнении группы контроля с группой с плохим прогнозом по маркерам PgR, PTEN, Ki-67 не обнаружено статистически значимых различий. Экспрессия же рецепторов эстрогена статистически значимо больше в группе с хорошим прогнозом, чем в группе с плохим прогнозом ($p < 0,05$). В контрольной группе так же статистически значимо меньше экспрессия маркера COX-2 ($p < 0,05$).

Выводы. Экспрессия рецепторов прогестеронов при атипической гиперплазии не отличается от экспрессии при высокодифференцированной аденокарциноме. Уровень экспрессии COX-2, PTEN и Ki67 при атипической гиперплазии эндометрия не отличается от экспрессии при аденокарциноме. Уровень экспрессии рецепторов эстрогенов статистически значимо выше в группе с хорошим прогнозом. Уровень экспрессии COX-2 статистически значимо меньше в группе с хорошим прогнозом. Таким образом, маркеры PTEN, Ki67, PgR нельзя использовать для определения предполагаемой эффективности консервативной терапии. Низкий уровень экспрессии ER и высокий уровень экспрессии COX-2 можно рассматривать как признак эффективности консервативной терапии атипической гиперплазии и раннего рака эндометрия.

ИЗУЧЕНИЕ МИГРАЦИИ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА В ТИМУС С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ

Миллер Т.В., Соловьева А.О., Повещенко О.В., Повещенко А.Ф., Коненков В.И.
ФГБУ НИИКЭЛ СО РАМН, Новосибирск, Россия.

Изучение закономерностей миграции клеток в лимфоидные органы после трансплантации различных популяций клеток костного мозга – несомненно, является актуальной теоретической и прикладной научной задачей. Актуальность исследования связана с тем, что эффективность клеточной терапии напрямую зависит от миграции трансплантированных клеток костного мозга. Кроме того, миграция трансплантированных клеток костного мозга влияет на возрастную инволюцию тимуса, что не может не сказаться на деятельности всей иммунной

системы. Целью данного исследования является изучение миграционной активности *in vivo* неразделенной популяции клеток костного мозга самцов линии СВА в тимус сингенных реципиентов самок с использованием в качестве маркера *sgy*-гена Y-хромосомы. Сравнительный анализ распределения клеток донорского происхождения, проводился с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Полуколичественное определение маркера в тимусе проводилось при помощи программного обеспечения Quantity One в денситометре Geldok (Bio-Rad) в единицах оптической плотности (ЕО) ампликонов электрофореграммы. Неразделенная популяция клеток костного мозга мигрирует во все сроки после трансплантации, что определялось с помощью маркера *sgy* – гена Y-хромосомы в тимусе. Интенсивность миграции изменяется, и зависит от срока после введения клеток костного мозга. Так, минимальные показатели миграции и/или накопления *sgy*-позитивных клеток донора в тимусе были обнаружены через 24 часа, а максимальные через 6 месяцев после трансплантации. Показатели миграции клеток костного мозга в тимус измеряемые в разные временные интервалы после трансплантации, имеют следующие значения: 1 час— 1348 ЕО, 1сутки- 993,1 ЕО, 1 месяц— 2026,4 ЕО, 3 месяца— 1104 ЕО, 6 месяцев— 2760 ЕО. Результаты данного опыта позволяют сказать, что неразделенная популяция клеток костного мозга мигрирует в тимус, и имеет склонность к относительному увеличению показателей распределения клеток донорского происхождения в разные сроки после внутривенной трансплантации в тимус. Данное исследование в дальнейшем поможет лучше понять механизмы миграции разных популяций клеток в лимфоидные и нелимфоидные органы, для разработки более эффективных методов клеточной терапии.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА В ОБОЛОЧКАХ ИЗ БЫЧЬЕГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА И ПОЛИЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ

¹Миронова Е.А., ¹Давыдова Г.А., ²Абакумов М.А.

¹ - Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук (ИТЭБ РАН), Пущино, Московская обл., Россия.

²Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова (ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова), Москва, Россия.

Магнитные наночастицы, благодаря своим свойствам, обладают большим потенциалом использования в медицине и биологии, в частности, для контрастирования тканей в магнитнорезонансной томографии, гипертермии метастаз, адресной доставки лекарств, введения магнитных диагностических меток. Для практического применения наночастицы должны быть нетоксичны, биосовместимы и в течение длительного периода сохранять коллоидную стабильность. Одним из способов решения подобных проблем является покрытие наночастиц оболочками.

Наночастицы магнетита были получены путем термического разложения ацетилацетона железа в бензиловом спирте и покрыты оболочками из молекул бычьего сывороточного альбумина (БСА) и оболочками из БСА и полиэтиленгликоля (ПЭГ). Гидродинамический диаметр наночастиц, покрытых БСА, составил 85 ± 10 нм и 36 ± 4 нм, наночастиц в оболочке из БСА и ПЭГ- 41 ± 5 нм.

Цитотоксичность наночастиц оксида железа исследовали на фибробластах подкожной соединительной ткани мышей C3H/An - NCTC clone L929 и клетках человеческой злокачественной глиобластомы - U251. Использовали методы дифференцированного флуоресцентного окрашивания живых и мертвых клеток, подсчета количества клеток на приборе CloneSelect Imager. Установлено, что наночастицы оксида железа в оболочке из БСА размером 36 ± 4 нм оказывают цитотоксическое воздействие на клетки L929 и U251 через 72 часа инкубации при концентрации 10^{-3} М. Наночастицы Fe_3O_4 в оболочке из БСА размером 85 ± 10 нм оказывают цитотоксическое воздействие на клетки L929 в концентрации 10^{-3} М в течение 48 часов инкубации и 10^{-4} М – после 72 часов, для клеток U251 токсичны концентрации 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} М через 48 часов инкубации. Наночастицы магнетита в оболочке из БСА-ПЭГ оказывает токсическое воздействие на фибробласты подкожной соединительной ткани мышей в концентрации 10^{-3} М через 72 часа инкубации.

При инкубации клеток L929 и U251 с наночастицами Fe_3O_4 покрытыми БСА размером 40 и 80 нм и ПЭГ размером 40 нм повреждения ДНК менее 5%.

Т.о. на основе наночастиц оксида железа в оболочках из БСА и БСА-ПЭГ возможно разрабатывать новые биологически-активные препараты

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ И ФЕНОТИПИРОВАНИЕ МИКРОГЛИЯ-ПОДОБНЫХ КЛЕТОК ДЛЯ ТЕРАПИИ НЕЙРОТРАВМ

Мухамедшина Я.О., Журавлева М.Н., Санатова Э.Р.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия.

Относительно недавно пришло осознание того, что клетки микроглии играют специфическую роль в определении прогрессирования и исхода всех заболеваний ЦНС. Микроглия, как вариант клеточной терапии, в наибольшей мере удовлетворяет исследователей по критериям онкогенной безопасности и минимальной инвазивности. Несмотря на перспективные свойства, практически отсутствуют сведения о применении микроглии для трансплантации с целью стимулирования регенерации при нейротравме.

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

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

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

**ПОЛУЧЕНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В СОСТАВЕ ДНК-ВАКЦИНЫ
ХИМЕРНОГО ГЕНА НАVG-1-8, КОДИРУЮЩЕГО ПОЛИПЕПТИД,
СОДЕРЖАЩИЙ ОСНОВНЫЕ АНТИГЕННЫЕ ДЕТЕРМИНАНТНЫ
АЛЬФА, БЕТА И ГАММА-ГЕРПЕСВИРУСОВ**

Назаров А.С., Духовлинов И.В., Симбирцев А.С.

Государственный НИИ особо чистых биопрепаратов ФМБА, Санкт-Петербург, Россия.

Герпес-вирусные инфекции широко распространены по всему миру и имеют постоянную тенденцию к неуклонному росту. Характерными особенностями вирусов герпеса человека являются способность персистировать в клетках хозяина длительное время, не вызывая каких-либо клинических проявлений, а также вовлечение в инфекционный процесс многих органов и систем организма. Это обуславливает многообразие вызываемых герпес-вирусами заболеваний, варьирующих от простых кожно-слизистых до угрожающих жизни генерализованных инфекций. Современные исследования в области создания антигерпетических препаратов направлены на разработку рекомбинантных вакцин на основе определенных антигенов вирусов герпеса человека, не используя при этом для вакцинации живых или ослабленных форм патогена. Одной из разновидностей таких вакцин является ДНК-вакцина, представляющая собой генно-инженерную конструкцию, обеспечивающую синтез вирусных белков *in vivo*. Синтезированные таким образом рекомбинантные протеины, несущие антигенные детерминанты вирусов герпеса, должны вызывать иммунный ответ в человеческом организме. Важнейшими преимуществами ДНК-вакцин являются способность активировать как гуморальный, так и клеточный иммунитет, а так же долговременная экспрессия антигенов, что обеспечивает более длительную иммунную реакцию. Эта способность ДНК-вакцины должна обеспечить повышенную эффективность для лечения инфекций, вызванных различными типами вирусов герпеса человека, так как они способны находиться латентно в клетках хозяина. Целью нашей работы является конструирование плазмиды, кодирующей полипептид, который содержит основные антигенные детерминанты альфа, бета и гамма-герпесвирусов. В качестве мишеней для ДНК-вакцины были выбраны гликопротеины вирусов, которые обеспечивают проникновение вирусных частиц в клетки. Выбор данных протеинов основывался на том факте, что они являются постоянными компонентами оболочек вирусов герпеса, а также на том, что эти белки являются высокоиммуногенными и специфичными для каждого типа вирусов герпеса человека. Таким образом, в рамках исследования планируется не только дизайн и оптимизация последовательности плазмидной ДНК и ее последующий синтез, но и исследование экспрессии полученного гена химерного белка, содержащего антигенные детерминанты вирусов герпеса человека, и в случае положительных результатов, переход к стадии доклинических и клинических испытаний.

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

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

Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Россия.

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

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

Благодаря общей глутатионпероксидазной активности в клетках регулируется концентрация гидропероксидов полиненасыщенных жирных кислот и H₂O₂. Окисленный в ходе данных реакций глутатион затем восстанавливается при участии глутатионредуктазы. Было установлено, что при гипоксии формируется состояние окислительного стресса. Активность глутатионпероксидазы снижается в 1,3 раза ($p < 0,05$) по сравнению с нормоксией. При этом активность глутатионредуктазы повышается в 1,7 раза ($p < 0,05$).

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

НЕФРОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ФЕРМЕНТА-АНТИОКСИДАНТА ПЕРОКСИРЕДОКСИН-6-СУПЕРОКСИДИДСМУТАЗЫ И КОНДИЦИОНИРОВАННОЙ СРЕДЫ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТЕВЛОВЫХ КЛЕТОК НА СОСТОЯНИЕ ПОЧЕК ПРИ ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРФУЗИОННОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ТКАНЕЙ

Палутина О.А.

Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия.

Ишемически-реперфузионное (ИР) повреждение органов является одной из основных проблем трансплантологии. При ИР повышается генерация активных форм кислорода, что приводит к повреждениям тканей и секреции медиаторов воспаления. Так, ИР почек является причиной развития острой почечной недостаточности, и как следствие распространению тяжелых заболеваний у пациентов и высокой смертности после трансплантации.

Целью исследования является выявление нефропротекторного действия модифицированного фермента-антиоксиданта пероксиредоксин-6-супероксиддисмутазы (PSH) и кондиционированной среды мезенхимальных стволовых клеток (MCS-CM) на состояние почки после ишемии.

В экспериментальном исследовании использовалась стандартная, воспроизводимая модель повреждения почки при ИР (окклюзия правой почечной ножки продолжительностью 45 мин) с одновременной нефрэктомией левой почки. Биохимические анализы показали, что при ИР в первые сутки повышается уровень креатинина и мочевины в крови более чем в 2 и в 3 раза соответственно. Введение MCS-CM после ишемии почти не снижает уровень этих показателей, а введение PSH отдельно и совместно с MCS-CM существенно изменяет биохимическую картину, приближая показатели к норме. Гистологические исследования образцов после ИР выявили обширную дистрофию нефронов и

почечных канальцев, как в корковом, так и в мозговом слоях. Постишемическое внутривенное введение растворов MCS-СМ незначительно снижает степень повреждения тканей, а растворы PSH и смеси PSH и MCS-СМ улучшают морфологическое состояние почек: уменьшается степень дистрофии тканей до локальных повреждений при сохранении функционально-значимых структур. Иммуногистохимические исследования образцов с ИР показали наличие большого количества апоптотических клеток в канальцах. Постишемическое введение PSH отдельно и совместно с MCS-СМ снижает уровень апоптоза, хотя остается наличие локальных апоптотических процессов в основном в юкстамедуллярной зоне.

Таким образом, можно сказать, что изучаемые вещества PSH и MCS-СМ обладают нефропротекторным действием и могут быть включены в состав перфузирующего раствора в качестве веществ с антиоксидантным, антиапоптотическим и противовоспалительным действиями, снижая при этом степень ИР повреждения трансплантата.

ИНДУКЦИЯ АПОПТОЗА КЛЕТОК ОПУХОЛЕЙ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ БИНАЗОЙ

Пуховская В.С., Зеленихин П.В.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия.

Рак молочной железы является наиболее распространенным инвазивным раком у женщин во всем мире. На его долю приходится 16% всех злокачественных новообразований и 22,9% инвазивных раковых заболеваний. Одной из наиболее важных проблем современной медицины является поиск щадящих средств в противоопухолевой терапии. Рибонуклеазы (РНКазы) – важнейшие ферменты метаболизма РНК, функции которых заключаются в расщеплении мРНК, превращении предшественников РНК в зрелые формы, продукции малых регуляторных РНК, деградации определенных типов РНК. Интерес к РНКазам различного происхождения в последнее время увеличился, благодаря возможности использования препаратов на их основе в терапии злокачественных новообразований.

Целью исследования явилась оценка апоптозиндуцирующего действия биназы – гуанилспецифичной РНКазы *Bacillus pumilus* 13-19 на линии клеток карциномы молочной железы человека: HBL-100 и ZR-75-1.

Клетки HBL-100 и ZR-75-1 культивировали в среде RPMI 1640 с добавлением 10% сыворотки и по 100 ед/мл пенициллина и стрептомицина в атмосфере 5% CO₂. Внесение биназы в концентрации 100 мкг/мл осуществляли после формирования монослоем 60% конфлюэнтности. Клетки культивировали в присутствии фермента в течение 48 часов, после чего подсчитывали общее количество клеток и цитометрически оценивали долю клеток, находящихся в состоянии апоптоза. В качестве позитивного контроля использовали вариант с добавлением классического индуктора апоптоза - камптотецина в концентрации 25 мМ. Индукцию апоптоза фиксировали на проточном цитофлуориметре BD FCSCanto II, с использованием флуоресцентного красителя мероцианина 540.

Установлено, что биназа обладает апоптозиндуцирующим действием в отношении клеток ZR-75-1. Доля клеток ZR-75-1, находящихся в состоянии апоптоза через 48 ч культивирования в присутствии биназы в концентрации 100 мкг/мл составила 27%, в то время как данный показатель у клеток HBL-100 и контрольном варианте составил всего 5,3%. Камптотецин индуцировал апоптоз

79% клеток в обеих клеточных линиях. Перечень активированных онкогенов клеточных линий HBL-100 и ZR-75-1 сходен, за исключением гена *тус*, который амплифицирован в клетках HBL-100, что, возможно, объясняет неодинаковое действие биназы на клетки. Полученные результаты позволяют сделать вывод о наличии у биназы способности индуцировать апоптоз малигнизированных клеток эпителия молочной железы, что подтверждает возможность использования данного фермента и препаратов на его основе в терапии злокачественных новообразований.

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

Почевалова Т.И.

ФГБУН ВОП Астраханский государственный университет, Россия.

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

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

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

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

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

**ПРИМЕНЕНИЕ ОКСАКАРБОЦИАНИНОВОГО КРАСИТЕЛЯ ДЛЯ
ИССЛЕДОВАНИЯ СИСТЕМ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ С
БЕЛКОВЫМИ ПОКРЫТИЯМИ**

Пронкин П.Г., Сорокина О.Н., Бычкова А.В., Коварский А.Л., Розенфельд М.А.,
Татикилов А.С.

ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской
академии наук, Москва, Россия.

Цианиновые красители нашли широкое применение в качестве спектрально-флуоресцентных зондов. Краситель-зонд 3,3'-ди-(γ -сульфопропил)-5,5'-дифенил-9-этилоксакарбоцианин-бетаин (ОК1) впервые был использован для оценки состояния сывороточного альбумина человека (САЧ) в системах магнитных наночастиц (МНЧ) с устойчивыми покрытиями из смеси САЧ (концентрация 9 мг/мл) и иммуноглобулина G (ИГ; 1.5 мг/мл). Покрытия МНЧ были сформированы свободнорадикальной окислительной модификацией молекул белков, адсорбированных на поверхности МНЧ.

Краситель ОК1 образует с САЧ сильно флуоресцирующий нековалентный комплекс (при взаимодействии с ИГ не образуется флуоресцирующий комплекс мономерного красителя). Оценка взаимодействия ОК1 с САЧ в образцах МНЧ выполнена в терминах эффективной концентрации белка ($c_{eff} = I_i/I_{control}$). Для образцов МНЧ с покрытием и для надосадка, отобранного в процессе магнитной сепарации, c_{eff} оказались различными ($57 \pm 3\%$ и $100 \pm 9\%$ соответственно), что может объясняться стерическим экранированием центров связывания САЧ наночастицами и окислительной модификацией белка.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (13-03-00863 и 14-03-31196-мол_a).

**ВЕНОЗНЫЙ ТРОМБОЭМБОЛИЗМ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ПАЦИЕНТОВ:
ПРОБЛЕМЫ ПРОФИЛАКТИКИ И ТЕРАПИИ**

¹Румянцев А.А., ¹Покатаев И.А., ²Румянцев Н.А., ²Таратута Т.В.

¹ ФГБНУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина»,
Москва, Россия.

² ГБОУ ВПО «Первый МГМУ имени И. М. Сеченова», Санкт-Петербург, Россия.

Венозный тромбоз эмболизм (ВТЭ) – гетерогенная группа заболеваний, включающая в себя тромбоз глубоких вен (ТГВ), тромбоз поверхностных вен (ТПВ) и тромбоз эмболию легочной артерии (ТЭЛА). Частота возникновения ВТЭ на фоне злокачественных новообразований значительно возрастает, до 10,7 % онкологических пациентов имеют бессимптомные тромбозы. Рутинное назначение антикоагулянтов всем пациентам данной группы, ввиду высокого риска развития геморрагических осложнений, нецелесообразно, а существующие прогностические шкалы не позволяют с высокой точностью выделить пациентов, имеющих высокий риск развития ВТЭ, которым показано проведение данной терапии. В настоящее время ведется поиск перспективных биологических маркеров, позволяющих с высокой точностью определить индивидуальный риск развития ВТЭ. Широко распространенный в клинической практике показатель коагулограммы – концентрация D-димера имеет прогностическую ценность: показано, что при повышении его концентрации >1.44 мкг/мл риск тромбоза повышается в 1.8 раз. Потенциальное прогностическое значение имеют

фрагмент протромбина 1 + 2 и растворимого Р-селектина (sP-selectin). Необходимы дальнейшие клинические исследования, направленные на совершенствование существующих и разработку перспективных методов оценки риска ВТЭ у онкологических пациентов. Стандартом профилактики и лечения ВТЭ у пациентов со злокачественными новообразованиями являются низкомолекулярные гепарины, обладающие благоприятным профилем безопасности, а также превосходящие в эффективности антагонисты витамина К. Несмотря на указанные преимущества, относительно высокая цена, а также необходимость парентерального введения ограничивают их применение. Для долговременной профилактики ВТЭ наиболее часто в клинической практике применяются антагонисты витамина К (варфарин). Основными преимуществами данного препарата является достаточно высокая эффективность, низкая цена и возможность перорального приема, недостатками – узкий терапевтический интервал и необходимость регулярного мониторинга эффекта - контроль МНО и поддержание его в рамках целевых значений. Таким образом, существующие методы антикоагулянтной профилактики и терапии имеют ряд недостатков, в связи с чем крайне желательным является расширение существующего терапевтического арсенала.

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

Сабиоров А.Х., Нгуен Тхи Нят Тханг, Пугачев М.Б., Штырлин Н.В., Мифтахова Р.Р., Иксанова А.Г., Штырлин Ю.Г.

ФГБОУ Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия.

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

Клетки аденокарциномы молочной железы MCF-7 выращивали в среде α -MEM, содержащей 10% эмбриональной бычьей сыворотки, 50 мкг/мл пенициллина, 50 мкг/мл стрептомицина, 2 mM L-глутамин и 10 мкг/мл (IC₂₅) исследуемого соединения AS-8 в условиях 37°C в CO₂-инкубаторе с содержанием CO₂ 5%. На седьмые сутки инкубации наблюдали изменение морфологии клеток MCF-7/AS-8, которые становились вытянутыми, ровной формы, с четко оформленным ядром. После 21-25 дней инкубации опухолевые клетки MCF-7/AS-8 откреплялись от поверхности и переходили в адгезионное состояние.

Однако по результатам описанных ниже экспериментов можно утверждать, что клетки MCF-7/AS-8 становятся менее злокачественными по отношению к контрольным клеткам. Так, после 20 дней инкубации с AS-8 клетки MCF-7 в 1,68 раз становятся более чувствительными к доксорубину (IC₅₀ = 7.63×10⁻⁷ M) в сравнении с контрольными клетками MCF-7 (IC₅₀ = 1.28×10⁻⁶ M). Также в ходе инкубации на 3, 7, 10, 15 и 20 сутки инкубации проводили скрининг метаболической активности клеток MCF-7/AS-8 относительно контрольных клеток, не подвергавшихся действию исследуемого соединения. С 1-10 сутки инкубации с AS-8 в клетках MCF-7 достоверно снижается уровень активности лактатдегидрогеназы, содержание лактата и АТФ при неизменяющемся уровне глюкозы и пирувата. Известно, что эффект Варбурга является отличительной

чертой опухолевых клеток, а высокие уровни лактата, воздействуя на опухоль-ассоциированные фибробласты, приводят к выработке гиалуронана – благоприятной среды для миграции клеток и появлению метастазов. Результаты исследования показывают ослабление эффекта Варбурга. С целью выяснения влияния AS-8 на данный процесс проверяли уровни ацетил-СоА, который начинает возрастать на 7 сутки инкубации, и уровень оксалоацетата, возрастающего на десятые сутки инкубации.

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

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

**СПОСОБ РЕКОНСТРУКТИВНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ
ВМЕШАТЕЛЬСТВ НА ВНЕПЕЧЕНОЧНЫХ ЖЕЛЧНЫХ ПРОТОКАХ С
ФОРМИРОВАНИЕМ ДОСТУПА ДЛЯ МАЛОИНВАЗИВНЫХ
ВМЕШАТЕЛЬСТВ**

Сидоренко А.Б.

ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия.

До настоящего времени вопрос выбора способа коррекции ятрогенных повреждений ВЖП остается предметом оживленных дискуссий. Ранее широко применявшиеся восстановительные вмешательства зачастую оказываются неэффективными и приводят к формированию послеоперационных стриктур в различные сроки после операции в 60 – 100% случаев. Это обусловлено с одной стороны механизмом и характером травмы - сочетание механического и электротермического воздействия, а с другой – ишемией поврежденного протока вследствие нарушения кровоснабжения, что определяется особенностями аксиллярного типа кровоснабжения ВЖП. В связи с этим, представляется актуальным разработка способов реконструктивных вмешательств, которые позволили бы осуществлять прямой доступ к зоне гепатико-еюноанастомоза, лишенных указанных недостатков.

Цель исследования: улучшение результатов хирургического лечения больных с заболеваниями и ятрогенными повреждениями внепеченочных желчных протоков, повышение качества жизни больных и полной социальной реабилитации. В отделении абдоминальной хирургии ГБУЗ МО МОНИКИ разработан и применяется на практике способ лечения заболеваний и травматических повреждений внепеченочных желчных протоков, который позволяет осуществлять необходимые малоинвазивные манипуляции (баллонную дилатацию, санацию

протоков, стентирование, замену эндопротезов) эндоскопическим способом, через сформированный гастроэнтероанастомоз.

Способ реконструктивно-восстановительных вмешательств на внепеченочных желчных протоках с формированием доступа для инвазивных вмешательств осуществляется следующим образом: первично, в зависимости от характера повреждения ВЖП накладывается билиоеюнальный анастомоз на внутреннем дренаже на отключенной по Ру петле или на длинной петле с соустьем по Брауну. Одновременно накладывается гастроеюноанастомоз со слепым концом тонкой кишки (1 вариант) или с отводящей петлей тонкой кишки (2 вариант). Послеоперационный период в среднем составил 14 дней, что обусловлено необходимостью применения инфузионной, гепатопротекторной, спазмолитической, антибактериальной терапии для коррекции электролитных и метаболических нарушений в связи с основным заболеванием. Выписаны в удовлетворительном состоянии на амбулаторное лечение и динамическое наблюдение. Через 2-3 месяца повторно госпитализировались в отделение для решения вопроса об удалении внутреннего дренажа. 10 пациентам дренажи удалены эндоскопически в сроки от 2 до 4 месяцев после операции, с последующим осмотром зоны гепатикоеюноанастомоза. 2 пациентам в связи с безуспешными попытками эндоскопического удаления (в первом случае - обрыв дренажа при захвате петель Дормия, во втором – невозможность проведения гастроскопа за зону гастроэнтероанастомоза в связи с его рубцеванием) проведено повторное оперативное вмешательство в объеме релапаротомия, энтеротомия, удаление карскасного дренажа.

В настоящее время пациенты находятся под динамическим контролем. За время наблюдения по клиническим, инструментальным и лабораторным показателям признаков развития стриктур билиодигестивных анастомозов не выявлено.

УЧАСТИЕ КЛЕТОЧНЫХ ГЕПАРАНСУЛЬФАТОВ В СВЯЗЫВАНИИ БЕЛКА ТЕПЛООВОГО ШОКА 90 (HSP90) НА ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЕ КЛЕТОК

Снигирева А.В., Врублевская В.В., Моренков О.С.
Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия.

Известно, что белок теплового шока 90 (Hsp90) обнаруживается во внеклеточном пространстве и на поверхности клеточной мембраны, и играет важную роль в клеточной подвижности, миграции, инвазии и метастазировании опухолевых клеток. В настоящее время молекулярные механизмы ассоциации Hsp90 с плазматической клеточной мембраной неизвестны.

С помощью Hsp90-специфических антител к двум изоформам Hsp90, Hsp90-alpha и Hsp90-beta, мы показали, что на плазматической мембране клеток фибросаркомы (HT1080) и глиобластомы (A-172) человека экспрессируются обе изоформы Hsp90. С использованием метода проточной цитофлуориметрии и конфокальной микроскопии обнаружено, что блокирование сульфирования гепарансульфатов при культивировании опухолевых клеток в среде с хлоратом натрия, приводило к резкому снижению экспрессии двух изоформ Hsp90 на мембране клеток. Разрушение клеточных гепарансульфатов гепариназой (I/III Blend) также приводила к снижению экспрессии Hsp90 на клеточной поверхности. При добавлении к опухолевым клеткам гепарина, который является структурным аналогом клеточных гепарансульфатов, наблюдалось снижение уровня мембранной экспрессии Hsp90-alpha и Hsp90-beta в $1,8 \pm 3$ и $4,3 \pm 6$ раз

соответственно. С учетом вышесказанного, можно сделать вывод о том, что клеточные гепарансульфаты являются одним из возможных рецепторов (коррецепторов) Hsp90 на мембране клеток.

Было обнаружено снижение миграции и инвазии опухолевых клеток HT1080 и A-172 под действием гепарина *in vitro*. Мы предположили, что гепарин ингибирует данные процессы через снижение мембранной экспрессии двух изоформ Hsp90 (Hsp90-alpha и Hsp90-beta). Полученные результаты указывают на перспективность использования препаратов, блокирующих взаимодействие Hsp90 с гепарансульфатами клеточной мембраны, в качестве противоопухолевых препаратов, тормозящих метастазирование опухолевых клеток.

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

Сульдина Л.А., Морозова К.Н., Мензоров А.Г., Кизилова Е.А., Короткевич Е.Ю.,
Голубица А.Н., Железова А.И., Киселева Е.В.

ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия.

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

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

СИНТЕЗ СОПОЛИМЕРОВ 3-ГИДРОКСИБУТИРАТА-СО-3-ГИДРОКСИГЕКСАНОАТА ВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИМИ БАКТЕРИЯМИ RALSTONIA EUTROPHA

Сырвачева Д.А.

ФГАОУ ВПО Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия.

В настоящее время получение биоразрушаемых материалов, материалов нового поколения, является одним из перспективных направлений биотехнологии. Разнообразие полимеров, варьирование их свойствами, возможность получения композитов в разнообразных сочетаниях с различными веществами является основой для получения новых материалов с ценными свойствами. Среди полимеров природного происхождения особое место занимают биоразрушаемые полигидроксиалканоаты (ПГА). Их сополимеры, содержащие в своем составе среднецепочечные мономеры (С6-С14 атомов углерода), наиболее перспективны, так как характеризуются более высокими физико-механическими свойствами и скоростями биоразрушения в сравнении с гомополимером 3-гидроксибутиратом. Цель работы – исследовать способность бактерий штамма *R.eutropha* B5786 синтезировать сополимер поли(3-гидроксибутирата-со-3- гидроксигексаноата), выявить связь между условиями биосинтеза и структурой ПГА, изучить свойства. Проведено культивирование бактерий *R. eutropha* B5786, где субстратами были фруктоза и гексановая кислота. В качестве ингибитора β -окисления жирных кислот использовали акриловую кислоту. Подачу гексановой и акриловой кислот осуществляли дробно (4-6 раз в течение эксперимента).

Выявлено, что акриловая кислота в большей степени по сравнению с гексановой влияет на синтез полимера и выход биомассы. Максимальные выходы ПГА (60%) и биомассы (4,5 г/л) были получены в условиях, где суммарная концентрация гексановой кислоты составляла 6 г/л, акриловой – 0,3 г/л, при этом включение ЗГГ достигало 43 мол.%. Увеличение акриловой кислоты (суммарно до 1 г/л) привело к резкому снижению полимера (до 24%) и биомассы (до 2,8 г/л). Максимальное количество ЗГГ (до 67,5 мол.%) получено в условиях суммарной концентрации гексановой и акриловой кислот, соответственно, 2,5 и 0,5 г/л. Исследованы физико-химические свойства (температурные характеристики, кристалличность, структура поверхности) полученных образцов. Таким образом, установлено, что, варьируя условия культивирования и концентрацию гексановой и акриловой кислот, возможно получать сополимеры поли(ЗГБ-со-ЗГГ) с различным содержанием ЗГГ (до 67,5 мол%).

**КЛЕТОЧНАЯ МОДЕЛЬ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ТОКСИЧЕСКОЙ ФОРМЫ
ТАУ-БЕЛКА (4R ФОРМЫ) И БЕТА-АМИЛОИДНОГО ПЕПТИДА (1-42).
ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ БТШ70**

Татарникова О.Г., Орлов М.А., Кленяева А.Н., Чупров-Неточин Р.Н.
ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия.

Болезнь Альцгеймера (БА) является одной из самых распространенных форм нейродегенеративного заболевания, которая включает такие паталогические признаки, как формирование нейрофибриллярных клубков, образование сенильных бляшек из агрегированного бета-амилоида и гипофункцию холинэргической и серотонинэргической систем мозга, что приводит к гибели нейронов. Нейрофибриллярные клубки представляют собой нерастворимые, агрегированные гиперфосфорилированные формы белка Тау, утратившие сходство к микротрубочкам. Однако взаимодействие Тау-белка и бета-амилоида остается не до конца ясным ввиду отсутствия адекватных моделей, позволяющих исследовать эту проблему.

Для понимания патогенеза БА нами была разработана клеточная *in vitro* модель процесса формирования фибриллярных форм Тау-белка (ФФТ) перевиваемой линией 3Т3-4R-Тау, клон 47, постоянно экспрессирующей белок Тау (4R-формы) человека, полученная на основе родительской линии клеток NIH-3Т3, фибробластов мыши. Стабильная экспрессия белка Тау подтверждена с помощью иммуно-флуоресцентного анализа (ИФА) с использованием моноклональных антител. В эксперименте по ко-культивированию 3Т3-4R-Тау клеток с первичной нейрональной культурой гиппокампа головного мозга новорожденных крысят показано увеличение количества нежизнеспособных клеток гиппокампа, что свидетельствует о токсичности белка Тау.

Для предотвращения токсического действия гиперфосфорилированного Тау-белка использовали прединкубацию клеток гиппокампа с белком теплового шока (БТШ70), обладающим шаперонной активностью и препятствующим гиперфосфорилированию белка Тау. Действительно, ко-культивирование такой нейрональной культуры с 3Т3-4R-Тау клетками, предварительно прединкубированными с бета-амилоидом (1-42), показало повышение устойчивости нейрональных клеток гиппокампа к токсическому действию белка Тау, что проявилось в увеличении на 40% количества жизнеспособных клеток.

Таким образом, нами создана клеточная модель, позволяющая исследовать взаимодействие Тау-белка и бета-амилоидного пептида, что важно не только для исследования фундаментальных механизмов патогенеза БА, но и для скрининга новых лекарственных препаратов, тормозящих развитие таупатий.

ВЛИЯНИЕ СТИМУЛЯЦИИ И БЛОКАДЫ β -АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ГЕМОЛИЗА ЭРИТРОЦИТОВ

Трясучев А.В., Ступин В.О., Зиновьева К.И., Курьянова Е.В.
ФГБОУ Астраханский государственный университет, Россия.

В настоящий момент данные о влиянии стимуляции и блокады адренорецепторов на интенсивность гемолиза эритроцитов весьма немногочисленны. В связи с этим, цель работы – оценить эффекты адреналина и β -блокатора анаприлина на осмотический, спонтанный и перекисный гемолиз эритроцитов самцов и самок нелинейных крыс. Осмотический и перекисный гемолиз моделировали по известным методикам с добавлением в среду инкубации адреналина ($4 \cdot 10^{-6}$ г/мл) и β -блокатора ($2,83 \cdot 10^{-4}$ г/мл). Статистическую обработку проводили в программе Statistica 8.0.

Адреналин снижал степень осмотического гемолиза примерно на 20 %, а β -блокатор – на 44-65 % ($p < 0,01$), причем в большей степени у самок ($p < 0,001$). В присутствии адреналина степень повышения перекисного и спонтанного гемолиза по сравнению с контролем составила 5-9 % ($p < 0,05$ – $p < 0,001$). β -блокатор, напротив, снизил уровень обоих видов гемолиза, оказав при этом большее тормозное влияние на перекисный гемолиз (- 10-12 % от контроля, $p < 0,001$) в сравнении со спонтанным гемолизом (- 5-8 % от контроля, $p < 0,05$). Гендерные особенности в эффектах адреналина и β -блокатора в отношении спонтанного и перекисного гемолиза не проявились.

Таким образом, адреналин оказывает на осмотический и перекисный гемолиз разнонаправленное действие, снижая осмотический и усиливая перекисный гемолиз. β -блокатор снижает степень всех видов гемолиза, в особенности осмотического. Особенности эффектов адреналина и β -блокатора на

Работа выполнена при финансовой поддержке Гранта Президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых МК -1245.2011.7.

ТРАНСПЛАНТОЛОГИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ПОИСКУ ГЕРОПРОТЕКТОРОВ И КОМПЕНСАЦИИ ЭНКОПРЕЗА

Филюшкин Ю.Н., Тарасов И.В., Егоян Г.Г.

ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия.

Известно, что с возрастом у всех млекопитающих происходит необратимая атрофия тимуса. С возрастом также учащаются случаи различных инфекционных заболеваний, аутоиммунных процессов, новообразований и др. Связь столь широкого круга связанных с возрастом патологических процессов с дефектами иммунной системы привела к появлению предположения, что старение иммунной системы может ограничивать продолжительность жизни. Для проверки некоторых из выше следующих положений авторами был разработан способ, позволяющий значительно замедлить необратимую возрастную атрофию тимуса у крыс. Для этого тимус от молодых животных пересаживали в иммунопривилегированную область организма – переднюю камеру глаза – стареющих крыс. При этом важно было узнать, приводит ли замедление старения Т-клеточногвозвена иммунной системы к увеличению средней и максимальной продолжительности жизни. Показано, что предложенный способ позволяет увеличить как среднюю (на $19 \pm 5\%$), так и максимальную (до 21%) продолжительность жизни животных.

Для компенсации энкопреза использовали аллогенные в эксперименте или аутологические в рамках клинической работы клетки костного мозга. На большом экспериментальном материале удалось показать возможность компенсации энкопрезау крыс. Адаптация метода для клиники позволила к настоящему моменту провести 8 операций. Получен патент на изобретение №2405573.

СОЗДАНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ПЕРВИЧНОГО МУЖСКОГО ГИПОГОНАДИЗМА И ТРАНСПЛАНТОЛОГИЧЕСКИЙ ПОДХОД ЕГО КОРРЕКЦИИ

¹Филюшкин Ю.Н., ¹Тарасов И.В., ^{1,2}Куликова П.А.

¹ ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия.

² Факультет фундаментальной медицины Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия.

Первичный гипогонадизм – патологическое состояние, обусловленное недостаточной секрецией половых гормонов или уменьшением чувствительности к ним. Распространенность первичного гипогонадизма среди мужчин достигает 10-20%. Снижение концентрации тестостерона ведет к нарушениям как в психическом, так и соматическом здоровье, в том числе, к бесплодию. В России около 20% бесплодных пар и доля мужского бесплодия составляет 30-40%. Настоящая работа посвящена разработке нового способа лечения первичного мужского гипогонадизма и связанного с ним бесплодия.

Используемые в настоящий момент модели гипогонадизма (бисульфановая, кадмиевая, абдоминальный крипторхизм и др.) – обладают рядом недостатков. В

первую очередь, это возможность самопроизвольного восстановления поврежденных функций.

Поэтому нашей первой задачей явилось создание модели мужского гипогонадизма со стойким угнетением гормонообразующей и репродуктивной функций. Объект исследования – крысы Вистар.

За счет дозированной ишемии тестикул получали модель гипогонадизма, сопровождающегося бесплодием. Самопроизвольного восстановления функций не отмечалось. Кроме того, исследовали состояния тимуса экспериментальных животных после инициации гипогонадизма (известно, что половые гормоны и гормоны тимуса обладают антагонистическим действием). Для коррекции экспериментальной патологии разрабатывается метод пересадки ткани костного мозга под белочную оболочку тестикул.

АКТИВНОСТЬ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ СЛЮНЫ ПРИ ИНТЕНСИВНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗКАХ

Ференчук Е.А., Бевзо В.В.

Буковинский государственный медицинский университет, Черновцы Украина.

При изучении метаболических процессов, протекающих в организме при физических нагрузках, особое значение приобретает биохимическое исследование ротовой жидкости – смешанной слюны. Известен ряд веществ, обнаруживаемых в слюне и достоверно отражающих воздействие физической нагрузки разной интенсивности на организм. Целью исследования было проанализировать изменение активности протеолитических ферментов (амилазы, щелочной фосфатазы) и рН слюны в ответ на кратковременную высокоинтенсивную нагрузку и оценить взаимосвязь функциональной подготовленности студентов со спецификой изменения изучаемых показателей. В исследовании участвовали 20 студентов, которые были разделены на 2 группы в соответствии с их физиологическими показателями и уровнем подготовленности. Участники исследования подвергались нагрузочному тестированию на беговой дорожке высокой интенсивности на протяжении 15 мин. Слюну брали в состоянии покоя и сразу после окончания нагрузочного тестирования. Полученные нами данные показали, что показатели активности протеолитических ферментов и рН слюны испытуемых до нагрузки достоверно не отличались. После нагрузки у более тренированных студентов рН слюны становится достоверно выше (на 50 %), чем у менее тренированных. Кратковременная нагрузка высокой интенсивности является стимулом к достоверному уменьшению активности протеолитических ферментов у всех испытуемых. Характер изменения активности как амилазы, так и щелочной фосфатазы зависит от уровня подготовленности студентов. Таким образом, кратковременная высокоинтенсивная нагрузка приводит к уменьшению активности амилазы и щелочной фосфатазы слюны испытуемых и полностью зависит от степени подготовленности студентов и переносимости физической нагрузки, а также отражает адаптационные возможности организма на физиологический стресс.

МОНОСЛОЙНАЯ 3D-КУЛЬТУРА ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ КЛЕТОК

Четверина Е.В., Гордеев А.А., Четверин А.Б.

ФГБУН ИБ РАН, Пущино, Россия.

Разработана технология получения чипов эукариотических клеток. Технология заключается в иммобилизации эукариотических клеток в гидрогеле с одновременным их выстраиванием в одной фокальной плоскости, то есть в виде монослоя. Данная технология основана на разработанном нами ранее методе слитых гелей, который был применен для получения чипов бактериальных клеток. Эукариотический клеточный чип совмещает достоинства 2D- и 3D-культур: клетки иммобилизованы (характерно для обоих типов культур), клетки расположены в одной фокальной плоскости и находятся в одинаковых физиологических условиях (характерно для 2D-культур), есть возможность имитации свойственного живому организму окружения клетки (характерно для 3D-культур).

Показано, что в чипе можно создавать монослои клеток с плотностью более 1000 клеток на 1 мм², а также анализировать большие массивы индивидуальных клеток со скоростью, по крайней мере, 100 клеток в секунду. Таким образом, такие чипы позволяют осуществлять высокопроизводительный скрининг эукариотических клеток. Более того, клетки чипа сохраняют жизнеспособность и могут быть размножены с образованием сферических микроколоний, которые можно извлечь из геля и размножить далее. Так как историю каждой микроколонии можно проследить с начала ее роста, клеточные чипы позволяют осуществлять селекцию индивидуальных клеток и быстро получать гарантированно чистые клеточные клоны, что особенно актуально при выведении устойчивых клеточных линий с заданными свойствами.

Эукариотические клеточные чипы могут быть использованы при решении ряда научных, диагностических и биотехнологических задач, где в строго контролируемых условиях необходимо наблюдение, исследование и размножение большого числа отдельных эукариотических клеток.

ИЗУЧЕНИЕ КИНЕТИКИ РОСТА НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ БАКТЕРИЙ РОДА RHODOCOCCLUS

Шарипова Г.Ж., Аюпова А.Ж., Молдагулова Н.Б.

РГП Национальный центр биотехнологии КН МОН РК, Астана, Казахстан.

Уникальная способность бактерий рода *Rhodococcus* утилизировать различные вещества, обусловленная в основном наличием плазмид, несущих гены, которые кодируют ферменты способные разлагать большой спектр ксенобиотиков и природных органических соединений вызывает огромный интерес со стороны ученых. Бактерии рода *Rhodococcus* отличаются не только высокой метаболической активностью, но и медленной реакцией на меняющиеся условия окружающей среды. Это дает им возможность легко приспосабливаться и выживать в неблагоприятных условиях среды. На сегодняшний день известны десятки биопрепаратов, для очистки нефтезагрязненных территорий, в основу которых входят бактерии рода *Rhodococcus*. Знание кинетических особенностей роста культур бактерий, входящих в состав препаратов, позволит решить задачу по оптимизации технологических режимов наработки биопрепаратов. Целью работы явилось изучение количественных закономерностей роста перспективных штаммов-нефтедеструкторов в реальных условиях культивирования. Объектами изучения являлись штаммы нефтеокисляющих бактерий *Rhodococcus erythropolis* B12 и *Rhodococcus* sp. B13, выделенных из нефтезагрязненных почв Западного Казахстана. Для изучения динамики накопления биомассы, бактерии культивировали 72 часа на качалках при 150

об/мин. и температуре 25°C. Культуры вносили с концентрацией клеток 10⁹ КОЕ/мл в 100 мл питательной среды. Отбор проб для определения численности бактериальных клеток осуществляли через каждые шесть часов от начала культивирования. Полученные результаты показали, что лаг-фаза началась после посева и продолжалась до 12 часов у обеих исследуемых культур. Титр клеток составил 10⁷ КОЕ/мл. Эта фаза характеризуется высокой скоростью биосинтеза ферментов и активного транспорта. Экспоненциальная фаза была отмечена от 12 до 36 часов у В12 и В13. Титр клеток составлял 10⁸ КОЕ/мл. Наступление стационарной фазы происходило с 36 часов до 62 часов у исследуемых штаммов.

РАЗРАБОТКА МИКРОФЛЮИДОВ НА ОСНОВЕ ГИДРОГЕЛЕЙ ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ

¹Шпичка А.И., ²Королева А., ²Чичков Б.

¹ – Пензенский государственный университет, Пенза, Россия.

² – Ганновский лазерный центр, Ганновер, Германия.

Гидрогели являются одними из наиболее привлекательных биоматериалов для тканевой инженерии благодаря своим полезным биофизическим параметрам, аналогичным нативному экстрацеллюлярному матриксу. Высокое содержание воды, биосовместимость, биodeградируемость, а также регулируемые структурные и химические свойства являются уникальными характеристиками многих природных и некоторых синтетических гидрогелей. Они широко применяются в инженеринге тканей с высокой плотностью клеток, значительными метаболическими потребностями и сложной внутренней архитектурой. Однако, главным ограничением в создании на основе гидрогелей сложных и больших функциональных тканей является недостаточный массообмен. Для поддержания 3D роста клеток и развития ткани гидрогели должны обеспечивать эффективный транспорт питательных веществ и биологически активных липофильных соединений, осуществление газообмена и удаление продуктов распада. С применением современных технологий становится возможным интегрировать микрофлюидные каналы, что позволяет значительно увеличить биологическое сродство конструктов. Разработка технологии создания микрофлюидов внутри гидрогелей, содержащих клетки, является актуальной темой в области тканевой инженерии.

Главными задачами исследования являются оценка новых материалов и улучшение существующих подходов в создании микрофлюидов на основе гидрогелей.

Получение микрофлюидных каналов осуществлялось с использованием комбинации трех техник быстрого прототипирования (лазерный метод, проекционная и мягкая литография). Коллаген, фибрин, ПЭГ, гиалуроновая кислота, а также их комбинации и синтетические модификации применялись как каркасный материал. Различные типы клеток, включая стволовые и эндотелиальные, были изучены в созданных 3D микрофлюидных гидрогелях.

Таким образом, новое знание и методы конструирования биосовместимых микрофлюидов на основе гидрогелей были достигнуты и могут быть использованы в дальнейшем развитии инженерии тканей и органов.

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

Шуряева А.К., Латыева О.О.

ФГБОУ ВОП Новосибирский государственный университет, Россия.

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

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

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

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

ВЛИЯНИЕ КАННАБИНОИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА АКТИВНОСТЬ ЛИМБИЧЕСКИХ СТРУКТУР МОЗГА И ЭПИЛЕПТИЧЕСКИЙ СТАТУС У МОРСКИХ СВИНОК

¹Шубина Л.В., ^{1,2}Кичигина В.Ф.

¹Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия.

²Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия.

Эпилептический статус (ЭС), ассоциируемый с тяжелым состоянием и смертностью, является одной из особо опасных форм судорожной активности. Препараты, используемые для блокады ЭС, имеют серьезные побочные эффекты и во многих случаях неэффективны. Все это указывает на необходимость поиска новых подходов и новых мишеней для управления судорожной активностью. Было показано, что как экзогенные, так и эндогенные каннабиноиды (ЭК) обладают антиконвульсантами свойствами *in vivo* и *in vitro*. В настоящей работе на бодрствующих морских свинках исследовалось влияние блокады каннабиноидных CB1 рецепторов (AM251), ингибирования обратного захвата (AM404), либо энзиматического гидролиза ЭК (URB597) на

фоновую полевую активность медиальной септум, гиппокампа, энторинальной коры и амигдалы, а также на ЭС, вызванный каиновой кислотой. В отличие от действия натуральных и синтетических каннабиноидов, влияние ингибиторов метаболизма ЭК на поведение и мозговую активность в настоящее время не исследовано. Результаты данной работы показывают, что модуляция активности ЭК системы кратковременно изменяла осцилляторную активность медиальной септум, гиппокампа, энторинальной коры и амигдалы. В то же время, блокада процессов инактивации ЭК (AM404, либо URB597) существенно снижала проявления ЭС, вызванного каиновой кислотой, снижая длительность судорожных эпизодов и моторные судороги. Антагонист каннабиноидных рецепторов AM251, напротив, данным эффектом не обладал.

ДИЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВОДНЫХ РАСТВОРОВ КРИОПРОТЕКТОРОВ

¹Ясунова О.С., ¹Горобч О.А., ¹Николов О.Т., ¹Гаташ С.В., ²Смолянинова Е.А.

¹Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, Харьков, Украина.

²Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины,
Харьков, Украина.

В настоящее время, благодаря успешному развитию физики низких температур, режимы глубокого холода стали доступными в лабораториях и производственных условиях. Стремительное развитие криобиологических исследований началось после открытия криозащитных веществ – криопротекторов. Изучение физико-химических свойств криопротекторов и до сегодняшнего дня остается ведущей проблемой в учении криобиологии. Общим механизмом действия криопротекторов является их способность связывать молекулы воды, что замедляет рост кристаллов льда. Это предупреждает быстрое нарастание концентрации солей во внеклеточной среде и повреждение клеток в результате осмотического шока. Для выяснения закономерностей перехода от одного релаксационного механизма к другому необходимо располагать данными о диэлектрической проницаемости и диэлектрических потерь в области СВЧ. Различные криопротекторы связывают воду по-разному. Исследование способности криопротекторов связывать воду имеет важное значение при поиске наиболее подходящего для конкретного биологического объекта криопротектора и его концентрации.

В работе использовались растворы диметилсульфоксида (DMCO), 1,2-пропандиола (1,2-PD), 1,4-бутандиола (1,4-BD), глицерина (Gly) и ацетамида (AC) с концентрациями 1,5 М; 2 М; 3 М; 4 М; 5 М; 6 М. Растворы охладяли в растворе сахарозы. Действительную диэлектрическую проницаемость измеряли на СВЧ-диэлектрическом резонаторного типа на частоте 9,2 ГГц. Обнаружено уменьшение величин действительной ϵ' и мнимой ϵ'' частей комплексной диэлектрической проницаемости растворов криопротекторов в области концентраций от 0,5 М до 6М. Это обусловлено тем, что с ростом концентрации криопротектора в растворе количество диполей воды, способных к ориентации в электрическом поле заданной частоты, становится меньше. Рассчитана степень гидратации криопротекторов различной концентрации в растворе.

Обнаружено, что в случае АЦ и ДМСО степень гидратации не зависит от концентрации. Для глицерина, 1,2-пропандиола и 1,4-БД в области концентраций до 3 моль/л степень гидратации понижается и при дальнейшем

повышении концентрации остается постоянной. Ацетамид имеет наименьшее, а 1,4-БД наибольшее значение степени гидратации h и частоты диэлектрической релаксации молекул воды f_d , что свидетельствует о наименьшей и, соответственно, наибольшей способности оказывать влияние на структурное состояние воды в растворе. ДМСО в незначительной степени связывает воду, но оказывает существенное влияние на структурирование свободной воды в образце. Глицерин и 1,2-ПД обладают способностью как связывать воду, так и структурировать ее.

Секция «БИОФИЗИКА И РАДИОБИОЛОГИЯ»

**МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
ЯДРЫШЕК ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ,
ПОДВЕРГАЮЩИХСЯ ДЛИТЕЛЬНОМУ ВЛИЯНИЮ
ПОВЫШЕННЫХ ДОЗ ИЗЛУЧЕНИЯ РАДОНА**

Ааль А.А., Жорноваль Д.В.

ФГБОУ ВПО Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия

В последние годы существенно возрос интерес к экогенетическим и биомедицинским проблемам, связанным с воздействием на население радона и дочерних продуктов его распада. Биологические, в том числе и генетические последствия от длительного воздействия альфа - излучения изучены недостаточно, в связи с чем представляется актуальным подбор методов и критериев, позволяющих оценить радиационные риски различных групп населения, подвергающихся сверхнормативным дозам облучения от радона. Известно, что из всех клеток крови лимфоциты наиболее чувствительны к воздействию ионизирующей радиации.

Целью настоящей работы является изучение влияния длительного воздействия повышенных доз облучения радоном на морфометрические и количественные показатели ядрышек лимфоцитов детей и подростков. Группа, экспонированная радоном, состояла из 25 учащихся школы-интерната г. Таштагол Кемеровской области, подвергающихся в условиях проживания и обучения сверхнормативному облучению от радона. Группа контроля включала 15 детей и подростков, проживающих в селе Зарубино Кемеровской области в условиях отсутствия выраженного загрязнения окружающей среды по радиационным и химическим показателям. Материалом для исследования послужили мазки периферической крови. Площадь ядрышек измерялась в микрометрах, для чего ПП «ImageJ» калибровали с помощью объектмометра ОМО (ГОСТ 7513-56). Статистическую обработку производили с помощью пакета программ STATISTICA 6.0 (лицензионное соглашение 74017-640-000106- 57177). Достоверность отличий между группами обследования оценивали с использованием U – критерия Манна – Уитни. Различия считали достоверно значимыми при $p < 0,05$. Статистически достоверные отличия по показателю средней площади ядрышек выявлены только для больших лимфоцитов, в группе экспонированной радоном данный показатель составил $2,03 \pm 0,44$ мкм, а в контрольной- $1,78 \pm 0,23$ мкм ($p = 0,0316$).

Показано влияние повышенного радиационного фона на количество ядрышек в ядрах лимфоцитов периферической крови. В экспонированной радоном группе средние значения частоты выявления лимфоцитов с одним ядрышком составили $73,79 \pm 14,14\%$, с двумя ядрышками- $19,15 \pm 9,95\%$, с тремя ядрышками- $4,36 \pm 4,42\%$, для контрольной группы соответствующие значения составили $87,14 \pm 6,37\%$, $12,14 \pm 6,03\%$, $0,56 \pm 1,53\%$, отличия всех средних значений являются достоверными. Аналогичные результаты были получены для группы ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС.

**ДЕЙСТВИЕ НИЗКОЧАСТОТНОЙ АКУСТИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ НА
ДИНАМИКУ ЦЕРЕБРАЛЬНОГО И КОЖНОГО МЕТАБОЛИЗМА
ЧЕЛОВЕКА**

Аккизов А.Ю., Тусовский Ж.К.

ФГБОУ Кабардино-Балкарский государственный университет, Нальчик, Россия

Актуальной проблемой современной адаптационной физиологии является разработка методов эффективной и безопасной коррекции обмена веществ в экстремальных условиях. Определенные надежды в этом направлении возлагаются на низкочастотную акустическую стимуляцию. Интересной представилась экспериментальная проверка влияния такой стимуляции на интенсивность метаболизма в головном мозге и коже человека.

Исследование было проведено на практически здоровых студентах-добровольцах с соблюдением требований биоэтики. Испытуемые подвергались дистанционной низкочастотной акустической стимуляции однократно – в течение пяти минут. В качестве показателя интенсивности метаболизма с помощью анализатора медленной электрической активности «АМЕА» регистрировался уровень постоянного потенциала головного мозга и уровень постоянного потенциала кожи.

Было установлено, что пятиминутное воздействие низкочастотной акустической стимуляции на организм человека сопряжено со стабилизацией динамики уровня постоянного потенциала головного мозга и уровня постоянного потенциала кожи. Под стабилизацией подразумевается статистически достоверное уменьшение флуктуаций и нормализация абсолютных значений указанных параметров у большинства испытуемых. Схожесть реакций головного мозга и кожи на акустическую стимуляцию объясняется тесными физиологическими связями между этими двумя органами. Известно, что нервная и покровная система в эмбриональный период происходят из одного зачатка и образуют устойчивую функциональную систему в постэмбриональном периоде. Именно поэтому адаптационные сдвиги в этих системах зачастую схожи между собой, а патология нервной деятельности сопровождается кожными заболеваниями.

Из проведенного экспериментального исследования был сделан следующий вывод: пятиминутное дистанционное воздействие низкочастотной акустической стимуляции на организм человека сопряжено со стабилизацией интенсивности метаболизма его головного мозга и кожи. Эти данные подтверждают гипотезу о возможности дистанционного управления физиологическими функциями организма с помощью низкочастотных акустических сигналов.

СОСТОЯНИЕ Na^+ - Ca^{2+} ОБМЕНА В ИЗОЛИРОВАННОМ СЕРДЦЕ КРЫСЫ В УСЛОВИЯ ЭКСПОЗИЦИИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫМ ПОЛЕМ

¹Алабовский В.В., ^{1,2} Богачева Е.В., ¹Маслов О.В.

¹-ГБОУ ВПО «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения РФ, Воронеж, Россия.

² - Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт медицины труда», Москва, Россия.

В связи с быстро растущим объемом передаваемой информации посредством беспроводных систем коммуникаций большое внимание уделяется проблеме неблагоприятного действия электромагнитного поля (ЭМП) на здоровье человека. Вместе с тем, в различных научных исследованиях обнаружены изменения функций сердечно-сосудистой системы при действии ЭМП, такие как гипотония, брадикардия и замедление внутрижелудочковой проводимости. Учитывая важную роль механизма регуляции Ca^{2+} в обеспечении процесса электромеханического сопряжения в сердце целью настоящего исследования явилось изучение влияния

ЭМП метрового диапазона на процесс Na^+ - Ca^{2+} обмена. Объектом исследования являлось изолированное сердце белой крысы линии Wistar массой 200-230 г. Под эфирным наркозом осуществляли декапитацию животного, быстро извлекали сердце с сосудами, проводили канюлирование сердца через аорту и начинали перфузию по методу Лангендорфа. Концентрацию кальция в оттекающем от сердца перфузионном растворе непрерывно измеряли в течение всего периода опыта. Источником излучения являлась носимая радиостанция «Радий-301» («Ижевский радиозавод», РФ), работающая в метровом диапазоне длин волн 171 МГц. Животные случайным образом были разделены на 2 группы - контроля и опыта - по 12 животных. Дозиметрия осуществлялась с применением программного обеспечения SEMCAD X v.14.8 («SPEAG AG», Швейцария). В расчетах был использован метод конечных разностей во временной области. Моделирование условий экспозиции осуществлялось с использованием численной модели радиостанции идентичной «Радий-301». В качестве объекта облучения использовалось отдельно взятое сердце коммерческой числовой модели крысы («TIS Foundation», Швейцария). Оценка уровня экспозиции осуществлялась с помощью автоматизированной системы дозиметрии DASY52NEO («SPEAG AG», Швейцария). Результаты численной дозиметрии показали, что максимальные значения УПМ изолированного сердца крысы составляет 0,16 мВт/кг при средних значениях для всего сердца 0,04 мВт/кг. В эксперименте в группе контроля процесс поглощения сердцем Ca^{2+} в течение 3-х минут, а затем его выход в течение 3-х минут, производили на каждом сердце три раза. В группе опыта экспозиция изолированного сердца при напряженности электрического поля 180 В/м осуществлялась во время второго цикла регистрации параметров Na^+ - Ca^{2+} обмена. Облучение изолированного сердца крысы ЭМП приводит к изменениям в нем направления Na^+ / Ca^{2+} обмена – ослаблению скорости поглощения Ca^{2+} и усилению его выхода из кардиомиоцитов. Функциональное состояние транспортного переносчика, осуществляющего Na^+ / Ca^{2+} обмен, остается интактным, поскольку процесс транспорта Ca^{2+} снижается только при поглощении Ca^{2+} и значительно усиливается в сторону выведения Ca^{2+} из клеток.

ИЗУЧЕНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК БЕЛКА Dps, ФРАГМЕНТОВ ДНК И ИХ КОМПЛЕКСОВ МЕТОДОМ АТОМНО- СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ

Артюхов В.Г.¹ Мелехов В.В.², Покусаева В.О.¹, Сергеев А.В.³, Тимченко А.А.⁴,
Енин Г.А.⁴

¹Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия.

²Институт биологического приборостроения РАН, Пущино, Россия.

³Институт математических проблем биологии РАН, Пущино, Россия.

⁴Институт белка РАН, Пущино, Россия.

Белок Dps является основным фактором, конденсирующим нуклеоид E.coli на стационарной фазе роста и во время различных стрессов. Его мономер имеет молекулярную массу 18.695 кДа, а функциональной единицей является додекамер, состоящий из 12 идентичных субъединиц. В контакт с ДНК вступают N-концевые неструктурированные фрагменты, экспонированные на поверхность шарообразной белковой глобулы и имеющие по 3 аминокислотных остатка лизина, но способ их взаимодействия пока не установлен. Считается, что этот белок не обладает явно выраженной специфичностью к какой-либо нуклеотидной последовательности, но наличие 12 ДНК-связывающих модулей допускает

«наворачивание» ДНК на его поверхность, т.е. существенную конформационную изомеризацию. Согласно другой модели, формируя комплексы с ДНК, Dps располагается в канале, образованном тремя молекулами ДНК, что предполагает образование объемных олигомерных комплексов. Метод атомной силовой микроскопии (АСМ), который обладает высокой разрешающей способностью, был использован для визуализации комплексов, формируемых очищенным рекомбинантным белком Dps и короткими фрагментами ДНК, взятыми из регуляторной области гена *dps*.

Для калибровки атомно-силового микроскопа Интегра–Вита (NT-MDT, Россия) были использованы плазида pGem длиной 8896 н.п., ДНК фага λ (Progenia, Россия) длиной 48502 п.о. и очищенный препарат белка. Было установлено, что молекулы Dps, ДНК фага λ и плазмиды имеют ожидаемый размер, что позволило приступить к изучению ДНК-белковых комплексов. Для этого были использованы фрагменты ДНК *E. coli* K12 длиной 420 п.о., 256 п.о. и 214 п.о., полученные в ПЦР. Это позволяло отследить адаптивную изомеризацию ДНК на поверхности белка, обнаружить сайты предпочтительного связывания и зарегистрировать формирование квадруплексов. Полученную смесь белка и фрагментов ДНК в буфере, содержащем 10мМ Tris-HCl (pH 7,5), 10 mM NaCl, 1 mM EDTA, наносили на свежеприготовленный скол слюды и проводили абсорбцию в течение 5 минут, затем промывали дистиллятом и высушивали в течение 30 минут. Сканы, полученные в полуконтактном режиме, не выявили никаких олигомерных надмолекулярных структур, что предполагает возможность образования бинарных комплексов Dps с ДНК и, следовательно, возможность использования его для создания конструкций на основе формообразующих ДНК-матриц.

Исследования поддержаны грантом РФФИ № 12-04-32196.

ИССЛЕДОВАНИЕ МАРКЕРОВ СВЕТЛОКЛЕТОЧНОГО РАКА ПОЧКИ НА ОСНОВЕ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРОФИЛЕЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ДЛЯ ИНДИВИДУАЛИЗАЦИИ ЛЕЧЕНИЯ

¹Апанович Н.В., ¹Коротаева А.А., ²Маркова А.С., ¹Бавыкин А.С., ¹Шубин В.П.,
¹Поярков С.В., ¹Поспехова Н.И., ²Камолов Б.Ш., ²Матвеев В.Б., ¹Карпухин А.В.

¹ФГБУ «МГНЦ» РАМН, Москва, Россия.

²ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина» РАМН, Москва, Россия.

Светлоклеточный рак почки (СРП) является наиболее распространенным (80-90% от других гистологических вариантов) и агрессивным среди гистологических типов рака этой локализации. Наиболее современный подход к созданию способов индивидуализации терапии состоит в изучении профилей экспрессии генов. Выявление в профилях экспрессии генов с наиболее выраженными изменениями уровня мРНК при раке, может позволить выявить набор маркеров, имеющих прогностическое значение для выбора средств терапии. Набор исследованных генов включал основные гены мишени таргетной терапии: VEGF121, VEGF165, VEGFR1, VEGFR2, PDGFR α , PDGFR β , m-TOR, EGFR, PTEN, PIK3CA, Raptor, Ax1. Исследовали СРП на I/II стадиях развития. Количественное определение экспрессии генов осуществляли с использованием полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) на приборе фирмы Applied Biosystems (США) Step One Plus. Наиболее часто были повышено экспрессированы гены ангиогенеза. С частотой 75% повышено экспрессировались гены VEGF121 и VEGF165, в половине случаев одновременно

с генами VEGFR1 или VEGFR2, либо с геном PDGFR α . Была обнаружена ассоциация экспрессии гена m-TOR с экспрессией гена CAV1 (P=0,018). CAV1 - Кавеолин-1 (Caveolin-1) – основной компонент кавеол мембран, которые вовлекаются в молекулярный транспорт, клеточную адгезию и сигнальную трансдукцию. По данным литературы, CAV1 часто гиперэкспрессирован в СРП и его экспрессия увеличивается, коррелируя со стадией опухоли. Экспрессия мРНК CAV1 может служить кандидатным маркером для объективного прогноза агрессивности СРП. Возможно, такие свойства CAV1 обусловлены его ко-активацией с геном m-TOR.

Таким образом, разработан способ и проведено исследование уровней активности генов-мишеней таргетной терапии, что может быть использовано для индивидуализации лечения при проведении системной терапии.

ОЦЕНКА СВЯЗИ МЕЖДУ ФОНОВЫМ УРОВНЕМ ФОКУСОВ γ H2AX И ИНДИВИДУАЛЬНОЙ РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

¹Беленко А.А., ^{1,2}Васильев С.А.

¹Томский государственный университет, Томск, Россия.

²НИИ Медицинской генетики СО РАМН, Томск, Россия.

В ходе ответа на действие радиации, в клетке образуются фокусы гистона γ H2AX, анализ которых стал надежным методом для определения двунитевых повреждений ДНК *in vitro* и *in vivo*. При этом природа эндогенных фокусов γ H2AX не до конца понятна. С одной стороны, они могут представлять собой нерепарированные двунитевые разрывы ДНК, возникшие в результате воздействия окислительных агентов или других факторов внутренней среды организма. С другой стороны, отмечается, что эти фокусы могут быть изменениями в структуре хроматина после завершения репарации двунитевых разрывов ДНК, либо соответствовать укороченным теломерам. Фактически, они представляют собой собранные комплексы, состоящие из белков репарации двунитевых разрывов ДНК и сигнальных медиаторов, участвующих в активации компонентов контрольных точек клеточного цикла. В связи с этим, целью данного эксперимента явилось изучение связи между спонтанным уровнем фокусов γ H2AX и частотой радиационно-индуцированных микроядер в соматических клетках человека, включая лимфоциты и фибробласты, в условиях *in vitro*. Интересно, что была обнаружена статистически значимая обратная зависимость между спонтанным уровнем фокусов γ H2AX и частотой центромеро-негативных микроядер, содержащих ацентрические фрагменты хромосом, после облучения 2 Гр (n = 37, R = -0,37, p = 0,025).

При этом корреляция спонтанного уровня фокусов γ H2AX с частотой центромеро-негативных МЯ в необлученных клетках оказалась незначимой (n = 46, R = -0,22, p = 0,14). В основе наблюдаемого феномена может лежать различная степень активации системы репарации двунитевых разрывов ДНК у индивидов с низким и высоким фоновым уровнем фокусов γ H2AX.

КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КОМПЛЕКСОВ Ca²⁺ С ОЛЕИНОВОЙ И ПАЛЬМИТИНОВОЙ КИСЛОТАМИ

¹Белослудцев К.Н., ²Кондратьев М.С.

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия.

²Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия.

Свободные жирные кислоты (СЖК) – природные модификаторы биологических мембран – обладают разной способностью изменять проницаемость мембран в зависимости от длины цепи и степени насыщенности. Этот факт соотносится с обнаруженной нами способностью насыщенных СЖК (а именно, пальмитиновой (ПК) и стеариновой) связывать Ca^{2+} с наиболее высоким сродством. Представляет интерес изучить непосредственные механизмы взаимодействия насыщенных и ненасыщенных СЖК с ионами Ca^{2+} . С помощью метода ЯМР-спектроскопии, проведенной д.ф.-м.н. В.П. Кутышенко, показано, что образующиеся в водной среде мицеллы ПК в присутствии Ca^{2+} уменьшаются в размере, в то время как мицеллы ненасыщенной олеиновой кислоты (ОК), наоборот, в присутствии Ca^{2+} увеличиваются.

Целью настоящей работы являлось квантово-химическое моделирование (метод РМ7) полученных эффектов. В расчетах были использованы модельные системы, состоящие из 6 молекул ПК или ОК и 1 или 6 ионов Ca^{2+} . Исследование структуры и стабильности таких систем выявило формирование ионной связи между карбоксильными группами молекул СЖК и катионом Ca^{2+} . В случае расчета 1 иона Ca^{2+} и гексамера ОК, один катион связывает 3 молекулы СЖК, тогда как остальные 3 расходятся на максимальное удаление (с 4 до 20 Å). Дипольный момент такой системы ожидаемо возрастает (с 1-1.5 до 60 Д). Расчет гексамера ПК выявил некий «стабилизирующий эффект» Ca^{2+} : 1 ион Ca^{2+} явно связывает лишь 2 молекулы ПК, но расхождение от такого комплекса демонстрируют лишь 2 молекулы, тогда как еще 2, хотя и не связанные, остаются на расстоянии 5 -8 Å.

При моделировании взаимодействия гексамера СЖК с 6 ионами Ca^{2+} было отмечено, что 2 молекулы ОК связываются с катионом Ca^{2+} в соотношении 1:1 и удаляются на 20 Å от оставшегося тетрамера. В случае ПК удаление также наблюдается, однако 1 ион Ca^{2+} связывает уже 2 молекулы ЖК. Остальные ионы, связываясь с полярными группами кислот, формируют устойчивый тетрамерный кластер. Сравнивая экспериментальные данные с полученными расчётами, можно предположить, что ионы Ca^{2+} , связываясь с полярными головами СЖК в составе гексамеров, по-разному влияют на упаковку ПК и ОК. Для ПК связывание приводит к сравнительно небольшому смещению молекулы в составе гексамера, тогда как для ОК это смещение можно оценивать практически уже как выход отдельных молекул ЖК из гексамера. По-видимому, для более крупных систем будет наблюдаться «набухание», увеличение объема, однако, этот тезис требует дополнительной проверки.

Работа поддержана грантами Президента РФ (МК-145.2012.4) и РФФИ (12-04-00430-а).

**ЭФФЕКТЫ РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННОГО СТАРЕНИЯ
СЕМЯДОЛЬНЫХ ЛИСТЬЕВ LINUM USITATISSIMUM, ОБЛУЧЕННЫХ
ОСТРОЙ РЕНТГЕНОВСКОЙ РАДИАЦИЕЙ**

Берова А.Н.

Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины, Киев,
Украина

Изучение онтогенетических реакций растений на неблагоприятные воздействия среды составляет одну из наиболее интересных проблем радиобиологии. На сегодня недостаточно исследованным остается вопрос влияния ионизирующего облучения на пигментный состав монокарпиков в процессе старения. Известно, что одним из эффектов облучения выступает радиационно-индуцированное старение. Воздействие ионизирующей радиации вызывает нарушение физиологических и биохимических свойств листа, что детектируется по снижению содержания хлорофилла. Изменения в содержании пигментов свидетельствуют о стрессовом характере ионизирующего облучения и о темпах гидролитических процессов, ассоциированных со старением.

Изучали динамику содержания хлорофилла, характеризующую скорость гидролитических процессов. В качестве модельного объекта было выбрано монокарпическое однолетнее травянистое растение *Linum usitatissimum*. Исследование проводили на семядольных листьях растения, отмирание которых наступает в фазу начала цветения. Облучали отстрой рентгеновской радиацией на стадии формирования настоящих листьев. Диапазон доз составлял: 1Гр, 3Гр, 5Гр, 15Гр.

Выращивали, отбирали семядольные листья на разных стадиях их онтогенеза. Онтогенез семядольных листьев условно разделили на 4 стадии: С1, С2, С3, С4, каждая из которых соответствовала видимым структурным изменениям листа, в частности пожелтение 0%, 5%, 25-50%, 50-75% листовой поверхности. В качестве метода исследования использовали спектрофотометрический метод определения содержания хлорофилла и их суммы в экстрактах листьев. Результаты обрабатывали статистически, выводили средние арифметические значения из всех повторностей и их среднеквадратичные ошибки. В дополнение исследовали метилирование ДНК *Linum usitatissimum*, выращенного из семян, облученных острой рентгеновской радиацией в дозах: 10Гр, 20Гр, 50Гр, 100Гр. Была поставлена задача выяснить, как реагирует эпигеном семян на действие разных доз рентгеновского облучения в процессе онтогенеза. Выделение ДНК и последующий анализ эпигенома проводили на указанных стадиях онтогенеза.

В результате было установлено, что облучение рентгеновской радиацией вызвало изменения в содержании хлорофилла листьев на разных стадиях онтогенеза. Уменьшение концентрации хлорофилла в процессе старения происходило нелинейно в зависимости от дозы рентгеновского облучения, которой облучали проростки. Исследования метилирования ДНК показали, что эпигеном реагирует на воздействие ионизирующего облучения. Наблюдались изменения в зависимости от доз. В экспериментальных образцах, было отмечено наличие переменного метилирования по внутреннему транскрибируемому спейсеру рибосомных генов на разных стадиях онтогенеза. Начальной и конечной стадиям онтогенеза листа присущ разный статус метилирования. Воздействие острого облучения вызывает процессы как дополнительного метилирования, так и деметилирования, в зависимости от стадий развития.

**ИЗУЧЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ ФИТОГОРМОНАЛЬНОГО СТАТУСА В
ДИНАМИКЕ ПРОРАСТАНИЯ СЕМЯН ЯЧМЕНЯ, ОБЛУЧЁННЫХ В
СТИМУЛИРУЮЩИХ ДОЗАХ**

Битаршвили С.В.

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной радиологии и агроэкологии РАСХН, Обнинск, Россия.

Применение ионизирующих излучений в сельском хозяйстве основано на их биологическом действии на живые организмы, в частности, на культурные растения. В основе повышения продуктивности сельскохозяйственных растений с помощью радиационных технологий лежит явление радиационного гормезиса, когда при воздействии ионизирующих излучений проявляется стимулирующий эффект малых доз облучения. Положительный эффект в растениеводстве дает предпосевное облучение семян. В этом случае ионизирующее излучение стимулирует прорастание и увеличение процента всхожести семян. Основной механизм стимулирующего действия малых доз ионизирующих излучений на растения заключается в усилении синтеза рибосомальных РНК и ДНК, структурных белков, ферментов, липидов. Ключевую роль в этих процессах играют фитогормоны, являющиеся не только основными регуляторами ростовых и морфогенетических процессов, но и адаптивных реакций.

В исследованиях механизмов гормональной регуляции растений за последние годы был достигнут существенный прогресс. В частности интенсивно изучаются: рецепторы фитогормонов и системы трансдукции гормональных сигналов. Основной проблемой использования предпосевого облучения семян в сельском хозяйстве является невоспроизводимость эффекта стимуляции в полевых условиях. Так как регистрируемые морфологические эффекты не позволяют сделать однозначный вывод о механизмах радиационного гормезиса, необходимо проведение комплексных исследований, с уделением особого внимания биохимическим изменениям в облучённых растениях. Адаптирована методика оценки концентраций фитогормонов в облучённых проростках ячменя посредством высокоэффективной жидкостной хроматографии. Получены данные о морфометрических особенностях проростков облучённых в низких дозах семян ячменя и их ферментном статусе. Ведётся работа по определению изменения концентраций фитогормонов в динамике прорастания облучённых малыми дозами семян, а так же исследования по выяснению механизмов активации синтеза фитогормонов и особенностей их взаимодействия, обуславливающих эффект стимуляции при воздействии γ -облучения на ранних этапах онтогенеза.

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ДОЗИМЕТРИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Богачева Е.В., Евдокимова М.П., Перов С.Ю.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт медицины труда», Москва, Россия.

В условиях постоянно нарастающего уровня антропогенных электромагнитных полей радиочастотного диапазона (ЭМП РЧ) в окружающей среде изучение их биологического действия является актуальной задачей. В ходе оценки возможных биологических эффектов ЭМП РЧ возникает необходимость понимания механизмов взаимодействия энергии излучения с биологическими тканями и органами, а также с объектом экспозиции в целом. Значительные сложности обусловлены отсутствием корректных методов оценки действия ЭМП в условиях *in vivo* и *in vitro*. Взаимодействие ЭМП РЧ с биологическими объектами приводит к поглощению части энергии излучения, вследствие чего существует потенциальная возможность возникновения различных эффектов облучения. Определение общего количества поглощенной биологическим объектом энергии и

ее пространственное распределение входит в понятие дозиметрии ЭМП РЧ. В оценке биологического эффекта и последующих проявлений важную роль занимает его количественные характеристики, основанные на выявлении зависимостей поглощения энергии излучения единицей объема или массы тканей. Такой характеристикой количества энергии ЭМП РЧ является величина удельной поглощенной мощности (УПМ или SAR), выражаемая в ваттах на килограмм (Вт/кг). Распространенные в настоящее время носимые средства связи характеризуются той особенностью, что в процессе эксплуатации находятся в непосредственной близости от тела человека. Во время работы этих устройств и в зависимости от их расположения происходит облучение головного мозга, щитовидной железы, сердца и других органов пользователя. Специфика подобного взаимодействия зависит от многих параметров, таких как характеристики ЭМП РЧ, условия и время экспозиции, диэлектрические свойства органов и тканей объекта облучения, его геометрические размеры, и т.д. Объективная количественная оценка возможных биологических реакций и интерпретация механизмов действия при этом вызывает значительные затруднения, поскольку существуют особенности взаимодействия ЭМП РЧ с объектами, находящимися в ближней зоне источника излучения. В настоящее время эта проблема реализуется с помощью методов теоретической (численной) и экспериментальной дозиметрии, позволяющих решать различные задачи с учетом специфики биологических объектов и условий воздействия в ближней зоне источника ЭМП РЧ. Подобные подходы стали возможными в результате повышения мощности вычислительных ресурсов, а также развитием соответствующей инструментальной базы средств измерения и контроля. В задачи теоретической дозиметрии ЭМП РЧ входят расчетные (численные) методы для определения величины УПМ в сложных имитационных моделях, как всего биологического объекта, так и его отдельных частей (голова, торс, конечности). Экспериментальная дозиметрия, как самостоятельный инструментальный метод, дополняет и уточняет полученные теоретическим путем результаты.

ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРЫ ЗОЛЬ-ГЕЛЬ МАТРИЦЫ МЕТОДАМИ ОПТИЧЕСКОЙ И СКАНИРУЮЩЕЙ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ

¹Бурмистрова Т.В., ¹Каманина О.А., ²Хлебова Ж.Ю., ²Мачулин А.В.

¹ФГБОУ ВПО Тульский государственный университет, Тула, Россия.

²ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.Скрябина
РАН, Пушино, Россия.

На сегодняшний день существует множество методов и подходов иммобилизации клеток микроорганизмов. Среди них можно выделить метод бимодальной кремнийорганической золь-гель матрицы, который обеспечивает сохранение биологической активности биоматериала и эффективную защиту от механического, теплового и биологического воздействия. Данный метод является экологически чистым. А процесс приготовления матрицы не требует дорогого и энергоемкого оборудования.

В данной работе проведено исследование формирования золь-гель матрицы на основе тетраэтоксисилана (ТЭОС), метилтриэтоксисилана (МТЭС) и полиэтиленгликоля (ПЭГ) в присутствии палочковидных дрожжевых клеток *Cryptococcus curvatus* ВКМ У-3288 методами оптической и сканирующей электронной микроскопии.

Было обнаружено, что при соотношении силановых прекурсоров 85% об. МТЭС и 15% об. ТЭОС происходит рост вокруг каждой клетки плотной капсулы, которая состоит из шариков различного диаметра (менее 1 мкм). С помощью оптической фазово-контрастной микроскопии была исследована динамика процесса формирования капсул. Капсулы полностью формируются в течение 5 часов и достигают толщины ~ 1 мкм.

Работа выполнена в рамках Государственного Задания Минобрнауки РФ и гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук, заявка № МК-330.2014.4.

**ОСОБЕННОСТИ ИНДУКЦИИ Ca^{2+} -ЗАВИСИМОЙ
НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОНИЦАЕМОСТИ ВНУТРЕННЕЙ МЕМБРАНЫ
МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ ЦЕСАРОК *NUMIDA MELEAGRIS L.***

Ведрожицкий А.А., Дубинин М.В., Адакеева С.И., Самарцев В.Н.

ФГБОУ ВПО Марийский государственный университет, Йошкар-Ола, Россия.

Митохондрии животных не только обеспечивают клетку АТФ и теплом, но и участвуют в гибели клеток путем апоптоза и некроза. Одним из связанных с митохондриями звеньев гибели клеток является индукция Ca^{2+} -зависимой неспецифической проницаемости внутренней мембраны (открытие поры). Механизмы и пути регуляции открытия поры изучены главным образом на митохондриях печени и сердца лабораторных крыс, которые характеризуются относительно короткой продолжительностью жизни. В то время как аналогичные механизмы индукции неспецифической проницаемости митохондрий жизненно важных органов птиц, которые характеризуются большей продолжительностью жизни, остаются не изученными.

В работе были использованы птицы – самцы цесарки *Numida Meleagris L.* «дикий» серо-крапчатой популяции, разводимой в племенных хозяйствах в качестве резервного генофонда. В качестве контрольных животных – белые лабораторные крысы-самцы. Митохондрии из печени цесарок и крыс выделяли общепринятым методом дифференциального центрифугирования с последующим освобождением от эндогенных жирных кислот с помощью БСА. Кальциевую емкость митохондрий, т.е. способность митохондрий в присутствии неорганического фосфата и других проникающих анионов захватывать и удерживать в матриксе ионы кальция, определяли с помощью Ca^{2+} -селективного электрода. Индукцию Ca^{2+} -зависимой поры оценивали по набуханию митохондрий в сахарозной среде инкубации путем регистрации изменения оптической плотности суспензии митохондрий при длине волны 540 нм.

Установлено, что в присутствии 1 мМ неорганического фосфата кальциевая емкость митохондрий печени цесарок составляет 1,4 мМ в отсутствии и 2 мМ в присутствии 1 мкМ циклоспорина А (ЦсА). В то время как кальциевая емкость митохондрий печени крыс в отсутствии ЦсА не превышает и 100 мкМ. При указанных концентрациях кальция митохондриипечени цесарок и крыс интенсивно набухают в сахарозной среде инкубации, что свидетельствует об открытии неспецифической поры. В опытах на митохондриях печени крыс установлено, что 20 мкМ гексадекандиоловая кислота в присутствии 200 мкМ Ca^{2+} способна индуцировать неспецифическую проницаемость органелл по нечувствительному к ЦсА механизму. Аналогичные данные получены и на митохондриях печени цесарок. Однако интенсивность набухания митохондрий печени цесарок существенно менее выражена, чем митохондрий печени крыс.

Механизмы, лежащие в основе описанных выше явлений, предполагается изучить в ходе последующих исследований.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ (в рамках государственного задания № 1365) и гранта РФФИ (№ 14-04-00688-а).

**РАЗЛИЧИЕ ЗАВИСИМОСТЕЙ ДОЗА-ЭКСПРЕССИЯ МЕЖДУ ГЕНАМИ
СТРЕСС-ОТВЕТА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ
В МАЛЫХ ДОЗАХ НА НОРМАЛЬНЫЕ ФИБРОБЛАСТЫ ЧЕЛОВЕКА**

¹Вележов И.О., ¹Шадрин Д.М., ¹Пылина Я.И., ¹Пыстина А.В., ¹Шосталь О.А.,
¹Белых Е.С., ¹Канева А.В., ¹Ермакова О.В., ²Клоков Д.Ю.

¹ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия.

²Radiological Protection Research and Instrumentation Branch, Chalk River
Laboratories, Atomic Energy of Canada Limited, Чолк ривер, Онтарио, Канада.

Понимание механизмов таких специфических биологических эффектов ионизирующих излучений в малых дозах как радиационный гормезис, адаптивный ответ и гиперрадиочувствительность является одной из основных задач современной радиобиологии. Несмотря на то что, экспериментальные данные свидетельствуют об участии множества молекулярных систем стресс-ответа в реализации упомянутых эффектов, детали конкретных механизмов остаются невыясненными. Препятствием к их выяснению является стохастический характер проявления перечисленных эффектов даже в схожих экспериментальных условиях.

Мы предположили, что в основе специфических эффектов малых доз и стохастического характера их проявления лежат качественные отличия зависимостей доза-реакция систем и элементов клеточной защиты между собой. В настоящем исследовании с помощью ОТ-ПЦР был проанализирован уровень экспрессии 22 генов, вовлечённых в клеточный стресс-ответ, в нормальных фибробластах человека, облучённых в десяти дозах от 1 сГр до 2 Гр. Для увеличения разрешения метода эксперименты были проведены в 7 независимых биологических повторностях.

С использованием щелочной версии метода ДНК-комет был также проанализирован уровень повреждений ДНК в зависимости от накопленной дозы и времени после облучения. Обнаружена нелинейная зависимость доза-ответ по параметру репарации повреждений ДНК, а также по экспрессии большинства проанализированных генов. Кроме того различные гены характеризовались различными паттернами зависимости доза-экспрессия. Таким образом сложный дискретный характер реакции элементов клеточного стресс-ответа на облучение в малых дозах может быть причиной нелинейности и нерегулярности эффектов, проявляющихся на более высоких уровнях организации.

**ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ
ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА МИТОХОНДРИИ ПЕЧЕНИ КРЫС**

Гаджимамаева А.А., Абдуллаев В.Р.

Кафедра биохимии и биофизики

Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия.

В основе токсического действия многих токсических веществ лежит повреждение клеток, сопровождающееся их функциональными, либо структурно-

функциональными изменениями. Разнообразие формирующихся при этом эффектов со стороны целостного организма обусловлено сложностью организации клеток.

Митохондрии являются основной мишенью для токсического действия солей тяжелых металлов (ТМ), что подтверждается изменением их формы, структуры и размеров при морфобиоптических исследованиях. Это может быть связано с преимущественным распределением тяжелых металлов в митохондриальной фракции клеток. В настоящее время изучение молекулярных механизмов влияния солей тяжелых металлов на мембранные структуры остается актуальной задачей.

Наши исследования показали, что инкубирование митохондрий в среде с хлоридом кадмия существенно снижает суммарную и триптофановую флуоресценцию. При этом повышение концентрации хлорида кадмия в среде инкубации до 1мМ сопровождается не только драматическим падением интенсивности флуоресценции, но и появлением пика на 310 нм, который соответствует флуоресценции аминокислотным остаткам тирозина. Появление данного пика, нехарактерного для нативных митохондрий, указывает на денатурирующий эффект ионов кадмия на митохондриальные белки.

Инкубация митохондрий в системе генерации активных форм кислорода (АФК) снижает интенсивность суммарной и триптофановой флуоресценции примерно в 5 раз относительно контрольных образцов. При этом в спектре суммарной флуоресценции наблюдается длинноволновый сдвиг (333→340нм), который не наблюдается в случае с хлоридом кадмия. В то же время, инкубация митохондрий в системе генерации АФК не сопровождается возгоранием тирозиновой флуоресценции, что указывает на более «мягкий» эффект АФК на митохондриальные белки.

Таким образом, на основании анализа результатов проведенных исследований можно прийти к заключению, что механизм токсического действия ионов кадмия обусловлен в основном повреждением митохондриальных белков, а свободных радикалов, как повреждением липидного матрикса, так и митохондриальных белков.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВОЙ СЕТИ И КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА (TP53, BRCA1) ПРИ ОНКОПАТОЛОГИИ

Галикеева Г.Ф., Васильева Э.М., Гумерова О.В., Горбунова В.Ю.
ФГБОУ ВПО «БГПУ им. М.Акумуллы», Уфа, Россия.

Молекулярные основы диагностики мультифакториальных заболеваний, в том числе и онкологических, получили на сегодняшний день широкое распространение. Наиболее значимыми генами-кандидатами в исследованиях причин развития онкопатологий являются онкогены и антионкогены, контролирующие процессы прохождения клеткой клеточного цикла, а также гены цитокиновой системы, оказывающие влияние на его регуляцию.

Нарушение этих процессов приводит к десинхронизации прохождения клеткой верочных точек, изменению механизмов перехода клетки к апоптозу и злокачественному перерождению.

Проведен анализ взаимодействия различных аллельных состояний генов, регулирующих онкосупрессию и функционирование цитокиновой системы при онкопатологии. Протипированы полиморфные варианты генов: TP53 (rs1042522,

rs1625895, DUP16BP в 3 интроне), BRCA1 (rs80357629, rs1799966), IL-1 β (rs1143634), IL1Ra (VNTR), IL1RI (rs2287047), IL4 (VNTR в 3 интроне), IL6 (rs1800796), IL10 (rs1800872), α -TNF (rs1800629) в выборке лиц с онкопатологией (n=164) и контрольной группе (n=180). Генеалогическим анализом впервые установлено неполное сцепление между генами IL-1 β и IL1RA семейства интерлейкин-1, расположенными на 2 хромосоме, генетическое расстояние между которыми составляет 3,3 сМ. Выявлено что «непротективные» аллели (*E2/*II*С) в генах семейства интерлейкина-1 достоверно чаще встречаются у онкологических больных с «рисковыми» аллелями в гене TP53. С целью оценки иммунореактивности лиц с различным генетическим профилем проведен иммуноферментный анализ содержания цитокинов в сыворотке крови до и после приема иммуномодулятора растительного происхождения. Установлена взаимосвязь полиморфных локусов генов цитокинового профиля с показателями спонтанной продукции цитокинов. Выявлены сочетания генотипов семейства интерлейкин-1, имеющих функциональную и адаптивную значимость. Выявлены межгенные взаимодействия полиморфных локусов в генах IL-1 β (rs1143634), IL1Ra (VNTR), IL1RI (rs2287047), влияющие на функционирование генов семейства интерлейкин-1. Показано, что лица, являющиеся носителями сочетаний генотипов семейства интерлейкин-1 IL-1 β (rs1143634), IL1Ra (VNTR), IL1RI (rs2287047): E1E1//I//TT, E1E1//I//TT, E1E1//I//CC, E1E2//I//TC, более отзывчивы на действие эндогенного иммуномодулятора, чем индивиды с сочетаниями генотипов E1E1//I//TC, E1E1//I//TC. Установлена взаимосвязь полиморфных локусов генов системы онкосупрессии с показателями спонтанной продукции цитокинов. Выявлен дисбаланс сывороточных цитокинов крови про- и противовоспалительного ряда у больных раком молочной железы. Показано, что патофизиологическую роль в возникновении опухоли играет как высокая продукция интерлейкина-6, рецепторного антагониста интерлейкина-1 β и интерлейкина-10, так и низкая продукция интерлейкина-2, что в итоге приводит к дисбалансу цитокиновой регуляторной сети, который, в свою очередь, ингибирует апоптоз и угнетает иммунный ответ. Таким образом, полученные результаты позволяют говорить о ключевой роли аллельного состояния генов системы онкосупрессии и генов цитокиновой сети в формировании риска злокачественной трансформации клетки. Изменения функционирования цитокиновой регуляции в тандеме с носительством рискованных аллелей генов TP53, BRCA1 являются факторами, обуславливающими развитие онкологического заболевания.

ВЛИЯНИЕ ФРАКЦИЙ ЭКСТРАКТОВ ПЛАЦЕНТЫ НА ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТЬ МЕМБРАНОСВЯЗАННЫХ БЕЛКОВ ЭРИТРОЦИТОВ

Говорухина Ю.С., Зинченко А.В., Боброва Е.Н.

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков,
Украина.

Экстракты плаценты содержат в себе широкий спектр биологически активных веществ, благодаря чему широко применяются в биологии и медицине. В последнее время возрастает интерес к исследованию влияния экстрактов плаценты и фракций из нее на различные биологические структуры, в частности, эритроциты. Однако инкубирование эритроцитов с фракциями экстрактов плаценты может вызывать определенные изменения в пространственной организации мембраносвязанных белков, что отражается на их термоденатурации.

Одним из прямых экспериментальных подходов в исследовании термоденатурации белков является дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК), которая позволяет оценить термодинамические и кинетические параметры плавления макромолекул.

Целью данной работы было исследование влияния фракций экстрактов плаценты различных молекулярных масс на термостабильность мембраносвязанных белков на примере теней эритроцитов донорской крови с помощью метода ДСК. Водно-солевые фракции экстрактов плаценты человека получали методом гель-хроматографии. В работе исследовались фракции экстрактов плаценты следующих молекулярных масс: до 5 кДа, 65 кДа и 250 кДа. Тени эритроцитов человека получали по методу Доджа с некоторыми модификациями. Термограммы регистрировали на дифференциальном сканирующем микрокалориметре ДАСМ-4 (Пушино, Россия). Область сканирования – от 20 до 100°C, скорость нагрева – 1 град/мин. Концентрация мембраносвязанных белков эритроцитов контролировалась спектрофотометрически и составляла около 1 мг/мл. На термограмме денатурации суспензии теней эритроцитов в 5 мМоль натрий-фосфатном буфере (рН 7,8) без фракций экстрактов плаценты наблюдается 4 перехода мембраносвязанных белков эритроцитов: первый переход при температуре около 50°C, второй – 64°C, третий – 70°C, четвертый – 81°C. Согласно общепринятой классификации данные переходы соответствуют термоденатурации спектрина, белка полосы 3, гемоглобина и тропомиозина, соответственно.

Добавление к мембраносвязанным белкам эритроцитов фракций экстрактов плаценты различных молекулярных масс не приводит к значительному изменению их температур денатурации. Наиболее существенное влияние на конформационные переходы исследованных белков оказывает фракция 65 кДа. Добавление данной фракции к мембраносвязанным белкам эритроцитов приводит к появлению дополнительного пика денатурации при 57°C, а также повышению интенсивности всех остальных пиков плавления белков, в среднем, на 30%.

ВЛИЯНИЕ ХЛОРИДА И СУЛЬФАТА НИКЕЛЯ НА ЛИМФОЦИТЫ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

Гречухина А.К.

ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М.Эмануэля РАН, Москва,
Россия.

Никель является необходимым микроэлементом в организме человека, участвующим в окислительно-восстановительных процессах и влияющим на кроветворение и углеводный обмен. Также известно, что в количествах, превышающих физиологический уровень, никель является генотоксичным и канцерогенным агентом.

Целью данного исследования являлось определение временных параметров и выраженности цитотоксического действия солей никеля. Были исследованы две водорастворимые соли никеля - сульфат и хлорид. Объектами исследования служили лимфоциты здоровых молодых женщин, выделенные из крови путем центрифугирования в градиенте плотности фикол-верографина (Histopaque, «Sigma»).

Суспензию лимфоцитов инкубировали при 37°C в течение 48 часов с солями никеля в концентрациях от 50 мкмоль/л до 3000 мкмоль/л. Методом ДНК-комет установлено, что после 1-часовой инкубации индуцировались двунитевые

разрывы ДНК, увеличивающиеся с возрастанием концентраций солей никеля от 50 мкмоль/л до 500 мкмоль/л. Доля ДНК в хвосте «ДНК-комет» при воздействии сульфата или хлорида никеля возрастала соответственно в 2,2 и 2,6 раза, по сравнению с контролем. Методом детергентного осаждения выявлена индукция сшивок ДНК-белок. В зависимости от концентрации солей никеля они имели двухфазную зависимость. При концентрациях до 100 мкмоль/л определялось линейное увеличение доли ДНК, сшитой с белком. При более высоких концентрациях солей никеля, количество сшивок ДНК-белок выходило на «плато». 48-часовая инкубация лимфоцитов с солями никеля в концентрациях от 50 мкмоль/л до 500 мкмоль/л вызывала гибель не более 8% клеток. Повышение концентрации солей приводило к их тотальной гибели.

Проведенные исследования позволили установить дозово- и временнозависимый характер цитотоксического действия двух солей никеля, из которых у хлорида повреждающий эффект оказался выраженнее, чем у сульфата. Возможно, данные исследования окажутся полезными для металлотоксикологии и при создании новых металлосодержащих цитостатиков.

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ГЕННОГО ПОЛИМОРФИЗМА - 801G/A SDF1 В РАЗВИТИИ ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ЭНДОМЕТРИЯ

Демидова Н.А.

ФГАОУ ВПО БГНИУ, Белгород, Россия.

Согласно данным последних лет, гиперпластические процессы эндометрия (ГПЭ) относятся к числу наиболее распространенных гинекологических заболеваний у женщин (от 10 до 50%). Анализ данных литературы показывает большую многогранность факторов, принимающих участие в развитии ГПЭ. Ведущее место в механизмах развития данной патологии однозначно отводится относительной или абсолютной гиперэстрогении. Однако помимо гормонов, в патогенезе ГПЭ важную роль могут играть и негормональные факторы, осуществляющие аутокринно-паракринную регуляцию клеточного роста, такие как, хемокины. В связи с этим, целью данной работы явилось изучение роли генетического полиморфизма хемокина -801G/A SDF1 в формировании гиперпластических процессов эндометрия.

В исследовании использовали образцы ДНК, выделенной стандартными методами из цельной венозной крови 252 пациенток с ГПЭ и 248 человек популяционного контроля. Исследование проводили с помощью методов полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием стандартных олигонуклеотидных праймеров с последующим анализом полиморфизмов гена -801G/A SDF1 методом детекции TaqMan зондов с помощью real-time ПЦР. При изучении распределения частот генотипов по локусу -801G/A SDF1 среди больных и в популяционном контроле выявлено, что для них выполняется равновесие Харди-Вайнберга ($p > 0,05$). Установлено, что частоты аллелей и генотипов распределились следующим образом: у пациенток с ГПЭ: -801A – 16,70%; -801G – 83,30%; -801AA – 2,78%; -801GA – 27,78%; -801GG – 69,44%; в популяционном контроле: -801A – 18,50%; -801G – 81,50%; -801AA – 2,40%; -801GA – 32,30%; -801GG – 65,30%. При сравнительном анализе статистически достоверных отличий в концентрации аллелей и генотипов по данному локусу в группе больных и популяционном контроле не выявлено ($p > 0,05$). Проведенный сравнительный анализ позволяет

сделать вывод, что полиморфизм хемокина -801G/A SDF1 не ассоциируется с развитием гиперпластических процессов эндометрия.

ИНДУКЦИЯ Ca²⁺-ЗАВИСИМОЙ ПРОНИЦАЕМОСТИ ЛИПОСОМ α,ω-ГЕКСАДЕКАНДИОЛОВОЙ КИСЛОТОЙ

¹Дубинин М.В., ¹Самарцев В.Н., ^{2,3}Асташев М.Е., ³Белослудцев К.Н.

¹ФГБОУ ВПО Марийский государственный университет, Йошкар-Ола, Россия.

²ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия.

³ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия.

Ранее нами установлено, что α,ω-диоловые кислоты (среди них наиболее эффективно α,ω-гексадекандиоловая кислота (ГДК)) в митохондриях печени, нагруженных Ca²⁺ или Sr²⁺, способны индуцировать неспецифическую проницаемость внутренней мембраны по нечувствительному к циклоспорино А (ЦсА) механизму. Было предположено, что в основе такой проницаемости лежит формирование поры в мембране органелл, имеющей липидную природу. В настоящей работе с целью выяснения молекулярного механизма этого процесса нами исследовано действие ГДК на Ca²⁺-зависимую проницаемость модельных мембран (липосом) для флуоресцентного зонда сульфородамина Б (СрБ). Показано, что ГДК, подобно пальмитиновой кислоте (ПК), способна индуцировать проницаемость липосом для СрБ в присутствии Ca²⁺. Однако кинетика выхода СрБ при индукции Ca²⁺-зависимой проницаемости мембраны липосом ГДК и ПК отлична. Кроме того, установлено, что ГДК уступает ПК в способности индуцировать проницаемость мембраны липосом для СрБ.

Таким образом, можно предположить, что Ca²⁺-зависимая проницаемость липосом, индуцированная ГДК и ПК происходит по двум разным механизмам. Методом динамического светорассеяния выявлено, что добавление Ca²⁺ к липосомам, модифицированным ГДК, индуцирует слияние липосом. Мы полагаем, что процесс слияния липосом может сопровождаться частичным выходом СрБ из везикул вследствие образования пор слияния.

На основе полученных результатов нами предположено, что процесс слияния мембран, сопровождающийся формированием пор слияния, может лежать и в основе описанной ранее ГДК/Ca²⁺-индуцированной неспецифической проницаемости внутренней мембраны митохондрий печени.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ (в рамках государственного задания № 1365) и грантов РФФИ (№ 14-04-00688-а, 12-04-00430-а).

ЗАКОНОМЕРНОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ХИМИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ С ИОНИЗИРУЮЩИМ ИЗЛУЧЕНИЕМ И ГИПЕРТЕРМИЕЙ

Евстратова Е.С., Омельченко А.О.

ФГБУ Медицинский радиологический научный центр Министерства здравоохранения РФ, Обнинск, Россия.

Известно, что ионизирующие излучения в комбинации с некоторыми химическими агентами часто используются в медицинской радиологии для понижения радиорезистентности опухолевых клеток. В данной работе изучено влияние одновременного комбинированного действия химических

радиосенсибилизаторов с ионизирующим излучением и гипертермией на радиочувствительность и восстановление диплоидных дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae*, штамм XS800. Исследовали влияние следующих препаратов, применяемых в клинике: цисплатин, доксорубин и эндоксан. В экспериментах дрожжевые клетки облучали различными дозами γ -квантов ^{60}Co в присутствии и отсутствии исследуемых соединений, а также подвергали воздействию гипертермии. Основным тестом, использованным в данной работе, является выживаемость, т.е. способность облученных клеток к бесконечному размножению, определяемая по их способности образовывать видимые невооруженным глазом макроколонии.

С увеличением концентрации цисплатина уменьшалась способность клеток восстанавливаться от радиационных повреждений. Однако препарат влиял на радиочувствительность клеток во время облучения в меньшей степени, чем доксорубин, при котором радиочувствительность клеток повышалась в 3,7 раза. Полученные данные указывают на то, что ингибирование восстановления происходит не за счет нарушения самого процесса восстановления, а благодаря формированию в условиях комбинированных воздействий необратимых повреждений, от которых клетки не способны восстанавливаться.

Показано, что синергическое взаимодействие гипертермии с химическими агентами регистрируется лишь в определенном диапазоне действующих температур, причем внутри этого диапазона имеется оптимальная температура, приводящая к максимальному синергическому взаимодействию. Повышение концентрации препаратов приводило к смещению максимального синергизма в область более высоких температур. Механизм синергического взаимодействия обусловлен взаимодействием субповреждений, индуцируемых каждым агентом и которые не являются эффективными при их раздельном применении. Повышение действующей температуры приводит к повышению числа термических субповреждений, что обуславливает возрастание коэффициента синергизма. Дальнейшее повышение температуры приводит к снижению синергизма за счет сокращения продолжительности комбинированного воздействия и уменьшению числа субповреждений от химического агента.

**ИЗУЧЕНИЕ МЕМБРАННОГО МЕХАНИЗМА ПРОТИВОВИРУСНОГО
ДЕЙСТВИЯ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТОВ (ПЭ) ПОЛИСТИРОСУЛЬФОНАТА СО
СТЕПЕНЬЮ ПОЛИМЕРИЗАЦИИ 8 И ПОЛИАЛЛИЛАМИНА С
МОЛЕКУЛЯРНОЙ МАССОЙ 6 КДА С ПОМОЩЬЮ
ФОСФОЛИПИДНЫХ МОНОСЛОЕВ**

Ермакова А.А., Контаров Н.С., Юминова Н.В., Зверев В.В.

ФГБУ Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им.

И.И.Мечникова РАМН, Москва, Россия.

Известно, что полиэлектролиты обладают повреждающим действием на вторичную структуру белков и ферментов. Также известно, что некоторые ПЭ обладают выраженным иммуностимулирующим действием в отношении Т- и В-лимфоцитов. Однако, на данный момент практически ничего не известно о влиянии используемых в работе ПЭ на вирусные белки и вирусную оболочку. В связи с чем, подробное изучение механизмов противовирусного действия различных полиэлектролитов позволит создать научно-практическую базу для создания противовирусных химиопрепаратов на полиэлектролитной основе.

В данных исследованиях впервые изучен мембранный механизм противовирусного действия полиэлектролитов полистиролсульфоната (ПСС) со степенью полимеризации 8 и полиаллиламина (ПАА) с молекулярной массой 6 кДа с помощью фосфолипидных монослоев. Впервые для оценки воздействия ПЭ на структурно-функциональные состояния вирусной мембраны были использованы мономолекулярные монослои, являющиеся моделями клеточных мембран.

В ходе проделанной работы было изучено взаимодействие ПЭ с фосфолипидными монослоями, были получены зависимости относительной площади, приходящейся на одну молекулу фосфолипида от концентрации ПЭ. Из полученных зависимостей можно сделать вывод об увеличении степени конденсации монослоя при увеличении концентрации ПЭ. Данный процесс сопровождается увеличением вязкости монослоя, что в свою очередь, может приводить к изменению структурно-функционального состояния монослоев. Проецируя полученные результаты на мембрану вируса гриппа полученные изменения, можно предположить невозможность процесса слияния вируса с клетками, не смотря на наличие рецепторных взаимодействий. Так как проникновение вируса в клетку может произойти только после слияния их мембран.

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

Ершкова В. В.

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

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

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

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

положительно заряженные наночастицы, обладающие 14 нанометровой «коронай». Подобным образом были получены ассоциаты на основе стержневых наночастиц золота.

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ КОМПЛЕКС «МАГНИТОЦИТОМЕТР» ДЛЯ
ИССЛЕДОВАНИЯ ДИНАМИКИ МАГНИТНЫХ СВОЙСТВ КЛЕТОК
РАЗВИВАЮЩЕЙСЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ОПУХОЛИ**

¹Жилфрид А.М., ²Петрова Е.А.

¹Институт тепло- и массообмена им. А.В.Лыкова НАН Беларуси, Минск,
Беларусь.

²Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь.

Характеризация клеточных суспензий является одной из наиболее важных задач в современных биологических и медицинских исследованиях, для ее решения используются различия клеток по физическим и биохимическим параметрам. Наибольшее распространение в настоящее время получил метод проточной цитометрии, позволяющий получить ответ на широкий спектр вопросов. Тем не менее, данный метод не может решить все задачи, и в единичных случаях сталкивается с трудностями.

В последнее десятилетие значительно возрос интерес к методам измерения магнитных свойств клеток. Однако, до сих пор информация о магнитных свойствах клеток остается весьма скудной. В данных тезисах представлено исследование магнитных свойств клеток асцитной карциномы Эрлиха при ее развитии в организме мышей. Для этих целей использовался измерительный комплекс «Магнитоцитометр».

Метод, реализованный в измерительном комплексе, основан на видеорегистрации протяженных траекторий двумерного движения большого числа клеток, движущихся в плоском щелевом канале под действием скрещенных гравитационной и магнитной сил. Специально разработанный комплекс программ позволяет определить параметры траекторий и вычислить по ним ряд характеристик клеток. Относительная удельная магнитная восприимчивость определяется соотношением $k = (\chi - \chi_{fl}) / (\rho - \rho_{fl})$. Здесь χ , χ_{fl} – магнитные восприимчивость клетки и жидкой среды (в которой находится клетка) соответственно, ρ , ρ_{fl} – плотности клетки и среды соответственно. Магнитофоретическая подвижность m , которая устанавливает связь между скоростью движения в магнитном поле v_m с характеристиками поля:

$$v_m = m \nabla(H/2),$$

здесь H – вектор напряженности магнитного поля.

Измерения магнитных свойств клеток асцитной карциномы Эрлиха показало, что относительная магнитная восприимчивость изменяется от $(-1.7 \pm 0.1) \cdot 10^{-7}$ см³/г на 6 день до $(-1.2 \pm 0.1) \cdot 10^{-7}$ см³/г на 17 день роста опухоли; магнитофоретическая подвижность изменяется от $(-6.4 \pm 0.6) \cdot 10^{-14}$ с/г на 6 день до $(-4.8 \pm 0.6) \cdot 10^{-14}$ с/г на 17 день. «Магнитоцитометр» также позволяет регистрировать скорость оседания, которая не изменялась в данной серии экспериментов и составила 3.6 ± 0.2 мкм/с. Таким образом, приведенные здесь результаты говорят о том, что магнитные свойства клеток опухоли по мере ее роста становятся более диамагнитными.

ТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ТИТАНА НА ЛИМФОЦИТЫ ЧЕЛОВЕКА

Жорник Е.В., Баранова Л.А., Волотовский И.Д.

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь.

В настоящее время всё возрастающее внимание во всем мире уделяется развитию технологий направленного получения и использования материалов в диапазоне размеров до 100 нм. Биологическая безопасность наноматериалов является важнейшим фактором, регламентирующим их промышленное производство и внедрение нанопродуктов в здравоохранение.

Наночастицы TiO₂ являются распространенным нанопродуктом, широко используемым в различных областях. В микроразмерном состоянии диоксид титана считается биологически инертным. Однако степень его биологической инертности в наноразмерном состоянии мало изучена. В связи с этим целью работы является изучение взаимодействия наночастиц диоксида титана с клетками лимфоцитов человека и последствий этого взаимодействия с целью оценки биосовместимости наноматериала.

В работе было изучено влияние различных концентраций наночастиц TiO₂ на жизнеспособность лимфоцитов человека, индукцию образования АФК в культуре клеток и структуру ДНК. Методом окраски клеток красителем нейтральным красным показано снижение жизнеспособности лимфоцитов человека под воздействием наночастиц диоксида титана, количество жизнеспособных клеток при этом зависит от времени воздействия и концентрации наночастиц. С помощью флуоресцентных зондов DCFH-DA (дихлорфлуоресцин-диацетат) и DHE (дигидроэтидиум) установлено, что обработка лимфоцитов наночастицами TiO₂ приводит к дозозависимому увеличению интенсивности флуоресценции зондов, что является показателем генерации активных форм кислорода.

Методом фрагментации ДНК показано, что наночастицы TiO₂ в концентрации 50 и 100 мкг/мл способны индуцировать повреждение структуры ДНК, характеризующееся появлением на гель-электрофореграмме ее более мелких фрагментов, что свидетельствует о запуске процессов апоптоза в клетке. Используя флуоресцентные красители аннексин V-FITC и пропидиум йодид, было обнаружено, что наночастицы TiO₂ вызывают гибель клеток путем как апоптоза, так и некроза. Глубина повреждающего действия наночастиц увеличивалась с увеличением времени инкубации с наночастицами.

Оценивая результаты исследований, можно говорить о потенциальном токсическом действии наночастиц диоксида титана. Обнаруженное снижение жизнеспособности лимфоцитов может быть результатом апоптотической гибели клеток, либо результатом развития в клетке окислительного стресса, активации процессов перекисного окисления липидов, и как следствие - некротической гибели, обусловленной нарушением барьерных свойств и целостности плазматической мембраны.

ДЕЙСТВИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ АЛКАЛОИДОВ 15- АЦЕТОКСИАЗОМЕТИН АТИЗИНА И 15-ГИДРОКСИАЗОМЕТИН АТИЗИНА НА СОКРАТИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ПАПИЛЛЯРНОЙ МЫШЦЫ СЕРДЦА КРЫСЫ

¹Зайнабиддинов А.Э., ²Салимов Б.Т., ¹Усманов П.Б.

¹Института биоорганической химии им. акад. А.С. Садыкова АН РУз, Ташкент,
Узбекистан.

²Институт химии растительных веществ им. акад. С.Ю. Юнусова АН РУз,
Ташкент, Узбекистан.

Характеристика новых кардиотропных препаратов, влияющих на функциональную активность кардиомиоцитов является необходимым условием для усовершенствования лечения и профилактики сердечно-сосудистых заболеваний. Важная роль при этом отводится изучению механизмов фармакологической регуляции сократительной активности сердечной мышцы. Дитерпеноидные алкалоиды 15-ацетоксиазометин атизин (15-ААА) и 15-гидроксиазометин атизин (15-ГАА), выделенные из растений рода *Aconitum zeravshanicum*, обладают антиаритмической активностью, которая более выражена у 15-ААА, имеющего СН₃O-группу вместо ОН- группы у углеродного атома С-15 в атизиновом скелете. Целью данной работы явилось изучение особенностей инотропного действия алкалоидов 15-ГАА и 15-ААА, и его роли в реализации ими антиаритмических эффектов. Эксперименты проводились на препаратах папиллярной мышцы правого желудочка сердца крысы. Препарат мышцы закрепляли в экспериментальной камере перфузируемой раствором Кребса содержащим (мМ): NaCl-118; KCl-4,7; CaCl₂-2,5; MgSO₄-1,2; KH₂PO₄-1,1; глюкоза-5,5; NaHCO₃-25, рН-7,4. Второй конец препарата подсоединяли к датчику натяжения F30 (Hugo Sachs; Германия). Мышцу раздражали с помощью платиновых электродов и стимулятора ЭСЛ-2 импульсами прямоугольной формы частотой 0,1-5 Гц, длительностью 10 мс и амплитудой, превышающей пороговую на 20%. Сигнал с датчика натяжения подавался на усилитель (ТАМ-А) и регистрировался с помощью самописца ТЗ 4620.

Результаты наших экспериментов показали, что 15-ААА и 15-ГАА обладают выраженной инотропной активностью. При этом 15-ГАА при всех использованных концентрациях и частотах стимуляции вызывал более выраженный отрицательный инотропный эффект (ОИЭ) с ED₅₀ – 8,7 мкМ. 15-ААА при низких концентрациях (3-8 мкМ) и низких частотах стимуляции (0,1-1 Гц) вызывал преходящий положительный инотропный эффект (ПИЭ), а при высоких концентрациях и частотах стимуляции вызывал ОИЭ с ED₅₀ – 16,7 мкМ. Полученные данные в экспериментах дают основание предположить, что вызываемый алкалоидами 15-ацетоксиазометин атизина и 15-гидроксиазометин атизина ОИЭ на сократительную активность папиллярной мышцы при высоких концентрациях обусловлен уменьшением поступления ионов Ca²⁺ в цитоплазму в результате подавления Ca²⁺-каналов СР. Данное предположение был проверен с помощью пост-рест потенциации, широко применяемым для изучения динамики Ca²⁺ в СР. Если в экспериментах 15-ацетоксиазометин атизин при частоты возбуждения 0,5 Гц и при концентрации 30 мкМ снижает пост-рест потенциации папиллярной мышцы на 26,3±3,4%, по сравнению с контролем, то 15-гидроксиазометин атизин при концентрации 30 мкМ снижает пост-рест потенциации на 44,1±3,9%, по сравнению с контролем.

Результаты этих исследований свидетельствуют о том, что ОИЭ 15-ацетоксиазометин атизина и 15-гидроксиазометин атизина на пост-рест потенциации папиллярной мышцы может происходить за счет ингибирования функции Ca²⁺-каналов СР кардиомиоцитов и в результате уменьшения уровня внутриклеточного Ca²⁺.

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС – НОВЫЙ ПОДХОД В ОЦЕНКЕ РИСКОВ РАЗВИТИЯ ПАТАЛОГИЙ

Золотарев П.В., Александрова А.А., Довжик А.Д., Коваленко К.А., Куцын К.А.,
Ковалева А.В., Шкурят Т.П.
ФГАОУ ВПО ЮФУ, Ростов-на-Дону, Россия.

Окислительный статус, понимаемый как система взаимоотношений между про- и антиоксидантными компонентами клетки, является «точкой» пересечения ключевых метаболических систем клетки. Сегодня установлено, что дисфункции (разнонаправленные) системы окислительного статуса ассоциированы с такими социально значимыми патологиями, как рак, диабет, сердечно-сосудистые патологии, нейродегенеративные состояния, осложненные варианты течения беременности. Изучение интерактивных паттернов, в том числе некоторых составляющих окислительного статуса, привело к созданию целого ряда международных баз данных: Reactome, BioSystems, GenAtlas, Gene ontology, HomoloGene, GeneGo, Pathway interaction database. Однако по разным причинам (низкая эффективность аналитических подходов, противоречивость литературных данных, прекращение курирования) ни одна из ныне существующих интерактивных баз данных не может быть использована для эффективной разработки новых диагностических и терапевтических подходов.

Целью выполняемого исследовательского проекта является создание интерактивной схемы взаимодействий между компонентами окислительного статуса клеток человека для последующей разработки новых диагностических, терапевтических и биокбернетических (биоинженерных, фармакологических) технологий. В результате первого этапа реализации проекта в среде Cell Designer была создана база (с визуальным интерфейсом) взаимодействий между более, чем 200 генами, белками, РНК и низкомолекулярными соединениями.

Анализ различных взаимоотношений между изучаемыми факторами позволил выявить около 20 контуров положительных (высокодеструктивных благодаря участию продукторов активных форм кислорода и азота) и отрицательных обратных связей; начать разработку новых неинвазивных диагностических методов, основанных на количественном анализе компонентов интерактома в периферической крови (грант № 8694р/13153); наметить новые направления в изучении роли в функционировании клетки отдельных транскрипт-вариантов генов контроля окислительного статуса; продвинуться в понимании патологических процессов, ассоциированных со смещениями окислительного статуса.

ВЛИЯНИЕ СОЧЕТАННОГО ДЕЙСТВИЯ ИОНИЗИРУЮЩИХ И НЕИОНИЗИРУЮЩИХ ФАКТОРОВ ОБРАЗОВАНИЕ ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА В РАСТВОРАХ БИОЛОГИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ АНИОНОВ

Иванов В.Е., Галочкина Е.А., Брусков В.И.
ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г.
Пушино, Россия.

В данном исследовании изучалось совместное действие рентгеновского излучения и таких не ионизирующих факторов как тепло, свет, лазерное излучение (632,8 и 1264 нм). Поскольку одновременное воздействие на образцы воды и рентгеновского излучения и всех вышеперечисленных физических факторов не представляется возможным, исследования проводили поэтапно. Поэтапность

заключалась в том, что первым этапом воздействовали на воду ионизирующей радиацией, а вторым через малый временной промежуток воздействовали не ионизирующим фактором. Или наоборот сначала не ионизирующий фактор, потом ионизирующее излучение. В не зависимости от очередности воздействий, сочетание ионизирующего излучения и видимого света приводят к сверх продукции перекиси водорода в воде. Сочетание ионизирующего излучения и инфракрасного излучения (1264 нм) приводят к либо к сверх продукции, либо к простой аддитивной продукции перекиси водорода в воде. Интересным является факт, что при изменении схемы воздействия на воду может существенно изменяться эффект. Так, при воздействии сначала не ионизирующими факторами, а потом ионизирующими, всегда наблюдается аддитивный или сверхаддитивный эффект. При проведении экспериментов «наоборот» может наблюдаться даже инфрааддитивный эффект (гелий неоновый лазер и тепловое воздействие). То есть после ионизации воды, данные физические факторы в значительной мере теряют свою способность к генерации перекиси водорода. Может быть после ионизации в воде уменьшается количество молекул имеющих низкий окислительно-восстановительный потенциал? Очень мало вероятно (хотя и может служить объяснением), ведь поглощение водой 10 сГр не приводит к явно заметным изменениям ее основных характеристик, кроме того после воздействия рентгеновского излучения световое воздействие проходит в 1,4 раза эффективнее. Ситуация получается довольно запутанная. А может быть все наоборот? Может быть инфрааддитивные эффекты связаны с расщеплением перекиси водорода образовавшейся после воздействия рентгеновского излучения. Для проверки этого предположения была взята вода с концентрацией перекиси водорода 100 нМ. После воздействия на данный водный раствор перекиси водорода гелий неоновым лазером или теплом наблюдалось значительно уменьшение перекиси водорода в исследуемых образцах. Таким образом, имеет важное значение порядок воздействий. Все исследуемые воздействия приводят как минимум к аддитивному эффекту при очередности неионизирующее воздействие – ионизирующее воздействие. Изменение анионного состава влияет в большей степени на генерацию перекиси водорода под действием неионизирующих факторов примерно с теми же счетными коэффициентами, что были получены ранее при воздействии неионизирующих факторов по отдельности.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований (№ 15-04-00730-а).

ОБРАЗОВАНИЕ ДОЛГОЖИВУЩИХ АКТИВНЫХ ФОРМ БЕЛКОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ТЕПЛА

Иванов В.Е., Карп О.Э., Брусков В.И., Гудков С.В.

ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
Пушино, Россия.

Активные формы кислорода (АФК) в организме возникают как при нормальном клеточном метаболизме, так и при воздействии разных физико-химических факторов. При достижении АФК уровня, превышающего возможности их нейтрализации антиоксидантной системой клетки, они вызывают окислительный стресс и оказывают повреждающее действие на биомолекулы. Значительная часть повреждений в клетке, индуцированных ионизирующей радиацией, образуются за счет короткоживущих АФК, обусловленных радиоллизом воды. После воды

основной мишенью воздействия АФК являются белки из-за их высокого относительного содержания и чувствительности к окислению.

Известно, что под действием рентгеновского излучения образуются долгоживущие активные формы белков (ДАФБ). Установлено, что ДАФБ являются источником вторичных свободных радикалов, вызывающих дальнейшее окисление белков и других биомолекул, включая ДНК.

Ранее было установлено, что тепло вызывает образование АФК в водных растворах и что в растворах бычьего сывороточного альбумина (БСА), гамма-глобулина (ГГ) при умеренной гипертермии образуются ДАФБ, которые генерируют АФК. В данной работе впервые исследована зависимость образования H_2O_2 от времени после воздействия тепла ($45^\circ C$, 2 ч) в растворах БСА, ГГ. Образование H_2O_2 , индуцированное ДАФБ в растворах БСА и ГГ под влиянием тепла, измеряли методом усиленной хемилюминесценции в системе люминол – пара-йодофенол – пероксидаза.

При концентрациях ГГ – 2 мкМ и БСА – 10 мкМ наблюдался максимальный эффект. Данные концентрации были использованы в дальнейшем для измерения содержания H_2O_2 в течение 6 ч после теплового воздействия. В контрольном растворе без белка концентрация H_2O_2 составляла около 4-5 нМ и уменьшалась к 6 ч до 1 нМ. В растворе БСА наблюдалось плавное увеличение концентрации H_2O_2 в течение 4 ч, а затем быстрое ее уменьшение к 6 ч. В случае ГГ происходил рост ее концентрации до 1 ч с последующим уменьшением к 6 ч. Можно полагать, что в течение времени полужизни ДАФБ (около 4 ч) происходит интенсивная генерация H_2O_2 , приводящая к росту ее концентрации для БСА в течение 4 ч и 1 ч в случае ГГ с последующим распадом.

Кинетика продукции H_2O_2 при тепловом образовании ДАФБ для БСА существенно иная, чем при рентгеновском облучении. В случае ДАФБ, индуцированных рентгеновским облучением, через 30 мин после облучения происходит близкое к экспоненциальному уменьшение концентрации H_2O_2 . Это различие может быть обусловлено разным соотношением отдельных видов АФК, генерируемых при радиолитическом разложении воды и при тепловом воздействии.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 14-04-00730-а.

ОСОБЕННОСТИ РОСТА КЛЕВЕРА ПОСЛЕ ПРЕДПОСЕВНОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА РАДИОАКТИВНО ЗАГРЯЗНЕННОЙ ПОЧВЕ И В КОНТРОЛЕ

^{1,2}Козликов Е.А., ²Горшкова Т.А.

¹ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной радиологии и агроэкологии РАСХН, Россия.

²Обнинский институт атомной энергетики - филиал ФГАОУ ВПО «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Обнинск, Россия.

Как известно, определить влияние радиации на растения можно различными методами биоиндикации и биотестирования, в т. ч. по морфофизиологическим параметрам растительного организма на ранних этапах онтогенеза. Было проведено исследование, направленное на обнаружение закономерностей реакций проростков *Trifolium repens* L., претерпевших предпосевное облучение, выращенных методом рулонной культуры и на универсальном грунте. В результате эксперимента определен диапазон доз, стимулирующих ростовые процессы у проростков, а также дозы, при которых происходит ингибирование роста клевера.

Исходя из сравнения высоты ростков, длины корней, количества листьев и выявленной всхожести показано, что стимулирующая доза для развития растений находится в диапазоне 10–100 Гр, а облучение семян клевера в дозе 1000 Гр вызывает явное замедление роста проростков. Кроме того, установлено, как развивались растения клевера, семена которых подверглись облучению в выявленных стимулирующих и ингибирующих дозах, на радиоактивно загрязненной почве и на контрольном почвенном субстрате. Исследование роста клевера в условиях дополнительной радиоактивной нагрузки показало, что на загрязнённой радионуклидами почве ростовые процессы идут медленнее. Необходимо отметить, что была обнаружена схожая динамика роста клевера без предпосевного облучения и после облучения, а также выявлены характерные морфологические изменения проростков клевера ползучего, определены количество сложных листьев и развитых листочков сложного листа, балл их состояния, время заложения каждого нового листа, всхожесть семян и общая длина корней проростков.

Таким образом, облучение семян *Trifolium repens* L. перед посевом в малых дозах вызывает эффект радиационной стимуляции их ростовых процессов, т. е. радиационный гормезис. Но перед высеванием семян на сельскохозяйственные угодья в зонах, подвергшихся радиоактивному загрязнению, необходимо оценивать уровень активности изотопов в почве.

**ОЦЕНКА ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК В КЛЕТКАХ АПОРРЕКТОДЕА
CALIGINOSA, ДЛИТЕЛЬНОЕ ВРЕМЯ ОБИТАЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ С
ПОВЫШЕННЫМ СОДЕРЖАНИЕМ РАДИОНУКЛИДОВ В ПОЧВЕ**

Канева А.В., Белых Е.С., Майстренко Т.А., Шадрин Д.М., Пылина Я.И.,
Велегжанинов И.О.

ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия.

Проблеме изучения влияния на биологические объекты малых доз как ионизирующих излучений, так и химических токсических агентов посвящено большое число научных исследований. В то же время механизмы формирования таких специфических эффектов низкодозового воздействия, как гормезис, адаптивный ответ или гиперчувствительность на всех уровнях структурно-функциональной организации окончательно не выяснены. Ещё меньше экспериментальных данных о реакции биоты на хроническое действие генотоксических факторов и молекулярно-клеточных механизмах, определяющих устойчивое существование природных популяций растений и животных в условиях сильнейшего антропогенного давления на окружающую среду.

Целью нашего исследования являлась оценка уровня генотоксических эффектов у дождевых червей *Aporrectodea caliginosa* из популяций, в течение многих поколений населяющих территории с техногенно повышенным содержанием в почвах тяжёлых естественных радионуклидов и тяжёлых металлов. Установлено, что детектируемая с помощью щелочной и нейтральной версии метода ДНК-комет степень повреждения ДНК беспозвоночных, длительно время обитающих на загрязнённых территориях, не отличается от спонтанного уровня таких нарушений у животных из контрольной популяции. В то же время скорость репарации повреждений ДНК, индуцированных в клетках особей с загрязнённой территории дополнительным острым облучением, была значительно выше, чем для червей с контрольных участков. Активность эффекторной протеазы апоптоза каспазы-3 у червей с контрольного и содержащего в почве повышенные

концентрации радионуклидов и тяжёлых металлов участков достоверно не отличались. При этом дополнительное провокационное облучение привело к увеличению данного показателя в 2.7–2.8 раза у червей из обеих природных популяций. Таким образом, нами выявлено увеличение эффективности функционирования систем репарации ДНК у особей дождевых червей из популяций, обитающих в течение множества поколений на загрязнённой радионуклидами и тяжёлыми металлами территории.

Выполнение работы поддержано грантом РБУ_а № 14-04-90351 РФФИ.

ПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА ПРИ ПОСТУПЛЕНИИ ЕЕ В ОРГАНИЗМ ЖИВОТНЫХ ДО ВОЗДЕЙСТВИЯ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ

Карп О.Э., Гудков С.В., Шелковская О.В., Галочкина Е.А., Брусков В.И.
ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино,
Россия.

Защита генома клеток млекопитающих от повреждений, вызванных окислительным стрессом, является актуальной задачей. Установлено радиопротекторное действие водного раствора перекиси водорода (0,1 мкМ) при свободном потреблении его мышами в качестве питья в течение 1 суток перед тотальным воздействием рентгеновского излучения в летальной дозе 7 Гр. Установлено, что в приведенных выше условиях к 30 суткам наблюдается около 40% выживших особей, в то время как все не получавшие перекись водорода мыши умирали к 12 суткам. Вероятно данный эффект связан с феноменом предварительной подготовки, то есть, происходит незначительное повреждение биологически важных структур с последующей активацией восстановительных процессов в организме мышей под действием этого соединения. Кроме того, интересным является тот факт, что при потреблении водного раствора перекиси водорода (0,1 мкМ) в качестве питья в течение суток после тотального облучения в дозе 7 Гр так же наблюдается не большой защитный эффект (20% особей к 30 суткам).

АВТОКОЛЕБАТЕЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ БИОЛОГИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ АНИОНОВ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ (632,8 НМ).

Карп О.Э., Усачева А.М., Куликов Д.А., Галочкина Е.А., Черников А.В., Иванов В.Е., Асташев М.Е., Брусков В.И., Гудков С.В.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пушкино,
Россия.

Исследовано влияние биологически значимых анионов в концентрации 1 мМ на автоколебательный процесс люминесценции воды, индуцированный лазерным излучением с длиной волны 632,8 (0,7 мВт/мм², 5 мин). Для облученной лазером в течение 5 мин воды характерен более короткий инкубационный период возникновения люминесценции, составляющий 30–60 мин после облучения. Фаза возникновения и нарастания свечения длится 20–40 мин, с последующим переходом процесса в колебательное состояние (интенсивность около 45-50 имп/с). Добавление биологически значимых анионов (солей натрия) может влиять на длительность инкубационного периода, фазы возникновения/нарастания

свечения и интенсивность люминесценции. Установлено, что такие органические анионы, как сукцинат-, ацетат-, цитрат- и нитрит приводят к существенному увеличению длительности выше обозначенных периодов и уменьшению интенсивности люминесценции примерно на 25-40%. Хлорид анион в концентрации 1 мМ фактически не влияет на исследуемые процессы. Одно и двузамещенные фосфат-анионы, нитрат-анион приводит к небольшому сокращению всех периодов и незначительному увеличению интенсивности люминесценции. Бикарбонат-анион более выражено сокращает исследуемые периоды и увеличивает интенсивность сигнала на примерно на 30%. С помощью вейвлет-анализа показано, что в записях интенсивности люминесценции во времени наблюдаются автоколебания. Все анионы, кроме бикарбонат-, оно, двузамещенные фосфат-анионы и нитрат-анион, не значительно влияют на изменения периода люминесценции. При наличии в системе бикарбонат-, одно-, двузамещенных фосфат-анионов и нитрат-анионов наблюдаются смещения периодов люминесценции и даже появление новых гармоник. Полученные сигналы нуждаются в дополнительном исследовании с помощью метода межчастотной фазовой вейвлет-когерентности для выяснения источника (или источников) этих колебаний.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований (№ 13-04-00730-а).

ОБРАЗОВАНИЕ АФК ПРИ СОВМЕСТНОМ ДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ, ТЕПЛА, СВЕТА И ИОНОВ УРАНИЛА

Карп О.Э., Брусков В.И.

ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино,
Россия.

Известно, что обедненный уран на 60% менее радиоактивен, чем природный. Однако, до сих пор считается, что основной причиной повреждающего действия является остаточная радиоактивность урана. Установлено, что образование *in vitro* активных форм кислорода (АФК) – перекиси водорода и гидроксильных радикалов в водных растворах, содержащих ионы уранила, происходит более интенсивно при повышении температуры и воздействии на растворы электромагнитных волн видимой части спектра, а также ионизирующей радиации, что говорит о химической природе наблюдаемых явлений, так как тепло и свет не влияют на скорость радиационного распада. Концентрацию перекиси водорода измеряли с помощью метода усиленной хемилюминесценции в системе люминол-параидфенол-пероксидаза с использованием жидкостного сцинтилляционного счетчика «Бета-1» (Украина) в режиме счета одиночных фотонов.

Показано, что процесс образования перекиси водорода под действием ионов уранила и тепла (40°C, 200 минут) зависит от концентрации ионов уранила (5-50 мкМ) в растворе. При концентрации ионов уранила 5 мкМ образовалось 11,7 нМ перекиси водорода, при 20 мкМ - 22,3 нМ. Для экспериментов по изучению совместного действия ионов уранила и видимого света (лампа накаливания 100 Вт, 2 ч) получены следующие результаты: при концентрации ионов уранила 5 мкМ образовалось 14,1 нМ перекиси водорода, при концентрации 10 мкМ - 20,9 нМ, 20 мкМ уранила - 21 нМ. При совместном действии ионов уранила и радиации (рентгеновское излучение в дозе 1Гр) при концентрации ионов уранила 10 мкМ наблюдалось образование ~ 117,5 нМ перекиси водорода, 0,01 мкМ ~ 440 нМ перекиси водорода. Измерение концентрации гидроксильных радикалов

производили с помощью флуоресцентного зонда - кумарин-3-карбоновой кислоты. С ростом концентрации уранилнитрата (5-500 мкМ) показано увеличение образования гидроксильных радикалов при действии тепла и видимого света. Под действием ионов уранила в концентрации 10 мкМ при средней комнатной температуре (~ 25°C) образуется около 20 нМ гидроксильных радикалов, но при совместном действии ионов уранила и тепла (80°C, 200 мин) происходит значительное увеличение образования гидроксильных радикалов достигая 120 нМ. При схеме воздействия, когда на растворы уранилнитрата действовали светом (лампа накаливания 100 Вт, 2 ч) при концентрации ионов уранила 500 мкМ наблюдалось максимальное образование гидроксильных радикалов - 160 нМ. Аналогичным образом АФК могут образовываться под действием ионов уранила и внутри организма. Сверхпродукция перекиси водорода и гидроксильных радикалов, которые не могут быть нейтрализованы антиоксидантной системой клетки, могут приводить к окислительному стрессу *in vivo*. Работа поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований 14-44-03562-р_центр_a.

ГЕНЫ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ

Калинин Р.Е., Сучков И.А., Пшенников А.С.
ГБОУ ВПО РязГМУ МЗСР России, Рязань, Россия.

Цель исследования: выявить частоту мутаций по ряду генов у пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей. Материалы и методы: в рамках гранта Президента РФ № МД-2536.2011.7. проведено обследование 42 пациентов с ОААНК по определению генотипа по: термолабильному варианту A222F(677C->T) MTHFR, NOS 3. Генотип больных изучали методом полимеразной цепной реакции с аллель-специфичными праймерами «SNP-экспресс». Пациенты были разделены на 2 группы. Первую группу составили пациенты, которые получали консервативную терапию (23 пациента). Вторую группу составили пациенты, которым проводились реконструктивные операции (19 пациентов), и 6 здоровых добровольцев, которые составили контрольную группу.

Результаты. В нашем исследовании 65% пациентов первой группы, 58% пациентов второй группы были NTZ по eNOS. В контрольной группе NTZ не было. Количество мутаций по исследуемому гену во всех группах было сопоставимо: 26% в первой группе, 31% во второй и 33,4% в контрольной группах. Выявлено, что концентрация метаболитов NO, по сравнению с NTZ, у гетерозигот и MTZ была меньше на 20-25% в независимости от группы исследования. Базальная секреция NO у этих пациентов была подавлена, что подтверждалось низкой концентрацией метаболитов оксида азота 3,45 мкМ - 4,01 мкМ. Как показал анализ, количество пациентов NTZ по MTHFR больных выше, чем в контрольной группе. Гетерозиготность по данному признаку является фактором риска развития гипергомоцистеинемии, а следовательно неблагоприятного течения заболевания. Мутации по изучаемому гену встречались в контрольной группе – 16,6%, группе № II -11%, группе № I – 13%. Нами не выявлено, корреляционной связи между генетическим статусом по MTHFR и отдаленными результатами течения атеросклероза в различных группах исследования, однако у некоторых пациентов NTZ и MTZ по метилентетрагидрофолатредуктазе наблюдалась снижение эффекта эндотелиотропной терапии и склонность к прогрессированию атеросклероза,

рестенозу зоны реконструкции оперированных больных. Выводы: 1. Наличие мутаций по eNOS существенно снижает эффективность эндотелиотропной терапии. 2. Полиморфизм по MTHFR может привести к развитию гипергомоцистеинемии, а следовательно, неблагоприятному течению атеросклероза.

**МЕХАНИЗМЫ ТРАНСДУКЦИИ
АДРЕНЕРГИЧЕСКИХ И ПУРИНЕРГИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ
В МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА**

Котова П.Д.

ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия.

Мезенхимные стромальные клетки (МСК) представляют собой недифференцированные мультипотентные клетки, способные к поддержанию своей популяции за счет пролиферации, и к дифференцировке как минимум в костную, хрящевую и жировую ткани. Большинство работ по исследованию МСК посвящены анализу их трансплантационного потенциала, исследованию механизмов, инициирующих и направляющих их дифференцировку, а также возможности управлять этими процессами. Фундаментальным же исследованиям сигнальных процессов в этих клетках уделяется гораздо меньшее внимание. На протяжении нескольких последних лет наша лаборатория занимается изучением внутриклеточной сигнализации МСК.

Наши исследования проводились на МСК человека, выделенных из жировой ткани взрослых доноров, полученной при плановых операциях. Первичную культуру МСК 1-2 пассажей нам предоставлял ФФМ МГУ, эксперименты проводились на клетках 2 – 4 пассажей. Сигнальные системы МСК исследовались с использованием Ca^{2+} зонда Fluo-4 и микрофотометрии, метода фотолиза химических групп, позволяющего скачкообразно повышать концентрацию Ca^{2+} внутри клетки, ингибиторного анализа, а также цитологических и молекулярно-биологических методов.

Результаты нескольких лет наших исследований позволяют заключить, что механизмы трансдукции МСК пуринергических и адренергических сигналов в крайней степени схожи, различаются лишь в рецепторной части, и представляют собой следующее: активированный агонистом рецептор посредством G-белка активирует фосфолипазу C, которая гидролизует PIP_2 до IP_3 и DAG, в свою очередь, IP_3 стимулирует IP_3 -рецепторы внутриклеточных Ca^{2+} депо, что приводит к первоначальному выбросу депонированного Ca^{2+} , скорее всего, зависящему от концентрации агониста, при достижении порога этот первоначальный Ca^{2+} сигнал стимулирует масштабный выброс Ca^{2+} из внутриклеточных депо, что продуцирует вторичный Ca^{2+} ответ, независимый от концентрации агониста.

Феномен идентичности механизмов трансдукции адренергических и пуринергических сигналов говорит о возможности существования в МСК универсального механизма трансдукции различных сигналов, вызванных агонистами G-белок связанных рецепторов, и ставит новые вопросы о физиологической роли этих сигналов и способе их разделения.

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

Красулина А. Н., В. Ф. Кузин

Институт химической кинетики и горения им. В. В. Воеводского СО РАН,
Новосибирск, Россия.

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

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

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

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

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

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

Кузнецов Д. А., Лукин О. Н.

Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия.

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

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

не у крыс; б) преднагрузка оказывает влияние на форму спада CaT у крыс (магнитуда и продолжительность “bump” возрастают при градуальном растяжении мышцы), но не у морских свинок; в) повышение температуры ускоряет, а ингибирование SERCA2a – замедляет спад CaT у крыс и морских свинок.

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

НЕЙРОХИМИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЛИЦ, ЭКСПОНИРОВАННЫХ РТУТЬЮ

Кудаева И.В., Маснавиева Л.Б., Попкова О.В.

Ангарский филиал ФГБУ ВСНЦ ЭЧ СО РАМН, Ангарск, Россия.

Разработка подходов к терапии нарушений нервно-психической сферы, развивающихся при воздействии химических веществ, обладающих нейротропным действием, базируется, в том числе на результатах исследования аналитов, участвующих в патогенезе заболеваний. Дважды с интервалом в 4 года были обследованы работающие химических предприятий, экспонированные в процессе производства парами ртути и имеющие диагноз хронической ртутной интоксикации в начальном и отдаленном периоде (18 и 36 человек соответственно), главным клиническим проявлением которой являлась токсическая энцефалопатия. В образцах крови исследовали содержание нейромедиаторов и нейротрофических факторов.

Для сравнения количественных признаков в двух связанных выборках был применен Wilcoxon Matched Pairs Test. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Результаты представлены в виде медианы (верхнего (Q25) и нижнего (Q75) квартилей).

Результаты обследования свидетельствуют, что в группе лиц в отдаленном периоде хронической интоксикации наибольшее изменение в динамике обследования отмечалось в отношении содержания дофамина – увеличению на 284% (-5; 636). Концентрация продукта превращения данного нейротрансмиттера – норадреналина также подвергалась статистически значимому увеличению – на 124% (-15; 683), при этом уровень адреналина снижался в среднем на 42% (-77; 76). Следует отметить, что концентрация метаболита адреналина – метанефрина увеличивалась на 124% (-15; 699) без достижения уровня статистической значимости. У лиц в начальном периоде хронической ртутной интоксикации увеличение зарегистрировано для цилиарного нейротрофического фактора – в 1,6 раза (0,5; 6,2). А из нейромедиаторов претерпевало изменение только содержания норадреналина: в 3,2 раза (0,7; 8,3). Отмеченные нами изменения нейромедиаторов и нейротрофических факторов в крови лиц с хронической ртутной интоксикацией свидетельствуют об их вовлеченности в патологический

процесс и необходимости разработки терапевтических подходов, включающих применение нейротрофических факторов.

**ГЕНОМНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ИДЕНТИФИКАЦИИ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ПРИЧИН УМСТВЕННОЙ ОТСТАЛОСТИ: РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОЕКТА 7 РАМОЧНОЙ ПРОГРАММЫ ЕВРОСОЮЗА
CHERISH**

Лебедев И.Н., Кашеварова А.А., Скрябин Н.А., Чечеткина Н.Н., Салюкова О.А., Назаренко Л.П.

ФГБУ НИИ медицинской генетики СО РАМН, Томск, Россия.

Умственная отсталость представляет серьезную медико-социальную проблему, регистрируясь в среднем у 1-3% детей в популяции. Это группа чрезвычайно гетерогенных состояний, проявляющихся в возрасте до 18 лет и характеризующихся снижением интеллекта (IQ ниже 70), нарушениями адаптивного и социального поведения, обусловленными недостаточным развитием познавательных способностей. Современные геномные технологии (array-CGH и полноэкзомное секвенирование) позволяют преодолеть существующие проблемы в идентификации наследственных причин интеллектуальных нарушений. Апробация данных технологий была осуществлена в завершившемся в 2012 году проекте 7 Рамочной программы Евросоюза «Улучшение диагностики умственной отсталости у детей в Центральной Восточной Европе и Центральной Азии через генетическую характеристику, биоинформатику и статистику» (CHERISH, № 223692, www.cherishproject.eu). В рамках проекта консорциумом из 10 научно-исследовательских организаций России, Италии, Кипра, Чехии, Польши, Эстонии, Литвы, Украины и Армении было обследовано около 1500 детей с умственной отсталостью. Российская часть проекта осуществлялась в НИИ медицинской генетики СО РАМН, где было обследовано 206 пациентов. В ходе исследований с помощью матричной сравнительной геномной гибридизации (array-CGH) изучен спектр хромосомного дисбаланса и геномных вариаций (CNV) у 71 ребенка с умственной отсталостью. У 11% пациентов были выявлены уже описанные ранее в литературе редкие микроделеционные/микродупликационные синдромы, диагностика которых без применения указанной технологии не представляется возможной. У 24% пациентов обнаружены нейтральные формы CNV, тогда как у 20% детей идентифицированы новые хромосомные мутации, представленные микроделетциями или микродупликациями отдельных хромосомных сегментов. В пределах данных сегментов обозначены кандидатные дозо-зависимые гены (в частности, CNTN6 (3p26,3), SLC1A2 и TRIM44 (11p13), TBX6 (16p11.2) и ряд других), имеющие отношение к развитию и функционированию центральной нервной системы. Таким образом, интеграция новых геномных технологий в исследовательскую практику открывает новые перспективы для эффективной диагностики и профилактики нарушений интеллектуального развития ребенка.

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

Лукьянчикова Н.В.

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

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

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

Целью данной работы было исследование свойств нуклеозида, модифицированного по азотистому основанию объемной фторазидобензоильной группировкой (5Fab-dC), как повреждения, опознаваемого системой NER и компонента ДНК-зондов для фотоаффинной модификации белков-участников NER. Было показано, что 5Fab-dC-ДНК является эффективным субстратом системы NER в реакции эксцизии, катализируемой белками NER-компетентных экстрактов клеток млекопитающих.

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

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

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ERCC1, TOP1, TOP2A И MDR1 У ПАЦИЕНТОВ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО

Матусевич В.А., Готько О.В.

РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова, Минск, Беларусь.

Цель исследования – оценить внутриопухолевую экспрессию генов ERCC1, TOP1, TOP2A и MDR1 у пациентов НМРЛ. Материалом для исследования послужили свежемороженые образцы опухоли 31 пациента НМРЛ I–III стадии. Определение внутриопухолевого уровня экспрессии генов TOP1, TOP2A, ERCC1 и MDR1 осуществлялось с использованием метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени». По результатам проведенных молекулярно-генетических исследований установлены следующие средние значения уровней экспрессии генов: ERCC1 – $4,347 \pm 0,327$ отн. ед, TOP1 – $2,941 \pm 0,233$ отн. ед., TOP2 – $4,756 \pm 0,142$ отн. ед., MDR1 – $2,691 \pm 0,437$ отн. ед. Высокий уровень экспрессии ERCC1 зарегистрирован в 25,9% случаев, TOP1 – в 29,6%. У 54,8% пациентов наблюдалась гиперэкспрессия TOP2A, экспрессия MDR1 выше нормального значения отмечена в 28% случаев. Все полученные данные характеризуются статистически значимой величиной ($p < 0,05$). В соответствии с уровнями

экспрессии анализируемых генов относительно нормы, пациенты были рандомизированы на две группы – химиочувствительную (ХЧ, n=9) и химиорезистентную (ХР, n=13). Ретроспективная оценка данных показала наличие прогрессирования заболевания у 4 пациентов из ХР группы (30,8%), тогда как в ХЧ группе зарегистрирован лишь 1 (11%) рецидив. Исследуемые пациенты находятся под наблюдением для ретроспективной оценки выживаемости.

Определение уровня внутриопухолевой экспрессии генов ERCC1, TOP1, TOP2A и MDR1 имеет прогностическую значимость при выборе тактики лечения пациентов НМРЛ.

РЕГЛАМЕНТАЦИЯ ТЕМПЕРАТУРНЫХ РЕЖИМОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАХ НА ПЛАНАРИЯХ

Майоров С.А.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия.

Пресноводные планарии являются классической моделью для изучения стволовых клеток (Baguna, 2012; Hubert et al, 2015). Стволовые клетки планарии называются необластами. Однако, ряд авторов отмечает, что многие работы с регенерирующими планариями оказываются невозпроизводимыми или противоречивыми друг другу (Тирас и др. 2012 – 2015; Liboff, 2013, 2014; Maffei, 2014). В работе предпринята попытка объяснения плохой воспроизводимости результатов экспериментов отсутствием должного контроля за температурным режимом. Отметим, что суточные колебания температуры в лабораторном помещении в некоторые дни могут достигать 6 - 8 градусов, а разностью температур между сосудами с планариями, расположенными в разных местах одной комнаты зависит от конвекционных потоков, формы сосуда и может превышать 3 - 5 градусов. Работа выполнена на планариях *Girardia tigrina* (*Platyhelminthes, Triclada*) – бесполой лабораторной расе. Регенерацию вызывали ампутацией головной части тела планарий на уровне «глаз». Регистрация процесса регенерации при 17, 20 и 28°C осуществлялась с использованием метода прижизненной компьютерной морфометрии. Показано, что убыль общей площади проекции регенерирующей планарии носит экспоненциальный характер для всех трех температурных режимов. При этом характерные времена уменьшения биомассы составили 16, 34 и 125 суток соответственно для 28, 20 и 17°C. Миграция необластов в бластему в течении первой недели при 17°C происходила медленнее, чем при 20°C и 28°C. После первой недели регенерации при 20°C миграция необластов в бластему замедлялась, а при 28°C после 15 дня количество необластов в бластеме не только стабилизировалось, но и начало уменьшаться. Это означает, что в процессе регенерации организм планарии стремится поддерживать пропорции тела, в частности, отношение площади проекции бластемы к общей площади. Отметим, что в диапазоне от 28°C до 17°C график Аррениуса линеен, а перелом, свидетельствующий о резком торможении метаболизма, по-видимому, происходит при более низких температурах в диапазоне 15°C - 16°C. Полученные результаты позволяют оценить и режимы кормления экспериментальных планарий. На основании полученных результатов и экспериментально проверенной еженедельной периодичности питания для планарий при комнатной температуре построена балансная кривая, определяющая периодичность кормления, при которой размеры планарий остаются без изменений. Значения периодичности кормления, расположенные под балансной

кривой, будут способствовать росту планарий, а значения над кривой - уменьшению их размеров.

Таким образом, соблюдение температурного режима при содержании животных и в ходе эксперимента способно оптимизировать и унифицировать получаемые результаты, а также ускорить время подготовки и проведения экспериментов при высоких температурах. Минимизация ошибок, связанных с влиянием годовых и суточных колебаний температуры достигается термостатированием помещения с планариями.

ИЗУЧЕНИЕ ОТДАЛЁННЫХ ПОСЛЕДСТВИЙ ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АВАРИИ НА ПОПУЛЯЦИЯХ СОСНЫ ПО МОРФОЛОГИЧЕСКИМ ПАРАМЕТРАМ ХВОИ

¹Мартынов Е.С., ^{1,2}Удалова А.А.

¹ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной радиологии и агроэкологии РАСХН, Обнинск, Россия.

²Обнинский институт атомной энергетики - филиал ФГАОУ ВПО «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Обнинск, Россия.

После аварии на Чернобыльской АЭС было проведено много исследований человека и биоты, подвергшихся действию высоких доз облучения. Особый интерес представляют биологические эффекты в растительных и животных популяциях, населяющих территории с менее выраженными уровнями воздействия. Сосна входит в список референтных видов МКРЗ в качестве одного из самых радиочувствительных видов растений.

Целью данной работы являлась оценка биологических эффектов при хроническом радиационном воздействии на сосну с использованием морфологических параметров хвои. Экспериментальные участки располагаются в Брянской области, загрязненной после аварии на Чернобыльской АЭС. Изучаемые популяции сосны растут на радиоактивно загрязненных территориях более 25 лет. В 2011 и 2013 гг. образцы двухлетней хвои были собраны с 6 пробных площадок. По расчетам предполагаемая годовая доза для сосновых крон находится в диапазоне 7-130 мГр. У хвоинок были определены длина, масса и степень повреждения некрозом. На основе полученных данных рассчитывали индекс флуктуирующей асимметрии (ФА), который отражает результат неспособности организма следовать его программе развития.

Длина хвоинок сосны обыкновенной колебалась от 64,8 до 80,2 мм. Масса хвоинок колебалась от 18,2 до 30,5 мг, и в 2013 г. была значимо выше на всех радиоактивно загрязненных участках в сравнении с контрольными популяциями. Корреляционный анализ морфометрических параметров и дозовой нагрузки выявил отсутствие статистически значимой зависимости. Здоровые хвоинки встречались с частотой 18-81%, частично поражённые некрозом - 17-59%, с сильным повреждением некрозом - 0,2-29%. Частота здоровых хвоинок значимо снижается с ростом радиоактивного загрязнения в 2011 г. ($r=-0,86$, $p<0,05$). Индекс ФА по массе изменяется от 0,040 и 0,054, значимого влияния радиационного воздействия на данный параметр не выявлено. Колебания асимметрии длины хвоинок находятся между 0005 и 0012. Индекс ФА по длине на самых загрязненных участках значительно превышает ($p<0,01$) контрольный уровень, а также увеличивается с ростом годовой дозы в 2011 г. ($r=0,97$, $p<0,01$) и 2013 г. ($r=0,75$, $p=0,08$).

В некоторых работах, хроническое действие облучения при мощности дозы 100 мГр/год предлагается в качестве безопасного уровня хронического воздействия для биоты на популяционном уровне. Мы обнаружили, что морфометрические параметры сосновой хвои нечувствительны к такому воздействию, в то время как нестабильность развития и некротические процессы могут быть зарегистрированы в дозах около 90-130 мГр/год.

ОЦЕНКА ФОТОДИНАМИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ IN VITRO НА ОПУХОЛЕВЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ

Макаренко С.А., Замулаева И.А.

ФГБУ Медицинский радиологический научный центр Министерства
здравоохранения РФ, Обнинск, Россия.

Одной из наиболее важных проблем при лечении злокачественных опухолей является их множественная устойчивость к целому ряду терапевтических воздействий. Предполагают, что это явление может быть связано с наличием опухолевых стволовых клеток (ОСК), способных сохраняться после лечения и приводить к развитию рецидивов заболевания. Известна устойчивость ОСК к редкоизионизирующему излучению и целому ряду химиопрепаратов, однако к фотодинамическому воздействию еще мало изучена.

Целью данной работы являлось выяснение закономерностей накопления фотосенсибилизатора хлоринового ряда «Фотолон» в опухолевых стволовых и не стволовых клетках *in vitro*; сравнительное исследование гибели этих клеток после фотодинамического воздействия в двух линиях клеток (меланома В-16 и рак молочной железы МСF-7).

Установлены различия в накоплении фотосенсибилизатора (ФС) в ОСК, которые идентифицировали с помощью проточной цитофлуориметрии по формированию т.н. боковой популяции (*side population-SP*), и в остальных опухолевых клетках (*не-SP*). В исследованном диапазоне концентраций ФС (0,75-15,0 мкг/мл) наблюдалась прямая линейная зависимость внутриклеточного содержания препарата от его концентрации в среде как для *SP*, так и *не-SP* клеток изученных линий ($r > 0,93$; $p < 0,01$). Однако *SP* накапливали препарат значительно слабее, чем остальные клетки (в 1,8 раз для В-16 и в 1,5 для МСF-7, $p < 0,05$). Процесс накопления ФС во времени носил нелинейный характер и различался в ОСК и основной популяции. Анализ временных и концентрационных зависимостей показывает, что внутриклеточное содержание ФС в ОСК (*SP*) обеих изученных линий статистически значимо ниже, чем в *не-SP*, уже через 1 ч. инкубации с препаратом, что свидетельствует о способности ОСК активно исключать это соединение.

Несмотря на различия в накоплении ФС, было показано, что уровень гибели клеток *SP* и *не-SP* обеих линий после облучения лазером с длиной волны 661нм и мощностью 0,06Вт статистически значимо не различается ($p < 0,05$) во всех использованных экспериментальных условиях (при разной концентрации ФС (0,375-1,5 мкг/мл) и разной продолжительности лазерного воздействия (30-60 с)). Полученные результаты впервые экспериментально обосновывают высокую эффективность ФДТ с точки зрения элиминации ОСК – наиболее резистентной части опухоли.

Работа выполнена при финансовой поддержке Гранта РФФИ №13-04-01721.

ТЕПЛОВАЯ ДЕНАТУРАЦИЯ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ИКРОНОЖНОЙ МЫШЦЫ КРЫС ПРИ ГИПОТЕРМИИ

Магдовалий М.М., Загирбекова А.А., Джафарова А.М., Халилов Р.А.
ФГБОУ ВПО Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия.

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) – это ключевой фермент гликолитического пути окисления глюкозы. Исследование механизмов температурных адаптаций ЛДГ является важным шагом в изучении патологических и адаптивных изменений в тканях животного при гипотермии. Выяснение связи между функциональной активностью фермента и стабильностью его структуры может прояснить механизм функционирования фермента и регуляции его активности.

В настоящей работе нами предпринято исследование термостабильности ЛДГ мышц гомойотермных животных при умеренной (30°C) и глубокой (20°C) гипотермии. Исследование проведено на белых беспородных крысах. Активность ЛДГ в мышечном экстракте определяли по убыли содержания НАДН₂ в реакционной смеси в результате энзиматического восстановления пирувата в лактат. Кинетика термоденатурации ЛДГ была исследована при температуре 50° С.

Исследование показало, что ЛДГ мышц крыс очень чувствительна к довольно незначительному нагреванию. За 30 мин термоинактивации скорость восстановления пирувата в контроле снижается на 75%, при гипотермии 20°C на 56%, а при гипотермии 30°C - на 36,2%. Таким образом, термостабильность ЛДГ контрольных животных ниже таковой гипотермированных. Кинетика тепловой денатурации фермента при 50°C имеет две экспоненциальные стадии: быструю и медленную, что может быть обусловлено наличием двух денатурированных состояний фермента. По тангенсу угла наклона кинетических прямых в координатах $\ln(A_0/A_t) - t$ были вычислены константы скорости денатурации (К_{тд} для быстрой и медленной фазы). К_{тд} быстрой фазы ЛДГ при умеренной и глубокой гипотермии на 25% и 48,8% ниже таковой контрольных животных. При этом К_{тд} медленной фазы при умеренной и глубокой гипотермии, напротив, увеличиваются на 81% и 46% относительно контроля. Это указывает на то, что при гипотермии вклад медленной фазы в термоденатурацию увеличивается.

Таким образом, гипотермия привела к температурной стабилизации лактатдегидрогеназы и изменению вклада разных стадий в кинетику денатурации. Такая стабилизация фермента, скорее всего, это связана с его химической модификацией при низких температурах тела.

КОНФОРМАЦИОННЫЕ ОСОБЕННОСТИ НАТИВНОГО БЕЛКА Dps, ЕГО АПО-ФОРМЫ И НАСЫЩЕННОГО ИОНАМИ ЖЕЛЕЗА

^{1,2}Мелехов В.В., ^{2,3}Швырева У.С., ⁴Тимченко А.А., ^{2,3}Озолин О.Н.

¹ФГБУН Институт биологического приборостроения РАН, Пущино, Россия.

²ФГБОУ ВПО Пущинский государственный естественно-научный институт, Россия.

³ФГБУН Институт биофизики клетки, Пущино, Россия.

РАН; ⁴ФГБУН Институт белка РАН, Пущино, Россия.

Белок Dps является ДНК-связывающим белком, а так же выполняет регуляторную и защитную функции в клетках в различных условиях роста. Помимо этого он относится к большому семейству белков-ферритинов. По сравнению с другими представителями этого семейства Dps обладает рядом уникальных качеств –

меньшим размером и способностью взаимодействовать ДНК. Защитная функция белка Dps заключается в утилизации возникающих в ходе реакции Фентона гидроксильных радикалов, посредством перевода растворимого железа Fe^{2+} в насыщенное ферригидритное ядро во внутренней полости белка. Таким образом, первичной биологической задачей Dps является не столько запасание железа, сколько защита макромолекул от опасного сочетания ионов Fe^{2+} и H_2O_2 .

Целью данной работы было изучение конформационных особенностей белка Dps, что позволит подойти к более детальному изучению его функциональной роли в клетке и расширит понимание механизмов, лежащих в основе его антиоксидантной функции.

Для данной работы нативный Dps выделяли в соответствии с разработанной нами ранее методикой, после чего получали его апо-форму методом ступенчатого кислотного гидролиза, которую затем заново насыщали ионами железа в различных условиях. На каждом этапе проведения эксперимента конформационные изменения оценивали методом АСМ по стандартному протоколу. Насыщение ионами железа проводили при комнатной температуре на холоде, а избыток железа удаляли хроматографически.

В ходе исследования было установлено что форма и геометрические параметры нативного белка не отличаются от его апо-формы, но насыщение белка ионами железа, как при комнатной температуре, так и на холоде, приводит к некоторым изменениям его конформационного состояния. Это выражается в присоединение к сферическому додекамеру Dps частиц, по форме и размерам, соответствующим более мелким олигомерам белка (возможно ди- или тримерам), присутствие которых наблюдалось в растворах нативного и апо-белка. Соответствующее этому увеличению размеров было зарегистрировано методом ультрацентрифугирования и ВЭЖХ.

Такая гетерогенность конформаций свидетельствует о зависимости процесса олигомеризации Dps от присутствия железа и может указывать на существование альтернативных путей его сборки. Не исключено, что минорные структуры мультифункционального белка Dps формируются не только в искусственных условиях и от их относительного содержания зависит его способность выполнять две разные биологические функции.

Работа выполнена в рамках госзадания Минобрнауки России № 2014/281.

ИНГИБИТОР ФОСФОЛИПАЗЫ А2 4-БРОМФЕНАЦИЛБРОМИД ПОДАВЛЯЕТ ТРАНСПОРТ Na^+ В КОЖЕ ЛЯГУШКИ

Мельницкая А.В., Крутецкая З.И., Бутов С.Н., Крутецкая Н.И., Антонов В.Г.
ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Кожа амфибий и другие изолированные эпителиальные системы являются классическими модельными объектами для исследования механизмов транспорта ионов через биологические мембраны. Транспорт Na^+ в осморегулирующих эпителиях представляет собой сложную, многокомпонентную систему, в работе которой принимают участие Na^+ -транспортирующие белки и сигнальные каскады, локализованные в различных мембранах клетки.

Арахидоновая кислота (АК) и ее метаболиты выступают в качестве сигнальных молекул, участвующих в процессах внутри- и внеклеточной сигнализации, и обладающих широким спектром физиологических и патологических эффектов. В частности, многие ионные каналы являются мишенями как для самой АК, так и

для ее метаболитов. В коже лягушки простагландины стимулируют трансэпителиальный транспорт Na^+ , усиливают секрецию ионов K^+ и увеличивают проницаемость апикальной мембраны для воды. В культуре кортикальных собирательных трубочек почки мыши ингибиторы циклооксигеназы диклофенак и ибупрофен подавляют транспорт Na^+ .

Одним из основных механизмов образования свободной АК является гидролиз мембранных фосфолипидов под действием фосфолипазы А₂ (ФЛА₂). В связи с этим, представлялось целесообразным исследовать возможную роль ФЛА₂ в регуляции глутоксимом транспорта Na^+ в коже лягушки *Rana temporaria*. В экспериментах использовали ковалентный ингибитор ФЛФ₂ 4-бромфенацилбромид.

Для регистрации вольт-амперных характеристик (ВАХ) кожи лягушки использовали автоматизированную установку фиксации потенциала. В интервалах между измерениями ВАХ трансэпителиальный потенциал (VT) кожи поддерживали при потенциале открытой цепи VOC ($\text{VOC} = \text{VT}$ при трансэпителиальном токе $\text{IT} = 0$). Из ВАХ определяли электрические параметры кожи: ток короткого замыкания ISC ($\text{ISC} = \text{IT}$ при $\text{VT} = 0$), VOC и трансэпителиальную проводимость gT. Транспорт Na^+ оценивали как амилорид-чувствительный ISC. Статистический анализ проводили с применением t-критерия Стьюдента.

Данные представлены в виде $x \pm s_x$. Показано, что 4-бромфенацилбромид подавляет транспорт Na^+ в коже лягушки. Так, обработка кожи 20 мкМ 4-бромфенацилбромида (по данным 10 экспериментов) снижает ISC на 39.43 ± 5.18 или $30.49 \pm 3.34\%$, VOC – на 6.88 ± 1.32 или $28.94 \pm 5.13\%$, а gT – на 35.16 ± 8.23 или $10.14 \pm 2.08\%$, для приложения 4-бромфенацилбромида к апикальной или базолатеральной поверхности кожи, соответственно. Полученные данные свидетельствуют об участии ФЛА₂ и каскада метаболизма АК в регуляции транспорта Na^+ в коже лягушки.

ИНФОРМАЦИОННО-БИБЛИОГРАФИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ НАУКИ

¹Митошин И.А., ²Петров А.Б.

¹ФГБУН Библиотека по естественным наукам РАН, Москва, Россия.

²ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия.

В процессе проведения исследований ученым требуется постоянный доступ к различным научным изданиям, статьям, патентам. Научные библиотеки, находящиеся при исследовательских организациях, дают возможность своевременно получать всю необходимую информацию о состоянии науки в отдельных областях и в целом. По данным, получаемым библиотеками, проводятся исследования и изучаются перспективные направления развития в той или иной области. На базе Пущинского Научного Центра этим занимается Библиотека по естественным наукам РАН. На основании патентных исследований и информационно-библиографического поиска происходит анализ состояния научной деятельности.

Так в 2012-2013 годах выбраны основные векторы развития препаратов повышающих работоспособность организма при физических нагрузках, средств для лечения мужского гипогонадизма, лечение сахарного диабета II типа, криоконсервации клеток. По завершении исследований, сотрудниками ИТЭБ РАН

поданы несколько заявок на патенты. В данный момент, для институтов научного центра, ведется постоянная работа по следующим направлениям:

- воздействие электромагнитного излучения на биологические объекты,
- разработки, связанные с нанотехнологиями в Московской области,
- перфторуглеродные соединения,
- криоконсервация,
- лечение диабета,
- биологически активные добавки и т.д.

Работы, выполняемые по поиску информации в конкретных областях науки, выполняются, в основном по запросам руководителей подразделений. В последнее время чаще и чаще окончательное направление разработки определяется после анализа современного состояния на рынке и выбора перспективного направления. Так, например, в тесном сотрудничестве с библиотекой работает Лаборатория энергетики биологических систем под руководством д.м.н. Е.И.Маевского.

В заключении отметим, что такое привлечение библиотек к научной деятельности может быть рациональным по причине имеющегося доступа к большому количеству патентной и непатентной информации. Проведенные исследования на ее основании могут стать отправной точкой к разработке новых продуктов, выводящих научные организации на самоокупаемость, что в свете последних государственных преобразований становится крайне необходимым условием их существования.

ОЦЕНКА ИНДИВИДУАЛЬНОЙ РЕАКЦИИ ОРГАНИЗМА ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ПАЦИЕНТОВ НА ПРОВОДИМЫЕ КУРСЫ РАДИАЦИОННОЙ ТЕРАПИИ

¹Митрошина И.Ю., ^{1,2}Митошин И.А.

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино;

²ФГБУН Библиотека по естественным наукам РАН, Москва, Россия

Ионизирующая радиация является неотъемлемым компонентом окружающей среды, однако при увеличении интенсивности превращается в негативный фактор воздействия на здоровье и благополучие человека. Неповторимость каждого человека и его генома обуславливает возможность формирования индивидуального ответа организма, подверженного воздействию генотоксических факторов, в частности ионизирующего излучения.

Целью работы является определение индивидуальной чувствительности организма онкологических пациентов на проводимые лечебные курсы радиационной терапии с помощью молекулярно-генетических маркеров. В качестве таких маркеров были использованы микросателлитные последовательности типа тринуклеотидов (CTG)_n, расположенные в 3' – UTR – нетранслируемой области гена миотонической протеинкиназы человека. Известно, что данная область богата CTG-повторами, которые в норме образуют регионы в 40 – 50 триплетных повторов. Полагают, что под воздействием внешних и внутренних факторов происходит увеличение числа повторов до нескольких сотен и тысяч пар оснований. Это является проявлением их генетической нестабильности, которая может быть использована в качестве чувствительного маркера оценки генотоксического действия ионизирующих излучений, используемых при радиотерапии.

Был использован метод локус-специфической ПЦР для богатой (CTG)_n - повторами 3'- UTR гена миотонической протеинкиназы человека на препаратах

ДНК периферической крови. Далее применялась технология электрофореза в 6% полиакриламидном геле и окраска азотнокислым серебром.

В ходе эксперимента обнаружены высокие уровни тринуклеотидных повторов до проведения радиотерапии у 4 из 7 пациентов. Выявляемое повышение количества тринуклеотидных повторов по сравнению с показателями контрольной группы может быть обусловлено нарушением систем репарации и репликации ДНК, ассоциированным с возникновением и последующим развитием онкологического процесса. Увеличение количества тринуклеотидных повторов после проведения 1 курса радиотерапии выявлено у 4 из 7 пациентов. Повышенные количества тринуклеотидных повторов после проведения радиационной терапии в 3 из 4 случаев ассоциированы с летальным исходом от рака легких.

Т.о. выявлена микросателлитная нестабильность тринуклеотидных (СТG)_n повторов, как до проведения лечения, так и после его окончания. Предполагается, что динамика данного маркера может служить основой оценки индивидуальной реакции организма пациента, страдающего онкологическим заболеванием, на проводимое лечение.

СВЕТОВЫЕ РЕЖИМЫ РЕГУЛИРУЮТ АКТИВНОСТЬ ПАНКРЕАТИЧЕСКОЙ АМИЛАЗЫ У КРЫС

¹Морозов А.В., ¹Свечкина Е.Б., ¹Хижкин Е.А., ^{1,2}Илюха В.А., ²Матвеева Ю.П.,
²Виноградова И.А.

¹ФГБУН Институт биологии КарНЦ РАН, Петрозаводск, Россия.

²ФГБОУ ВПО Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск,
Россия.

Свет является экологическим фактором, влияющим на физиологические функции млекопитающих, через секрецию основного гормона пинеальной железы – мелатонин. До функционального созревания эпифиза у крыс (21 дня постнатального онтогенеза) циклические колебания мелатонина в крови определяются эпифизом матери. В желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) секретируется даже больше мелатонина, чем в эпифизе, но эта секреция не регулируется светом. Нарушение суточной цикличности синтеза мелатонина способно влиять на деятельность ЖКТ. Целью данного исследования было изучение активности панкреатической амилазы в поджелудочной железе 3,6 и 12-ти месячных крыс, находившихся при различных режимах освещения с периода внутриутробного развития и с момента рождения.

Эксперименты были проведены на самках лабораторных крыс линии ЛЮ, разделенных на три группы, каждая из которых в период беременности находилась при естественном (NL), стандартном регулярно чередующемся (LD) и постоянном (LL) освещении, соответственно. Полученное от них потомство с момента рождения находилось, либо при том же режиме освещения, что и матери (NL, LD, LL), либо было перенесено из регулярно чередующегося в постоянное освещение (группа LD/LL). Отбор образцов тканей поджелудочной железы производился у 5 животных из каждой группы в возрасте 3, 6 и 12 месяцев после декапитации. В результате проведенного исследования нами установлено, что максимальное влияние световых режимов на панкреатическую амилазу поджелудочной железы отмечается у 3-х и 12-ти месячных крыс. При стандартном освещении у животных отмечалось постепенное возрастное увеличение активности амилазы. Режимы LD/LL, LL/LL, а также NL/NL в период

удлиняющегося фотопериода приводили к существенному угнетению активности фермента.

Полученные нами результаты свидетельствуют, что постоянное освещение, приводящее к торможению мелатонин - секретирующей функции эпифиза, значительно снижает и активность панкреатической амилазы, и может приводить к развитию различных патологических процессов и нарушений работы ЖКТ. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента НШ-1410.2014.4, РФФИ (№ 12-04-31368), программы «УМНИК-2013» и программы стратегического развития ПетрГУ с использованием оборудования Центра коллективного пользования ИБ КарНЦ РАН.

**ПОСТГЕНОМИКА И ДИАГНОСТИКА НОВОГО КЛАССА ИНФЕКТОВ:
БЕЛКИ И ГЕНЫ ЭКСТРАКЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАННЫХ ВЕЗИКУЛ
МИКОПЛАЗМ**

¹Муханов А.А., ¹Горшков О.В., ¹Шаймарданова Г.Ф., ^{1,2}Трушин М.В., ^{1,2}Чернова О.А., ¹Чернов В.М.

¹КИББ КазНЦ РАН, Казань, Россия.

²КФУ, Казань, Россия.

Контроль микоплазменных инфекций и контаминаций представляет серьезную проблему, решение которой связывают с использованием постгеномных технологий для идентификации молекулярных основ адаптации этих бактерий к разным условиям среды. Существенная роль в адаптации микроорганизмов к условиям среды и реализации вирулентности принадлежит экстраклеточным мембранным везикулам (ЭКМВ), которые опосредуют секрецию, сигналинг, а также межклеточные взаимодействия и представляют собой новый класс инфектов. Как показано нами ранее [Chernov et al., 2011], клетки микоплазм продуцируют ЭКМВ, которые проявляют высокий уровень токсигенности в отношении клеток и тканей высших эукариот; содержат помимо компонентов клеточных мембран генетический материал и способны проходить через фильтры, используемые для стерилизации питательных сред. В этой связи контроль сред на наличие соответствующих инфектов является весьма актуальным.

Выявление диагностических маркеров для детекции ЭКМВ *Acholeplasma laidlawii* – микоплазмы, являющейся основным контаминантом клеточных культур и возбудителя фитомикоплазмозов, явилось задачей нашей работы. В качестве основных методов для решения задачи были применены АСМ, ТЭМ, ПЦР, сиквенс, 2DE, а также MS (MALDI-TOF/TOF) с использованием программы Mascot. В результате наших исследований впервые было установлено, что ЭКМВ *A.laidlawii* PG8 содержат нуклеотидные последовательности генов и белки, ассоциированные с бактериальной вирулентностью, и показано, что уровень везикуляции у микоплазмы, а также морфология, ультраструктура и состав ЭКМВ зависят от условий среды, фазы роста культуры. В составе ЭКМВ *A.laidlawii* PG8 нами были идентифицированы белки и гены, которые присутствуют в наноструктурах независимо от условий среды, фазы роста бактерии. Эти белки и гены представляются потенциальными мишенями для контроля инфектов. На основании полученных данных нами определены диагностические маркеры для обнаружения ЭКМВ *A.laidlawii* PG8 и предложены молекулярные зонды для дифференциальной детекции клеток и ЭКМВ микоплазмы в тестируемых образцах.

**НАДН-ЗАВИСИМАЯ РЕДУКТАЗА РЕДОКС-АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ
ВНЕШНИХ ОТДЕЛОВ МИТОХОНДРИЙ: ЦИТОХРОМ b5 РЕДУКТАЗА
(R3) ИЛИ VDAC1**

Никифорова А. Б., Круглов А.Г.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия.

По литературным данным VDAC1 способен проявлять НАДН оксидоредуктазную активность и играть важную роль в активации ксенобиотиков во внешней мембране митохондрий. В нашей работе мы оценили участие VDAC1 и цитохром b5 редуктазы в НАДН-зависимой активации различных редокс-активных соединений в митохондриях. Мы показали, что внешняя НАДН оксидоредуктаза вызывает редокс- активацию менадиона>> люцигенина> нитрофурантоина. Паракват активируется внутренними оксидоредуктазами митохондрий. Увеличение ионной силы среды стимулировало активацию отрицательно заряженных акцепторов и подавляло положительно заряженных, что предполагалось характерным для восстановления за счет цитохром b5 редуктазы. Антитела к цитохром b5 редуктазе, но не к VDAC1, ингибировали НАДН-зависимую оксидоредуктазную активность. Специфичные блокаторы VDAC1 эрастин и G3139, отдельно или вместе, в концентрациях достаточных для ингибирования транспорта субстратов, проявляли минимальный эффект на окисление НАДН в присутствии акцепторов, продукцию АФК и восстановление экзогенного цитохрома с. Ингибиторы цитохром b5 редуктазы (6- пропилен-2-тиоурацил, р- хлормеркурийбензоат, кверцетин, мерсалиловая кислота и эбселен) в разной степени ингибировали продукцию АФК и восстановление цитохрома с. Анализ спектров эндогенных цитохромов b5 и с в присутствии нитрофурантоина и ингибиторов VDAC1 и цитохром b5 редуктазы показал, что нитрофурантоин способен транспортировать электроны с цитохром b5 редуктазы R3 на эндогенный цитохром с. Это вызывает окисление цитохрома b5, связанного с внешней мембранной, который находится в редокс-балансе с цитохром b5 редуктазой.

Полученные данные доказывают вовлеченность цитохром b5 редуктазы в активацию редокс-активных соединений во внешней мембране митохондрий.

**ПОИСК ПОДХОДОВ К ОЦЕНКЕ ВКЛАДА МЕДИЦИНСКОГО
ИЗЛУЧЕНИЯ В КАНЦЕРОГЕННЫЙ РИСК У РАБОТНИКОВ ПО «МАЯК»**

Осипов М.В.

ФГУП Южно-Уральский институт биофизики ФМБА, Озерск, Россия.

Медицинское ионизирующее излучение наряду с безусловной диагностической информативностью также может являться фактором риска возникновения заболеваний, в первую очередь онкологических, в особенности при проведении рентгеновских процедур без достаточной клинической обоснованности. Трудности оценки влияния малых доз медицинского излучения состоят в необходимости длительного наблюдения стохастических эффектов, и в отсутствии специальных регистров, фиксирующих информацию о накопленной индивидуальной дозе от медицинского излучения.

Целью настоящего исследования является поиск возможности сравнительной оценки вклада медицинских диагностических рентгеновских процедур (РП) у персонала радиационно-опасных предприятий, подвергающегося хроническому воздействию производственного внешнего гамма и внутреннего альфа излучения,

в канцерогенный риск. Когортное исследование персонала производственного объединения «Маяк» на основе информации медико-дозиметрического регистра, созданного в лаборатории эпидемиологии ЮУрИБФ, представляет возможность ретроспективной оценки вклада РП в риск возникновения отдалённых эффектов на здоровье персонала, наряду с оценкой риска от производственных факторов. Канцерогенный риск воздействия медицинского излучения достоверно повышен у работников, получавших РП. В группе работников, умерших от нераковых причин, не было получено достоверного превышения риска. Поскольку РП являются стандартом в диагностике многих злокачественных новообразований, то такой диагноз может являться условием проведения рентгеновского исследования, и, как следствие, приводить к увеличению накопленной дозы от РП. Доза от медицинских диагностических РП достоверно коррелирует с показателями смертности от злокачественных новообразований в исследуемой когорте. Однако, наряду с прямым влиянием дозы от РП на канцерогенный риск, существует обратный механизм, при котором наличие злокачественного новообразования приводит к возрастанию накопленной дозы медицинского излучения, что затрудняет количественную оценку риска, поэтому наличие корреляционной связи нельзя расценивать как причинно-следственную связь.

МЕТОД ЭЛЕКТРОАКУСТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ БАКТЕРИОФАГОВ В ЖИДКОЙ ФАЗЕ

¹Павлий С.А., ^{2,3,4}Гулий О.И., ⁵Зайцев Б.Д., ⁵Шихабудинов А.М., ²Игнатов О.В.

1 - Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов.

2- Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов.

3 - Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова»,
Саратов.

4- Саратовский научно-исследовательский ветеринарный институт РАН, Саратов.

5 - Саратовский филиал Института радиотехники и электроники РАН, Саратов,
Россия.

В последние годы активно развиваются исследования в области разработки новых методов детекции вирусов бактерий для получения результата в течение короткого промежутка времени. Поэтому актуальной задачей является разработка новых экспресс-методов детекции бактериофагов, позволяющих получать точные результаты за короткое время. Одним из перспективных методов развития данного направления является применение электроакустического анализа. Показана возможность детекции бактериофагов с использованием метода электроакустического анализа на примере взаимодействия бактериофагов ФАI-Sp59b с микробными клетками *Azospirillum lipoferum* Sp59b. В качестве биологического датчика использовался пьезоэлектрический резонатор с поперечным электрическим полем, содержащий жидкостной контейнер емкостью порядка 1 мл. Установлено, что частотные зависимости реальной и мнимой частей электрического импеданса такого резонатора, нагруженного суспензией вирусов с микробными клетками, значительно отличаются от зависимостей резонатора с контрольной суспензией вирусов без микробных клеток. Показано, что детекция бактериофагов ФАI-Sp59b с помощью микробных клеток возможна как в присутствии посторонних вирусных частиц, так и посторонних микробных клеток. Предложенный способ позволяет достоверно определить тип исследуемого вируса уже после 5 минут его взаимодействия с индикаторной культурой. При этом минимальная концентрация вирусов составляет 5 вирусных

частиц на клетку. Полученные результаты демонстрируют возможность регистрации специфического взаимодействия бактериофагов с микробными клетками и служат основой для разработки биологического датчика для количественной детекции вирусов непосредственно в жидкой фазе.

УСЛОВНО-РЕФЛЕКТОРНАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ПОТОМСТВА ПЕРВОГО ПОКОЛЕНИЯ САМЦОВ КРЫС, ПОДВЕРГШИХСЯ ОСТРОМУ ГАММА ОБЛУЧЕНИЮ ДОЗЕ 1 ГР

Панфилова В.В., Колганова О.И.

ФГБУ Медицинский радиологический научный центр Министерства здравоохранения РФ, Обнинск, Россия

В данной работе исследовано влияние облучения самцов-крыс линии Вистар на психофизиологическое развитие их потомства первого поколения. Половозрелых самцов крыс облучали на гамма-установке «Луч» (^{60}Co , доза 1 Гр, мощность дозы 0,003 Гр/с). Затем их спаривали с интактными самками через разные интервалы времени после облучения, чтобы в оплодотворении участвовали сперматозоиды, облученные на разных стадиях сперматогенеза. 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. Данный метод позволяет судить о таких элементах высшей нервной деятельности, как закрепление условных связей и воспроизведение выработанного навыка, эмоциональное поведение и развитие стресса.

У самцов крыс первого поколения во всех подопытных группах зарегистрировано значительно большее количество отказов от перебежек, чем в контрольной группе. С гораздо более низкой скоростью нарастало количество условных рефлексов во время обучения у групп «сперматозоиды» и «сперматиды», то есть для достижения равного с контролем уровня обученности этим подопытным группам требовалось значительно больше сочетаний условного и безусловного стимулов. Во втором тестировании расхождение с контролем в этих подопытных группах еще более усугубилось. У самцов этих групп выработалось значительно меньше условных рефлексов, чем в контроле, выявились нарушения, как в краткосрочной, так и в долгосрочной памяти – эти животные начали второе тестирование с более низких позиций, чем закончили первое.

У самок первого поколения при первом тестировании только в группе «сперматозоиды» были отмечены значительные отклонения от контроля в худшую сторону (меньшая скорость обучения). При повторной сессии обучения были обнаружены нарушения в долгосрочной памяти в группах «сперматозоиды» и «сперматогонии». Крысы из этих подопытных групп плохо запомнили урок предыдущего тестирования. По показателям скорости обучения заметное отставание от контроля наблюдалось у крыс из группы «сперматогонии». У крыс подопытных групп отмечалось развитие состояния эмоционального стресса, выражавшееся в частых межсигнальных перебежках.

Таким образом, в результате наших исследований было выявлено негативное влияние облучения родителей в дозе 1 Гр на высшую нервную деятельность их потомков

**ИЗУЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ МЕТАБОТРОПНЫХ РЕЦЕПТОРОВ
ГЛУТАМАТА ПРИ ЭКСАЙТОТОКСИЧНОСТИ**

Петрушина Е.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт
теоретической и экспериментальной биофизики, Пущино, Россия.

Эксайтотоксичность является компонентом механизмов нейродегенеративных заболеваний и возникает в результате чрезмерной или продолжительной активации рецепторов глутамата, который реализует свое действие через ионотропные и метаботропные рецепторы (мГлу). Эти рецепторы рассматриваются как мишени для создания новых фармакологических средств, направленных на терапию различных неврологических, в том числе нейродегенеративных, заболеваний. В работе исследовали экспрессию генов мГлу рецепторов в гиппокампе и фронтальной области коры после микроинъекции в гиппокамп неротоксина, каината, чтобы оценить значимость отдельных типов мГлу рецепторов в механизмах гомеостаза глутамата.

Эксперименты проводили на крысах-самцах линии Вистар весом 180–200 г. Каинат вводили в дорсальный гиппокамп в субконвульсивной дозе (0,2мкг). Как показали морфологические исследования, через 4 недели после микроинъекции наблюдается гибель нейронов в полях СА1 и СА3 гиппокампа. Тотальную РНК выделяли из гомогенатов гиппокампа и фронтальной области коры. Уровень экспрессии генов мГлу рецепторов определяли с помощью ПЦР в реальном времени. Было показано, что после каината уровень экспрессии мГлу5, мГлу2/3, мГлу4 рецепторов изменялся не только в гиппокампе, но и во фронтальной коре. На основании этих результатов для снижения гибели нейронов были подобраны модуляторы активности мГлу рецепторов: МРЕР (антагонист мГлу5) и LY354740 (позитивный аллостерический модулятор мГлу2), проходящие через гемато-энцефалический барьер. Об эффективности применения этих веществ судили по изменению экспрессии мГлу рецепторов, а также по результатам морфологического контроля. Было показано, что гибель нейронов в поле СА1 гиппокампа снизилась, а уровень экспрессии приблизился к норме. Например, это относится к уровню экспрессии мГлу5 рецепторов в гиппокампе и мГлу2 рецепторов во фронтальной коре. Таким образом, уровень экспрессии мГлу рецепторов позволяет определить направленность фармакологического воздействия на рецепторы для снижения эффектов эксайтотоксичности и показывает, что мГлу вовлечены в регуляцию процессов возбуждения-торможения в мозге.

Работа поддержана РФФИ №14-04-00470.

**НАНОЧАСТИЦЫ CeO₂ СПОСОБНЫ МОДУЛИРОВАТЬ ЭКСПРЕССИЮ
ГЕНОВ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ И
ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ
ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ**

Попов А.Л., Попова Н.Р., Ермаков А.Г.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

Уникальные редокс-свойства нанокристаллического диоксида церия (CeO₂) позволяют рассматривать его как один из наиболее перспективных материалов для диагностики и лечения социально-значимых заболеваний. Ранее показаны антиоксидантные, противовоспалительные, кардио- и нейропротекторные

свойства наночастиц CeO_2 . При этом механизм защитного действие наночастиц CeO_2 в условиях окислительного стресса, индуцированного воздействием ионизирующего излучения, до сих пор мало изучен. В рамках данной работы нами было изучено влияние цитрат-стабилизированных наночастиц CeO_2 на активацию экспрессии 96 генов в культуре МСК человека, выделенных из пульпы зуба, ответственных за ключевые внутриклеточные системы регуляции метаболизма. Клетки высевались в 6 луночные планшеты в плотности 50 тыс/см² в среде DMEM/F12+ 10 % ЭТС и культивировались в течение 24 часов, после чего вносились наночастицы CeO_2 (10^{-6}M) путем смены среды. Через 24 часа клетки снимали с помощью раствора трипсин/версен (1:1), выделяли РНК по методике с использованием магнитных наночастиц и проводили анализ экспрессии подобранных генов методом ПЦР в реальном времени. Были отобраны гены, ответственные за пролиферацию (LIN28B), дифференцировку (FOXP1 SIRT1 WNT1 ALDH1A1 CD24 CD44 GATA3 ITGA6 ITGB1), миграцию (AXL, IL8, SNAI1, TWIST1, ZEB1), клеточный цикл (CCND1, CDK4, CDC6, WEE1, CCNA2, AURKB, CCNB2, CUL1, SKP2, CCNB1, CDK7), ДНК-репликацию (MCM2), а также проапоптотические (BAX CD40 CFLAR FAS) и антиапоптотические (BCL2, BIRC3, MCL1, TRAF2). Показана активация более половины отобранных генов, которые активно изменяли уровень экспрессии. При этом по результатам цитологических исследований выявлено радиозащитное действие наночастиц диоксида церия, которое проявляется не только в прямом защитном эффекте, за счет инактивации АФК и свободных радикалов, но и за счет изменения экспрессии ключевых внутриклеточных.

Проект выполнен при поддержке грантов РФФИ № 14-44-03615, № 14-04-32199 и Стипендии Президента для молодых ученых и аспирантов 2015-2017 гг.

АДАПТИВНАЯ ПОЛЯРИЗАЦИОННАЯ НЕФЕЛОМЕТРИЯ КАК МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

Полыницина А. А.

Институт химической кинетики и горения СО РАН, г. Новосибирск, Россия.

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

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

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

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

ГЕМОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НАНОЧАСТИЦ МАГНЕТИТА

¹Пудовкина Е.Е., ²Плескова С.Н.

¹ФГБОУ ВПО Нижегородский государственный технический университет им. Р.Е.Алексеева, Россия.

²ФГБОУ ВПО Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского, Нижний Новгород, Россия.

Биомедицинское применение магнитных наночастиц (МНЧ), в частности наночастиц магнетита – $\text{FeO} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$ обусловлено их хорошими контрастирующими свойствами при МРТ, адсорбирующей активностью при гипертермии и высокой перспективностью в области направленной доставки лекарств и специфического связывания терапевтических агентов. Однако для успешного практического применения необходимо выявить закономерности воздействия МНЧ на клетки крови человека, поскольку при любых вариантах введения в организм ксенобиотики попадают в кровь.

Целью данной работы является изучение влияния наночастиц магнетита на эритроциты человека. Наночастицы $\text{FeO} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$ брали в конечной концентрации 0,18 мг/мл и 0,0018 мг/мл. Определялось изменение гемолитической резистентности эритроцитов после взаимодействия с МНЧ.

Проводилось исследование осмотической резистентности эритроцитов по методу Л. И. Идельсона. Полученные данные не выявили статистически значимых различий степени гемолиза эритроцитов, проинкубированных с МНЧ по сравнению с контролем. В частности, в 0,4%-ом растворе NaCl контрольное значение составило $96,3 \pm 7,3\%$, степень гемолиза в случае воздействия МНЧ в концентрации 0,18 мг/мл и 0,0018 мг/мл – $93,8 \pm 12\%$ и $93,5 \pm 10,2\%$ соответственно. Для кинетического исследования гемолиза был использован метод кислотных эритрограмм. Для оценки полученных данных был введен интегральный показатель степени гемолиза – подсчитана площадь под кривыми на графиках «время-степень гемолиза». Контрольное значение составило $2323,4 \pm 709,3$ отн.ед. Для МНЧ в конечных концентрациях 0,18 мг/мл и 0,0018 мг/мл значение площади составило $2339,2 \pm 673,2$ отн.ед. и $2601,4 \pm 245,1$ отн.ед. соответственно ($p < 0,05$). Для контрольных исследований характерна эритрограмма с максимумом гемолиза в среднем 105,4% на 34-й секунде исследования. Под воздействием МНЧ максимальные значения гемолиза уменьшаются (в среднем до уровня 78,5% для концентрации 0,18 мг/мл и 43,8% для 0,0018 мг/мл), а время его наступления увеличивается (в среднем до 51 сек для 0,18 мг/мл и до 109 мин для 0,0018 мг/мл). Таким образом, МНЧ не влияют на гемолиз эритроцитов в изоосмотических жидкостях. Однако происходит существенное изменение эритрограммы – наблюдается тенденция к подавлению кислотного гемолиза при внесении наночастиц.

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТЕМПЕРАТУРНОГО ОПТИМУМА ЛИТОРАЛЬНЫХ И
ГЛУБОКОВОДНЫХ ВИДОВ АМФИПОД ОЗЕРА БАЙКАЛ И
ПРИБАЙКАЛЬСКОГО РЕГИОНА ПО БИОХИМИЧЕСКИМ
ПОКАЗАТЕЛЯМ СТРЕСС-ОТВЕТА**

¹Просолов С.О., ¹Верещагина К.П., ¹Гурков А.Н., ¹Лубяга Ю.А., ¹Щапова Е.П.,
²Аксенов-Грибанов Д.В.

¹ФГБОУ ВПО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия.

²НИИ биологии Иркутского государственного университета, Иркутск, Россия

Целью настоящей работы было определение температурного оптимума литоральных и глубоководных видов амфипод оз. Байкал и Прибайкальского региона по биохимическим показателям стресс-ответа. В исследовании использовали байкальских литоральных амфипод вида *Eulimnogammarus verrucosus* (Gerstf., 1858) и глубоководный вид *Ommatogammarus flavus* (Dyb., 1874). В качестве представителей термоустойчивой палеарктической фауны были выбраны амфиподы вида *Gammarus lacustris* Sars (1863).

До проведения экспериментов амфипод содержали отдельно по видам в аэрируемых аквариумах при температуре $6 \pm 0,5^\circ\text{C}$ в течение 3 суток для литоральных видов и в течение 6 суток при температуре $4 \pm 0,5^\circ\text{C}$ для глубоководных. Экспозицию организмов в широком градиенте температур проводили в соответствии с методикой экспериментальной акклиматизации, рекомендованной Portner, Kunst (Science, 2008). Фиксацию материалов проводили в жидком азоте. Контрольные образцы фиксировали непосредственно в начале эксперимента при температуре акклиматизации.

Для оценки влияния изменения (постепенного повышения и понижения) температуры среды на показатели клеточного метаболизма (в том числе стресс-маркеров) определяли индуцированные изменения показателей маркеров энергетического обмена (содержание лактата, АТФ, и активности лактатдегидрогеназы), содержания стрессовых белков теплового шока – БТШ70 и активности антиоксидантных ферментов (пероксидазы, каталазы и глутатион S-трансферазы).

Установлено, что у исследованных байкальских и палеарктических видов амфипод, различающихся по своим терморезистентным и термопреферентным характеристикам, в пределах определенного температурного диапазона остаются стабильными уровни содержания лактата, БТШ70, энергетических метаболитов, активности ферментов пероксидазы, каталазы, глутатион S-трансферазы, лактатдегидрогеназы. Указанные температурные диапазоны видоспецифичны: у *E. verrucosus* с $2,6 \pm 1,3^\circ\text{C}$ до $9,5 \pm 0,8^\circ\text{C}$, у *O. flavus* с $1,8 \pm 1,3^\circ\text{C}$ до $8,5 \pm 0,9^\circ\text{C}$, у *G. lacustris* с $2,3 \pm 1,7^\circ\text{C}$ до $19 \pm 5,2^\circ\text{C}$. Таким образом, для литоральных и глубоководных видов амфипод показано, что температурные границы зоны метаболической стабильности связаны с термопреферентными предпочтениями видов и отражают их экологические характеристики.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке грантов РФФИ (14-04-00501 а, 12-04-90039 Бел_а, 12-04-98062-р_сибирь_а, 11-04-91321-СИГ_а), программы ФЦП, а также при поддержке программы стратегического развития ФГБОУ ВПО «ИГУ» и совместной программы DAAD и Минобрнауки «М. Ломоносов 2014-2015».

**УВЕЛИЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПЦР С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
ЗОЛОТЫХ НАНОЧАСТИЦ**

¹Пылаев Т.Е., ²Ванжа Е.В., ¹Дыкман Л.А., ^{1,2}Богатырев В.А., ^{1,2}Хлебцов Н.Г.
¹ФГБУН Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН,
Саратов, Россия.

²ФГБОУ ВПО Саратовский государственный университет им. Н.Г.
Чернышевского, Саратов, Россия

Одним из наиболее распространенных методов клинической и лабораторной ДНК-диагностики является полимеразная цепная реакция (ПЦР). Среди основных преимуществ метода ПЦР следует отметить высокую чувствительность, селективность и незначительную трудоемкость. Однако имеются существенные недостатки, такие, как высокая степень гомологии олигонуклеотидных праймеров и ДНК анализируемого образца, склонность к контаминации, присутствие ингибиторов реакции вследствие нарушения условий пробоподготовки, подбора праймеров и параметров амплификации. Подобные нарушения приводят к ложноположительному или ложноотрицательному результату ПЦР-диагностики. При этом чувствительность и специфичность метода значительно снижается. Детектирование продуктов амплификации методом агарозного гель-электрофореза сопровождается появлением размытых полос («шмеров», англ. «smear» - размытие) помимо полос основного ПЦР-продукта. Традиционно, данную проблему решают путем подбора соотношения компонентов реакционной смеси, что является многостадийной, дорогостоящей и затратной по времени задачей. В последние несколько лет внимание исследователей привлекли наноматериалы, способные увеличить специфичность ПЦР. Из всего исследованного в этой области арсенала наноматериалов наибольший интерес представляют золотые наночастицы (ЗНЧ).

Использование ЗНЧ в качестве дополнительных компонентов для ПЦР обусловлено как минимум тремя механизмами их влияния на компоненты реакционной смеси: взаимодействие с матрицей ДНК по типу SSB-белков (SSB-белки – single-strand binding proteins, белки, связывающие одноцепочечную ДНК); увеличение эффективности ДНК-полимеразы; и формирование «нанореакторов» вокруг частицы золота для проведения ПЦР с большей скоростью и точностью. Целью настоящей работы явилось детальное изучение механизмов, определяющих эффективность ПЦР в присутствии золотых наночастиц, а также разработка универсального подхода одностадийной оптимизации ПЦР независимо от выбора диагностируемого объекта.

**ИММУНОЭКСПРЕССИИ МАРКЕРА ОЛИГОДЕНДРОЦИТОВ (OSP) В
ПОЯСНИЧНОМ ОТДЕЛЕ СПИННОГО МОЗГА МЫШИ В УСЛОВИЯХ
МОДЕЛИРОВАНИЯ ГИПОГРАВИТАЦИИ НА ЗЕМЛЕ**

¹Резвяков П.Н., ²Ланник Н.И., ¹Тяпкина О.В., ¹Исламов Р.Р.

¹ГБОУ ВПО КГМУ МЗСР РФ, Казань, Россия.

²ФГАОУ ВПО КФУ, Казань, Россия.

В настоящее время в связи с постоянно растущим интересом к длительным космическим полетам наиболее остро встает вопрос о возможности длительного пребывания человека в условиях невесомости. Известно, что при длительном отсутствии гравитации в организме возникают определенные изменения, приводящие к отклонениям со стороны различных органов и систем организма.

Одним из проявлений воздействия невесомости является развитие гипогравитационного двигательного синдрома. Отсутствие функциональной нагрузки обязательно приводит к изменениям морфологических и функциональных свойств поперечнополосатой мускулатуры. Несмотря на большой опыт полетов человека в космос, влияние гипогравитации на гистохимические и морфологические характеристики клеток спинного мозга, напрямую контролируемых морфофункциональные характеристики скелетных мышц, остается малоизученным.

Исследование проводили на половозрелых мышцах-самцах c57black/6 массой 25 г. У животных (экспериментальная группа, n=5) моделировали гипогравитацию методом антиортостатического вывешивания в течение 30 суток. В качестве контроля использовали интактных мышей той же породы (n=5). Животных наркотизировали, перфузировали холодным фосфатно-солевым буфером (pH 7,4), затем – холодным 4% раствором параформальдегида (pH 7,4). На криотомных срезах толщиной 25 мкм. проводили иммунофлюоресцентную реакцию с помощью моноклональных антител (1-е антитела) против специфического маркера олигодендроцитов (OSP). Для визуализации 1-х антител применяли 2-е антитела, конъюгированные с Alexa – 488. Ядра окрашивали при помощи красителя DAPI. Иммуноэкспрессия оценивалась визуально с помощью микроскопа Carl Zeiss (Германия).

В результате проведенных нами исследований установлено, что в препаратах поясничного отдела спинного мозга животных экспериментальной группы происходило снижение иммуноэкспрессии OSP олигодендроцитами, по сравнению с препаратами контрольной группы. Отмечено выраженное снижение флюоресценции в белом веществе подопытных животных. Вероятно, при моделировании гипогравитации происходит снижение иммуноэкспрессии OSP, что может свидетельствовать о процессе нарушения миелинизации в белом веществе поясничного отдела спинного мозга.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ПРЕОБРАЗОВАННОГО СВЕТА ($\lambda_{\text{MAX}}=632\text{NM}$) НА РАЗВИТИЕ РАННИХ ЭМБРИОНОВ МЫШИ *IN VITRO*

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

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино.

Пущинский государственный естественно-научный институт, Россия.

Видимый свет негативно влияет на развитие эмбрионов млекопитающих. Свет в синей части спектра (445-500нм), приводит к синтезу стрессовых белков теплового шока, и к увеличению числа апоптотических клеток в эмбрионе. Однако свет в красной части спектра (620-750 нм) наоборот, способен оказывать положительное воздействие на развитие клеточных культур *in vitro* и всего организма в целом. Цель работы - исследовать влияние прямого и преобразованного света с дополнительной люминесцентной красной компонентой ($\lambda_{\text{max}} = 632 \text{ нм}$) на развитие ранних эмбрионов мыши *in vitro*.

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

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

ДИФФЕРЕНЦИРОВКА ЭМБРИОНАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК МЫШИ В КАРДИОМИОЦИТЫ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ПЕПТИДОВ ИММУНОГЛОБУЛИНОВОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

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

ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино,
Россия.

Пущинский государственный естественно-научный институт, Россия.

В последние годы наиболее интенсивно развивающимся направлением применения эмбриональных стволовых клеток (ЭСК) является их направленная дифференцировка в определенные типы клеток. Существует ряд индукторов и факторов роста, сдвигающих дифференцировку ЭСК в определенном направлении, однако до сих пор не обнаружено соединений, специфично воздействующих на ЭСК и заставляющих все клетки одной популяции дифференцироваться в один тип ткани. Кроме того, существует негативная сторона дифференцировки под действием факторов роста – при введении обработанных клеток в организм, есть риск неконтролируемого формирования доброкачественных опухолей — тератом и тератокарцином. Использование регуляторных пептидов является более перспективным направлением в данной проблемной области.

В ходе проделанной работы из бластоцист мышей линии C57BL/6TgN(ActbEGFP)10sb, была получена и охарактеризована устойчивая линия ЭСК, несущая ген улучшенного зеленого флуоресцентного белка (EGFP). Установлено, что короткие пептиды иммуноглобулиновой природы (циклопентарфин и иммунорфин) при добавлении в среду культивирования в концентрации 10^{-7} - 10^{-8} М способны активировать направленную дифференцировку ЭСК в кардиомиоцитоподобные клетки. Полученные клетки обладали основными свойствами кардиомиоцитов: экспрессия специфических маркеров, саркомерная структура и сократимость, обусловленная кардиоспецифическими ионными потоками.

При внутривенном введении дифференцированных ЭСК в организм мышей в количестве 1,5 – 2 млн клеток, культивируемых в присутствии регуляторных пептидов иммуноглобулиновой природы, злокачественные новообразования у животных, которым вводили дифференцированные клетки обнаружены не были.

Точное детектирование введенных клеток и их распределение в организме было возможно благодаря присутствию в клетках флуоресцентного белка EGFP. Полученные данные о дифференцировке ЭСК под действием регуляторных пептидов в процессе их жизнедеятельности и при дальнейшем формировании клеточных субпопуляций, позволит изучать их биологические свойства, для дальнейшего понимания процессов развития болезней, тестирования лекарственных средств и в конечном итоге, для применения в регенеративной клеточной терапии.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ СВЕТА НА МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ НАТИВНЫХ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ КЛЕТОК

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

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия.
Пущинский государственный естественно-научный институт, Россия.

В клеточной терапии все чаще применяют мезенхимальные стволовые клетки (МСК) костного мозга для лечения различных заболеваний, в том числе и костно-мышечной системы. МСК могут выступать в роли активных индукторов репаративных процессов, благодаря низкой иммуногенности и иммуномодулирующей активности. Однако с возрастом количество, жизнеспособность и дифференцировочный потенциал собственных МСК сильно снижается. Поэтому важным является поиск физико-химических факторов, которые позволят повысить жизнеспособность и дифференцировочный потенциал собственных МСК. Цель работы - исследовать действие красного света ($\lambda=633\text{nm}$) от светодиодной матрицы на жизнеспособность, пролиферативную активность и остеогенную дифференцировку МСК, полученных от мышей разных возрастных групп.

Было установлено, что полученные клетки относятся к МСК (повышенная адгезия к пластику, фибробластоподобная форма, экспрессия CD44, GATA3, формирование кальциевых депозитов). Количество жизнеспособных клеток, выделенных из 10-недельных мышей, было в 1,8 раза больше, и они обладали большей пролиферативной активностью, по сравнению с клетками, от 25-недельных животных. Красный свет повышал пролиферативную активность в обеих возрастных группах МСК. Кроме того, действие красного света повышало пролиферативную активность МСК, полученных от 25-нед. животных, приближая значения к контрольным МСК, выделенных из молодых мышей. Таким образом, действие красного света способно увеличивать жизнеспособность и повышать метаболическую активность МСК мышей вне зависимости от возраста. Дальнейшее исследование механизмов действия позволят понять основы остеогенной дифференцировки МСК и применить полученные знания в регенеративной медицине.

ПОИСК ГЕНОВ-МАРКЕРОВ ПОВЫШЕННОГО РИСКА РАЗВИТИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В КЛЕТКАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С АТЕРОСКЛЕРОЗОМ

^{1,2}Самойлов А.Е., ¹Горюнова Л.Е., ¹Хаспеков Г.Л., ¹Феоктистова Е.С., ¹Кухарчук В.В., ¹Козлов С.Г., ¹Махмудова Х.А., ¹Бибилашвили Р.Ш.

¹ФГБУ РКНПК МЗСР, Москва, Россия.

²МФТИ (ГУ), Москва, Россия.

Успех мероприятий, направляемых на снижение тяжелых последствий сердечно-сосудистых заболеваний, напрямую зависит от адекватной идентификации лиц с повышенным риском их развития. Известно, что атеросклероз развивается медленно и зачастую незаметно до появления первых клинических симптомов болезни, которыми могут оказаться инфаркт или инсульт с тяжелыми последствиями. Поскольку экспрессия генов в клетках крови отражает реакцию на болезнь, анализ транскриптомов может быть полезен при оценке степени риска развития сердечно-сосудистых заболеваний

Целью данного исследования был сравнительный анализ экспрессии генов в лейкоцитах периферической крови пациентов с ангиографически подтвержденным диагнозом атеросклероза и здоровых индивидов без клинических проявлений сердечно-сосудистой патологии. Тотальная РНК была выделена из клеток крови пациентов с ИБС и тяжелым поражением коронарных или сонных артерий и здоровых (на момент взятия крови) людей. После гибридизации меченой кДНК с транскрипционными матрицами фирмы BD Biosciences Clontech были отобраны дифференциально экспрессирующиеся гены, полученные данные были подвергнуты математической обработке, включающей нормирование и кластерный анализ. Результаты гибридизации были проверены методом количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени с использованием флуоресцентного красителя SYBR Green и очищенных ампликонов для построения калибровочных кривых. Результаты анализа показали, что набор из 16 дифференциально экспрессирующихся генов хорошо отличает пациентов с атеросклерозом от большей части здоровых индивидов. В то же время, около трети здоровых людей обнаруживают профили генной экспрессии, близкие к профилям экспрессии больных. Таким образом, исследованные в данной работе гены идентифицируют людей, находящихся, возможно, в зоне повышенного риска развития сердечно-сосудистых заболеваний.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ В ИЗУЧЕНИИ ФОРМИРОВАНИЯ ГИПЕРТЕНЗИВНОГО СТАТУСА У КРЫС ЛИНИИ НИСАГ

Серяпина А.А., Шевелев О.Б.

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

Протонная магнитно-резонансная спектроскопия (1H-MPC) является высокоэффективной неинвазивной методикой, позволяющей получить представление о химическом составе исследуемых тканей. Изменения в метаболизме мозга наблюдаются при ишемическом инсульте, развитии опухолей и прочих патологиях. Нарушения в обмене веществ начинаются еще до клинических проявлений болезни, поэтому МР-спектроскопия позволяет диагностировать заболевания на самых ранних этапах развития.

В данной работе объектом исследования были крысы линии НИСАГ, селекционированные в ИЦиГ СО РАН на повышение АД в ответ на мягкий эмоциональный стресс. Целью работы было сопоставление метаболических характеристик головного мозга с формированием гипертензивного статуса у крыс НИСАГ в возрасте 1 мес. Исследование проводилось на базе ЦКП «SPF-виварий» ИЦиГ СО РАН (RFMEFI61914X0005 и RFMEFI61914X0010).

Анализ данных, полученных в результате пространственно-локализованной одновоксельной МР-спектроскопии головного мозга, выявил существенные различия в распределении метаболитов в коре головного мозга и гипоталамусе между двумя группами 4-недельных самцов крыс НИСАГ: у крыс первой группы АД еще находилось в пределах нормы, у второй группы уже установился гипертензивный статус. У гипертензивных крыс НИСАГ наблюдалось смещение соотношения возбуждающих (аспартат, глутамат+глутамин) и тормозных (ГАМК, глицин) метаболитов в сторону возбуждающих. Кроме того, у крыс НИСАГ с повышением АД также увеличивалась доля креатина и фосфокреатина, отражающих интенсивность энергетических процессов в астроцитах и нейронах. Таким образом, применение метода МР-спектроскопии позволило выявить ранние изменения метаболизма головного мозга, сопутствующие развитию артериальной гипертензии.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 14-15-00118.

ЗНАЧИМОСТИ ЭКСПРЕССИИ ТКАНЕВЫХ АНТИГЕНОВ ПРИ ГАСТРОИНТЕСТИНАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ ОПУХОЛЯХ РАЗНОЙ СТЕПЕНИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ

Смирнов С.Ю., Рябцева С.Н.

РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова, Минск, Республика Беларусь.

Цель исследования – выявить диагностически и прогностически значимые молекулярно-биологических маркеры гастроинтестинальных стромальных опухолей. Материалом исследования послужила опухолевая ткань (n=115) органной и неорганной локализации брюшной полости и забрюшинного пространства, заключенная в парафиновые блоки. Иммуногистохимически определяли уровень экспрессии тканеспецифических маркеров гладкомышечной (SMA), мышечной (Des), нейрогенной (S100, NSE) и мезенхимальной (Vim) дифференцировки, маркеров стволовых клеток (CD117) и эндотелиальных клеток (CD34) (n=100) с применением реагентов ДАКО (Дания). Методом секвенирования оценивали генетические нарушения в 11 экзоне протоонкогена c-kit (n=15). Иммуногистохимический анализ экспрессии CD117 (U, p=0,000000) и CD34 (U, p=0,000097) показал достоверное повышение уровня в клетках ГИСО по отношению к пациентам с гладкомышечными новообразованиями, в клетках которых преобладает экспрессия SMA (U, p=0,000271) и Des (U, p=0,000002). При сравнительном анализе экспрессии тканеспецифических антигенов у пациентов с нейрогенными и гастроинтестинальными стромальными опухолями установлено статистически значимое преобладание экспрессии S100 (U, p=0,000014) в клетках нейрогенных новообразований и достоверное преобладание экспрессии CD117 (U, p=0,000014) и CD34 (U, p=0,006144) в клетках гастроинтестинальных стромальных опухолей. Молекулярно-генетический анализ показал наиболее частое выявление мутации в 11 экзоне протоонкогена c-kit в ГИСО желудка (p=0,000161). Среди генных нарушений преобладала делеция нуклеотидных оснований кодонов 11 экзона (55,6%).

Выявлена зависимость между профилем экспрессии иммуногистохимических маркеров CD117, CD34, SMA, Des и S100 и гистологическим строением опухоли.

**ИЗМЕНЕНИЯ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ В УСЛОВИЯХ
ИНДУЦИРОВАННОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗА**

Сорокопудов Ю.В., Демкив И.Я., Лисничук Н.Е.

ГБУЗ Тернопольский государственный медицинский университет им. И.А.
Горбачевского, Тернополь, Украина.

В условиях индуцированного 1,2-диметилгидразином (ДМГ) аденокарциноматоза толстой кишки на фоне применения компонентов химиотерапии изучены изменения цитокинового профиля в организме белых крыс. Химически индуцированный канцерогенез моделировали согласно методики В.П.Дерягиной (2009). В качестве препаратов химиотерапии использовали Доксорубицин и Метатрексат по методике И. В. Зариповой (2008). Иммуноферментным методом определяли концентрации провоспалительных (TNF α , IL-1 β , IL-2, IL-6) и противовоспалительных цитокинов (IL-4 и IL-10), используя стандартные наборы реактивов, адаптированные для белых крыс. В условиях ДМГ- канцерогенеза отмечено выраженное возрастание концентраций провоспалительных цитокинов IL-1 β (на 38,1%), IL-6 (на 21,5%), TNF α (на 166,9%) по сравнению с группой контроля. Одновременно установлено снижение концентрации IL-2 (на 13,7%) относительно аналогичного показателя в группе интактных животных. Анализ полученного цифрового материала обнаружил существенный рост содержания противовоспалительных цитокинов IL-10 (в 2,2 раза) и IL-4 (на 98,7%) в группе животных с ДМГ-канцерогенезом по сравнению с контрольными показателями. Сочетанное с введением ДМГ применение цитостатиков способствовало существенному возрастанию содержания IL-1 β (в 2,6 раза), IL-6 (в 2,3 раза) и TNF α (в 3,2 раза) по сравнению с аналогичными показателями у интактных животных. Содержание IL-2 в этой группе снизилось как относительно аналогичного показателя в контрольной группе животных (на 33,9%), так и по сравнению с группой животных, которым вводили только ДМГ (на 119 23,4%). У животных с ДМГ-индуцированной неопластической интоксикацией на фоне введения цитостатиков отмечено усиление продукции IL-10 (возрастание концентрации на 151,3%) и IL-4 (повышение уровня на 145,3%) по сравнению с аналогичными показателями контрольной группы животных. Следует отметить, что эти показатели были также достоверно выше, чем аналогичные у животных с ДМГ- канцерогенезом. Таким образом, в условиях хронической неопластической интоксикации в сочетании с цитостатической терапией наблюдаются существенные изменения цитокинового профиля, характеризующиеся возрастанием концентраций всех исследуемых классов цитокинов, кроме IL-2, концентрация которого существенно уменьшалась.

**ИССЛЕДОВАНИЕ РЕАКЦИЙ ФОТОВОЗБУЖДЕННОЙ КИНУРЕНОВОЙ
КИСЛОТЫ С КРИСТАЛЛИНАМИ**

Сормачева Е. Д.

Международный томографический центр СО РАН, Новосибирск, Россия.

Катаракта является наиболее частой причиной снижения зрения и слепоты. Одним из основных факторов, вызывающих развитие катаракты, является УФ-излучение солнца. Под действием кванта света УФ-фильтры хрусталика – кинуренин и его производные –, способны переходить в триплетное состояние. Взаимодействие основных белков хрусталика, кристаллинов, с возбужденными молекулами кинуренинов приводит к накоплению пост-трансляционных

модификаций. Целями данной работы было: 1) исследование реакций тушения триплетного состояния фотовозбужденных молекул аминокислотами и белками хрусталика; измерение констант скорости этих реакций; 2) определение характера модификаций белков хрусталика, образующихся в результате реакций с триплетными молекулами.

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

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

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

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ ПРОТОННОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА МЫШАХ *IN VIVO*

¹Сорокина С.С., ¹Заичкина С.И., ¹Розанова О.М., ¹Смирнова Е.Н.,
¹Дюкина А.Р., ^{1,2}Шемяков А.Е., ²Балакин В.Е.

¹ - Институт Теоретической и Экспериментальной Биофизики РАН, Пущино, Россия.

² - Физико-технический центр Физического Института Академии Наук им. П.Н.Лебедева, Протвино, Россия.

Протонная терапия опухолей, активно развиваемая в последнее десятилетие во многих странах мира, обладает рядом преимуществ перед стандартной лучевой терапией с использованием гамма-излучения и электронов.

Целью настоящей работы являлось исследование биологической эффективности различных режимов протонного излучения: дозовые зависимости количества цитогенетических повреждений в костном мозге, клеточности тимуса и селезенки, продукции активных форм кислорода в цельной крови мышей *in vivo*.

2-месячных самцов белых беспородных мышей линии SHK облучали на комплексе протонной терапии «Прометеус» в ФТЦ ФИАН (г. Протвино) в диапазоне доз от 0.1 до 2 Гр при различных режимах облучения: расширенным пучком в пике Брэгга в теле мышцы; расширенным пучком в пике Брэгга в левой лапе мышцы; всего тела мышцы расширенным пучком напролёт; узким сканирующим пучком в широком модифицированном пике Брэгга в теле мышцы. Животных располагали в камере с тёплой водой перпендикулярно к источнику излучения правой стороной тела. Режим облучения — импульсный, длительность импульса составляла 200 мс. В зависимости от эксперимента, облучение мышей проходило в пике Брэгга или до него. Контроль дозы протонного излучения

осуществлялся клиническим дозиметром на основе алмазного детектора (ИФТП, г. Дубна), дозиметрической пленкой (Gafchromic radiotherapy film EBT2) и термолюминисцентными дозиметрами (ТЛД) производства НТЦ «Практика» (Москва). В качестве положительного контроля мышей облучали рентгеновским излучением на установке РУТ-15 (Мосрентген, Россия, 0.1 Гр/мин, 200 кВ, 8 мА) в том же диапазоне доз.

В результате исследования были подобраны оптимальные условия проведения экспериментов на животных *in vivo* на компактном протонном терапевтическом комплексе «Прометеус». При разных режимах облучения протонами были получены дозовые зависимости выхода цитогенетических повреждений в костном мозге, клеточности тимуса и селезенки, а также индукции активных форм кислорода в цельной крови мышей, что позволяет оценить дозовую нагрузку при моделировании условий радиотерапии на здоровые и опухолевые ткани и органы.

Работа выполнена при поддержке Стипендии Президента Российской Федерации для молодых учёных и аспирантов, СП-1461.2012.4.

АССОЦИАЦИЯ RS62117 ПОЛИМОРФИЗМА НЕТРИНА G1 С ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ

Степанян А., Захарян Р., Бояджян А.
ИМБ НАН РА, Ереван, Армения.

Инсульт является третьей, наиболее распространенной причиной смертности и инвалидности во всем мире. Более 11500 человек ежегодно умирают от инсульта в Армении. Некоторые исследования показывают, что отсутствие функционального восстановления у больных после ишемического инсульта (ИИ) связано с нарушением синаптической пластичности. Молекулярные патомеханизмы, лежащие в основе отмеченных нарушений, еще не ясны, что тормозит развитие эффективной реабилитационной терапии больных, перенесших инсульт. Нетрины представляют собой семейство секретируемых белков, которые обеспечивают миграционные сигналы в центральной нервной системе и, таким образом, участвуют в механизмах синаптической пластичности. Целью данного исследования было изучение возможной ассоциации однонуклеотидного полиморфизма (SNP) rs628117 (замена А на G в положении 107997106) интронной части гена нетрина G1 (NTNG1; 1p13.3) с ИИ в армянской популяции. Для этой цели были генотипированы образцы ДНК 100 больных ИИ и 105 здоровых лиц армянской популяции.

Генотипирование проводили методом полимеразной цепной реакции со специфичными к последовательности праймерами (PCR-SSP). Согласно полученным данным, распределение rs628117 полиморфизма в обеих группах соответствовало закону Харди-Вайнберга ($p < 0,05$). Частота встречаемости G минорного аллеля rs628117 полиморфизма была значимо выше у больных ИИ по сравнению с контрольной группой ($p = 0,013$, OR=1,64, 95% CI: 1,1-2,42). Число носителей этого аллеля среди больных ИИ также значимо превышало таковое в группе здоровых лиц ($p = 0,0014$, OR=2,96, 95% CI: 1,2 -2,94). Таким образом, результаты нашего исследования впервые показывают, что G аллель rs628117 полиморфизма NTNG1 положительно ассоциирует с ИИ и может быть рассмотрен как фактор риска развития ИИ, по крайней мере, для армянской популяции.

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ pH СРЕДЫ НА СТРУКТУРУ ГЕМА
ГЕМОГЛОБИНА МЕТОДАМИ СПЕКТРОСКОПИИ
КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЙЯНИЯ И МЁССБАУЭРОВСКОЙ
СПЕКТРОСКОПИИ**

Тхор Е.С.

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

Изменения структуры гема гемоглобина могут происходить при различных патологиях, а также при связывании атома железа с лигандом. Для оценки конформации гемопорфирина применяют спектроскопию комбинационного рассеяния, которая широко используется для исследования структуры биологических молекул, что позволяет применять её для обнаружения опухолевых тканей, атеросклеротических бляшек, а также оценки степени оксигенации крови. В свою очередь Мессбауэровская спектроскопия позволяет получить информацию об электронной структуре железа в геме гемоглобина.

В данной работе использовали сочетание методов спектроскопии комбинационного рассеяния и Мёссбауэровскую спектроскопию. Для оценки структуры гема гемоглобина, а также его способности связывать кислород и отдавать лиганды в эритроцитарной массе с увеличением pH применяли спектроскопию комбинационного рассеяния. Мёссбауэровскую спектроскопию использовали для исследования изменений электронной структуры железа гема гемоглобина. На спектрах гемоглобина, полученных с помощью рамановской спектроскопии при длине волны лазера 473 нм видно, что структура спектра меняется при увеличении pH в интервале от 5,8 до 8,0. Для определения параметра связывания гема с кислородом использовали соотношения I_{1580}/I_{1548} , а способность отдавать лиганд – I_{1375}/I_{1580} . По этим соотношениям было установлено, что при увеличении pH среды сродство кислорода к гемоглобину падает, а способность отдавать лиганды возрастает, что соответствует эффекту Бора.

Мёссбауэровская спектроскопия позволила выявить отличия электронного состояния железа гема гемоглобина, а именно изменение квадрупольного момента и химического сдвига, что говорит о переходе оксигенированной формы в дезоксиформу при повышении pH. Результаты, полученные с помощью методов спектроскопии комбинационного рассеяния, хорошо согласуются с данными полученными методом Мёссбауэровской спектроскопии. Связывание гема гемоглобина с кислородом вызывает не только изменение конформации гема, но и изменения в электронном состоянии железа гема.

Такое сочетание методов изучения гема гемоглобина в дальнейшем может помочь в диагностике патологий, например, тканевой гипоксии, сердечнососудистых заболеваний, лейкемии и др.

**ВЛИЯНИЕ БЕТА-АМИЛОИДНОГО ПЕПТИДА НА ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ
ОБМЕН В МОЛОДЫХ И СТАРЫХ ЭРИТРОЦИТАХ СТАРЫХ КРЫС**

Тихоненько Л.А.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия.
Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия.

В настоящее время известно, что при болезни Альцгеймера в мелких сосудах головного мозга происходит накопление амилоидного пептида, что одновременно

вызывает как разрушение стенок кровеносных сосудов, так и повреждение форменных элементов крови, в частности эритроцитов. Об этом свидетельствует тот факт, что в мозге пациентов обнаруживается значительное количество свободного гемоглобина и продуктов его распада, накопление которых вызывает быстрое разрушение гемато-энцефалического барьера, усиление перекисного окисления липидов и окислительный стресс, воспаление, сужение сосудов, гипоперфузию мозга и гибель нервных клеток.

Механизм повреждения эритроцитов при контакте с амилоидным пептидом неизвестен. Данная работа посвящена выявлению возможных механизмов повреждения и лизиса эритроцитов под действием амилоидного пептида. В связи с тем, что популяция эритроцитов гетерогенна, а болезнь Альцгеймера характерна для людей пожилого возраста, работа была проведена на молодых и старых эритроцитах, полученных из крови старых, двухгодовалых крыс. Было показано, что старые эритроциты характеризуются сниженной гликолитической и антиоксидантной активностью, что выявлялось по снижению активности ферментов гексокиназы, фосфофруктокиназы, пируваткиназы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, глутатионтрансферазы, супероксиддисмутазы и Na,K-АТФазы, а также сниженной скоростью поглощения глюкозы и образования лактата. Под действием амилоида степень лизиса старых эритроцитов была достоверно выше, при сравнении с лизисом молодых клеток, что сопровождалось более выраженным снижением активности вышеуказанных ферментов. На основании полученных данных сделан вывод о том, что эритротоксичность амилоида зависит от энергетического и антиоксидантного статуса эритроцитов и что лизис старых эритроцитов в сосудах может вносить определенный вклад в повреждение клеток мозга при болезни Альцгеймера *in vivo*.

ИНОТРОПНАЯ АКТИВНОСТЬ ФЛАВОНОИДОВ – КВЕРЦЕТИНА И РУТИНА

Хушматов Ш.С., Мавлянов С.М., Усманов П.Б.

Институт Биоорганической химии им. Академика А.С. Садыкова АН РУз,
Ташкент, Узбекистан.

Поиск новых эффективных фармакологических препаратов на основе биофлавоноидов для лечения сердечно-сосудистых заболеваний является актуальной задачей в фармацевтической индустрии. Целью настоящего исследования явилось сравнительное изучение механизма действия флавоноида кверцетина (3,3',4',5,7 – пентагидроксифлавонон) и его гликозида рутин (3-рамноглюкозил- 3,5,7,3',4'-пентаоксифлавонон) на функциональную активность папиллярной мышцы крысы в норме и в условиях аконитин-индуцированных аритмий. Сократительную активность папиллярной мышцы изучали в изометрическом режиме с помощью механотрона F30 (Model D-79232 HSE, Germany) при стимуляции импульсами длительностью 10 мс и амплитудой, превышающей пороговую на ~20%. В результатах наших экспериментов, эффекты кверцетина на сократительную активность папиллярной мышцы крысы имеют двухфазный характер, и начиная с концентрации 10 мкМ, он вызывал увеличение силы сокращений ($16,8 \pm 2,8\%$) ($n = 3-5$, $P < 0,05$), степень которого возрастала с увеличением его концентрации и достигала максимума при 100 мкМ ($33,5 \pm 5,7\%$ относительно контроля). Вместе с тем было обнаружено, что кверцетин при более высоких концентрациях (100 – 200 мкМ) вызывает только отрицательный инотропный эффект. А также, установлено, что рутин (10 – 200

мкМ) вызывает значительно слабый положительный инотропный эффект сравнительно с эффектом кверцетина. При предварительно инкубации препаратов мышцы пропранололом (10 мкМ), блокатора β -адренорецептора, значительно уменьшает положительный инотропный эффект изученных флавоноидов. Таким образом, полученные данные позволяют предположить, что положительный инотропный эффект кверцетина и рутина может быть связан с их активации β -адренорецептора, при этом увеличивается концентрация цАМФ и следовательно это способствует увеличению $[Ca^{2+}]_i$ в кардиомиоцитах.

ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ МЕХАНИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ОКИСЛЕННЫХ МЕМБРАН С ПОМОЩЬЮ ЛИПИДНЫХ НАНОТРУБОК

¹Парьева Е.С., ¹Башкиров П.В., ¹Синцов М.Ю., ²Антоненко Ю.Н.,
¹Чекашкина К.В.

¹ФГБУН Институт физической химии и электрохимии им. А.Н.Фrumкина РАН;
²НИИ физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского Московского
государственного университета им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия.

Клеточная мембрана постоянно испытывает воздействие различных биологически активных веществ, которые могут приводить к значительным модификациям ее свойств, в том числе и ее упругих характеристик (натяжение, изгибная жесткость). В данной работе мы исследовали изменения упругих свойств бислоистой липидной мембраны при ее окислении синглетным кислородом. Для этого мы использовали мембранные нанотрубки (НТ), вытянутые в растворе электролита из плоских бислоистых липидных мембран с помощью пэтч-кламп методики. Изгибную жесткость мембраны и ее латеральное натяжение находили из анализа изменения формы НТ под воздействием электрического поля. Окисление мембраны происходило в результате фотодинамической реакции фотосенсибилизатора AlPcS3, адсорбированного на мембране. Было показано, что адсорбция AlPcS3 имеет обратимый характер и не приводит к изменению модуля изгиба мембраны. В результате возбуждения фотосенсибилизатора светом (длина волны 650 нм) происходило постепенное уменьшение изгибной жесткости мембраны. Причем величина эффекта зависела от длительности освещения. Проводимость мембраны при этом оставалась неизменной. Однако через некоторое время после активации AlPcS3 в мембране возникали гидрофильные поры, и мембрана разрушалась. Мы считаем, что регистрируемое уменьшение изгибной жесткости мембраны, за которым следует образование гидрофильных пор и в итоге дестабилизация БЛМ, связано с накоплением в ней окисленных липидов, которые обладают положительной спонтанной кривизной.

ФОТОПОВРЕЖДЕНИЕ РОГОВИЦЫ ГЛАЗА В УСЛОВИЯХ IN VITRO

Фахранурова Л.И.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия.

Роговица - часть наружной капсулы глаза, она подвергается воздействию всех неблагоприятных факторов внешней среды. Особенности строения, анастомозирования и иннервации краевой петливой сети сосудов вокруг роговицы объясняется ее быстрая ответная реакция на развитие патологического процесса в склере, конъюнктиве, радужке и цилиарном теле.

Известно, что длительное воздействие света на роговицу способно привести к развитию слезотечения и болевого синдрома. Нами было исследовано влияние

света в ультрафиолетовой части спектра на жизнеспособность клеток линии SIRC (роговицы кролика). Для исследования клеточной жизнеспособности был применен МТТ тест, показатели конfluenceности клеток. Также оценивалась внутриклеточная концентрация АФК с помощью флуоресцентной метки H2DCFDA. Даже наименьшая экспозиция (40 сек) УФ света приводила к снижению выживаемости клеток на 28%. Дальнейшее увеличение экспозиции (640 сек) снижает жизнеспособность клеток на 54,8%, что говорит о значительном повреждении клеток. Данные соотносятся с показателями конfluenceности клеток, где рост клеток уменьшается в зависимости от продолжительности облучения. Однако, стоит упомянуть о том, что разница в конfluenceности клеток в зависимости от экспозиции клеток постепенно (к 4 дню наблюдения) нивелирует, что доказывает способность клеток роговицы к быстрой регенерации. Наименьший уровень АФК был зафиксирован в контроле, наибольший – при наибольшей экспозиции. Полученные результаты свидетельствуют о том что, длительное воздействие света на роговицу способно привести к нарушению процессов клеточной жизнедеятельности.

Работа выполнена при поддержке стипендии Президента (СП-6350.2013.4) и гранта РФФИ (14-44-0367214).

ВЫЯВЛЕНИЕ МАРКЕРОВ АКТИВАЦИИ ЛИМФОЦИТОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОРРЕЛИОЗА В СИСТЕМЕ IN VITRO

Фирстова В.В., Зырина Е.В., Штанников А.В., Щит И.Ю., Бикетов С.Ф.
ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия.

Основным методом, используемым для диагностики боррелиозов, в настоящее время является серологический анализ (ИФА, иммуноблот и др.) на 2-6-ой неделе после начала инфекции. Сероконверсия наблюдается у 20-50 % больных. Жители эндемичных по клещевым боррелиозам территориям нередко являются серопозитивными, что затрудняет диагностику свежих случаев боррелиоза. Альтернативным методом диагностики боррелиоза могут быть клеточные тесты. Поэтому мы предприняли попытку выявления маркеров активации лимфоцитов для диагностики боррелиоза в системе in vitro.

Мышей линии BALb/c заражали внутрикожно *Borrelia afzelii* в дозе 1 x 10⁶ спирохет на мыш. Заражение мышей (наличие ДНК боррелий в тканях) выявляли ПЦР на 7-й день после иммунизации. На 7-й, 15-й и 29-й дни от мышей забирали селезенки и выделяли спленоциты общепринятым методом. Спленоциты из зараженных и интактных мышей инкубировали 24 ч в питательной среде в присутствии одного из следующих рекомбинантных антигенов: ВВК-32, DbpA, VlsE, разрушенные ультразвуком клетки *Borrelia afzelii*. Затем спленоциты окрашивали флуоресцентно-мечеными моноклональными антителами к CD3, CD4, CD19, CD69, TLR-2 рецепторам и проводили цитометрический анализ на приборе FACSCalibur, BD. Антиген VlsE и разрушенные ультразвуком клетки *Borrelia afzelii* индуцировали экспрессию TLR-2 и CD69 на поверхности лимфоцитов, выделенных у мышей как интактных, так и зараженных боррелиозом во все сроки исследований. Было обнаружено, что на 7-й день после заражения, в системе in vitro антигены DbpA и ВВК-32 (судя по CD69 рецептору) специфически активируют субпопуляцию цитотоксических лимфоцитов, а DbpA - Т-хелперов мышей зараженных *Borrelia afzelii*. На 15-й день после заражения оба антигена DbpA и ВВК-32 специфически активируют Т-лимфоциты, увеличивая экспрессию CD69 поверхностного рецептора Т-хелперов и цитотоксических

лимфоцитов мышей, зараженных боррелиозом. Антиген DbpA усиливал экспрессию TLR-2 на поверхности сенсibilизированных цитотоксических лимфоцитов и Т-хелперов на 29-е сутки после заражения. Таким образом, для разработки клеточных тестов диагностики боррелиоза ВВК-32 и DbpA являются перспективными антигенами.

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

Хало И.В., Строкотов Д.И., Чернышев А.В., Мальцев В.П.

Институт химической кинетики и горения им. В. В. Воеводского СО РАН,
Новосибирск, РАН.

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

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

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

**ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ СРЕДЫ С
ПОМОЩЬЮ МЕТОДОВ ФИТОИНДИКАЦИИ**

Чекмарина Д.А., Скардова В.А., Симонова З.А.

ФГБОУ ВПО Саратовский государственный технический университет им.
Гагарина Ю.А., Саратов, Россия.

Фиксация и оценка физиолого-биохимических и анатомо-морфологических изменений городских растений дают достоверную картину условий их места произрастания и отражают состояние урбаноcреды.

Целью нашего исследования являлось выявление качества состояния среды г. Саратова с помощью методов фитоиндикации. В качестве материала исследования были выбраны листья *Betula pendula*. Районы исследований определялись по результатам химических анализов атмосферного воздуха и располагались в местах оживленного транспортного движения и вблизи крупных промышленных предприятий г. Саратова. Работа проводилась в два этапа. На первом этапе изучалась стабильность развития *Betula pendula*. Результаты эксперимента показали, что экологическая ситуация в г. Саратове оценивается не ниже 3 – 5 баллов, а это соответствует неблагоприятному состоянию окружающей среды. Критическая экологическая обстановка (5 баллов) сложилась, в основном, вокруг крупных предприятий и в местах массового скопления автотранспорта. Наиболее благоприятная ситуация отмечается в Природном парке «Кумысная поляна», любимом месте отдыха горожан.

На следующем этапе определялась активность пероксидазы в листьях *Betula pendula* фотометрическим методом. Обобщение данных различных вегетационных периодов (2008 – 2013 гг.) позволило сделать вывод об отчетливо выраженном характере временной динамики содержания пероксидазы в листьях *B. pendula*. В начале вегетационного периода наиболее высокие показатели пероксидазной активности были зафиксированы на участках, являющихся крупными транспортными узлами города, минимальные - в листьях берёзы, произрастающей в спальных районах города. Относительно высокой оказалась активность фермента в листьях, собранных в условно-чистой среде города (Природный парк «Кумысная поляна»). В конце вегетационного периода было зафиксировано обратное изменение активности пероксидазы в листьях березы – в тех районах, где она была повышенной в мае, в сентябре становилась пониженной, и наоборот. В среднем по городу активность фермента в листьях берёзы за вегетационный период понижалась в 7 раз. Это можно объяснить тем, что растения в течение всего вегетационного периода находятся в состоянии стресса.

Таким образом, анализ и сравнение результатов двух независимых экспериментов показали, что в городе Саратове экологическая ситуация может рассматриваться как неблагоприятная. Критическая экологическая обстановка отмечается в центральных районах города с мощной транспортной развязкой.

АКТИВАЦИЯ АНИОННЫХ ОБМЕННИКОВ ЭРИТРОЦИТА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ СУЛЬФАТА МАГНИЯ

Чернышова Е.С.

Институт химической кинетики и горения им. В. В. Воеводского СО РАН,
Новосибирск, Россия.

ФГБОУ ВОП Новосибирский государственный университет, Россия.

В перинатальной диагностике существует проблема выявления риска гипоксии плода на ранних стадиях беременности. Основной характеристикой, определяющей скорость кислородного обмена в организме, является анионная проницаемость мембраны эритроцита. Отклонение от нормы данной

характеристики свидетельствует о риске развития гипоксии. На сегодняшний день в медицине для улучшения состояния пациента широко применяется токолитическая терапия с использованием сульфата магния. Несмотря на это, молекулярный механизм влияния сульфата магния на анионную проницаемость эритроцитов не до конца изучен.

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

По результатам экспериментов было измерено увеличение анионной проницаемости эритроцитов в присутствии растворенного сульфата магния. Полученные данные были обработаны предложенной теоретической моделью, описывающей динамику проникновения через мембрану и взаимодействия иона магния внутри клетки с основным анионным обменником эритроцита (cdB3), и в результате были определены следующие параметры: проницаемость мембраны эритроцита к Mg²⁺ и константа равновесия комплекса Mg²⁺-cdB3.

ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОЧАСТИЦ КРОВИ И ИХ ДИМЕРОВ С ПОМОЩЬЮ СКАНИРУЮЩЕГО ПРОТОЧНОГО ЦИТОМЕТРА

Чернова Д. Н., Жилина В.А.

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

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

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

Разработанный в нашей лаборатории метод сканирующей проточной цитометрии

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

ВСТРЕЧАЕМОСТЬ АЛЛЕЛЕЙ В СОСТАВЕ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ ПРОМОТОРА ГЕНА Fas/CD95 ПРИ РАКЕ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА

¹Шкаров М.А., ^{1,2}Уткин О.В., ¹Сахарнов Н.А., ¹Новиков Д.В., ³Янченко О.С.,
^{1,2}Новиков В.В.

¹ФГБОУ ВПО ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия.

²ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия.

³ГБОУ ВПО НижГМА, Нижний Новгород, Россия.

Основным механизмом элиминации опухолевых клеток является апоптоз, в инициации которого участвует мембранный рецептор Fas/CD95. В промоторной области гена Fas/CD95 выявлены однонуклетидные полиморфизмы (ОНП) - 670A/G и -1377G/A, аллельные транзиции в которых изменяют транскрипционную активность гена, что оказывает влияние на предрасположенность к развитию рака. Задачей данного исследования было определение встречаемости аллелей в составе ОНП -670A/G и -1377G/A гена Fas/CD95 в крови больных раком толстого кишечника (РТК) и здоровых волонтеров. Детекцию аллельных вариантов в составе исследуемых ОНП проводили с помощью разработанных нами методов аллель-специфической ПЦР и прямого секвенирования нуклеотидных последовательностей.

Обнаружено, что у больных РТК превалировал генотип -670AG. Частота его выявления была в 45,5 раз выше, чем генотипа -670AA ($p < 0,001$) и в 13 раз выше, чем генотипа -670GG ($p < 0,001$). Различий во встречаемости генотипов -670AA и -670GG обнаружено не было. По сравнению со здоровыми волонтерами у больных РТК частота выявления генотипа -670 AG была в 1,5 раза выше ($p < 0,001$), а частота выявления -670GG была 5 раз ниже ($p < 0,001$). В отношении генотипа -670 AA различий не обнаружено. Показано, что у больных РТК в составе ОНП -1377G/A генотипы -1377GG и -1377AG выявлялись приблизительно с одинаковой частотой. Их встречаемость была в 3,4 раза и в 2,8 раза выше, чем генотипа -1377 AA ($p < 0,001$ и $p = 0,003$, соответственно). По сравнению со здоровыми волонтерами у больных РТК частота выявления генотипа -1377 AA была в 7 раз выше ($p = 0,033$), а частота выявления генотипа -1377AG была в 1,7 раза ниже ($p = 0,005$). В отношении генотипа -1377GG различий не обнаружено. Мы полагаем, что ОНП -670A/G и -1377G/A могут быть связаны с повышением риска развития РТК.

ВЛИЯНИЕ НИТРАТОВ И НИТРИТОВ НА АКТИВНОСТЬ ПАНКРЕАТИЧЕСКОЙ АМИЛАЗЫ У КРЫС

Шахмуров Г.А., Кучкарова Л.С.

Национальный университет Узбекистана, Ташкент, Узбекистан.

Известно, что в овощных культурах содержание нитратов и нитритов зачастую превышает допустимые нормы. Поэтому целью работы было определение активности гидролитической системы органов пищеварения на примере α -амилазы поджелудочной железы при нитратной интоксикации. Данный фермент одним из первых подвергается воздействию ксенобиотиков в полости желудочно-кишечного тракта и активность его легко сдвигается при воздействии многих эндо- и экзогенных факторов.

Крысам-самцам вводили раствор нитрата натрия в дозе 20 мг/кг массы тела. Активность фермента определяли в поджелудочной железе (Уголев, 1969) на 7-й день после обработки крыс в ткани поджелудочной железы и содержимом тонкой кишки. Показано, что у интоксигированных крыс активность α -амилазы ткани поджелудочной железы составляла $7011,9 \pm 89,3$ мг/мин/г ткани в опыте против $9112,82 \pm 877,4$ мг/мин/г ткани в контроле, т.е. уменьшалась в 1,3 раза. В содержимом тонкой кишки активность фермента составляла $20,0 \pm 0,7$ мг/мин/г ткани кишки у крыс опытной группы против $91,6 \pm 8,7$ мг/мин/г ткани у крыс контрольной группы. Снижение активности фермента в секретируемом соке поджелудочной железы было более выраженным (в 4,6 раза) по сравнению с активностью фермента в ткани органа под влиянием нитрата натрия. Неоднозначность уменьшения активности α -амилазы в содержимом кишечника и в ткани поджелудочной железы у интоксигированных крыс показывает, что параллелизм между секрецией и синтезом фермента в поджелудочной железе при нитратной интоксикации отсутствует.

Таким образом, нитраты и нитриты угнетают как синтез, так и секрецию ферментов поджелудочной железы. При этом репрессирующее влияние нитратов на секрецию фермента (активности фермента в содержимом тонкой кишки) более выражено по сравнению с воздействием его на синтез (активность фермента в ткани органа). Выявленное уменьшение активности фермента в ткани и, особенно, в кишечном содержимом согласуются с литературными данными в том, что задержка секреции фермента, при нитратной интоксикации, скорее всего, обусловлена деструктивными изменениями в ткани поджелудочной железы: спазмами сосудов, протоков, а также изменением тонуса миоцитов, приводящими к набуханию органа. Не исключено, что это обусловлено возможным канцерогенным воздействием нитратной интоксикации на поджелудочную железу.

БИОМАРКЕРЫ В ДИАГНОСТИКЕ И ИССЛЕДОВАНИИ ПАТОГЕНЕЗА ТУБЕРКУЛЕЗА

Шувалов Э.А., ¹Мукминов М.Н., ²Whelan С., ³Хисматуллина Н.А.

¹КФУ, Казань, Россия.

²Enfer Scientific, Нэйс, Ирландия.

³ФЦТРБ-ВНИВИ, Казань, Россия.

Ухудшение эпидемиологической ситуации по туберкулезу в России привело к росту инфицированности населения, в особенности детей (за 10 последних лет увеличилась в 2,5 раза и в настоящее время превышает в 10 раз аналогичный показатель в развитых странах). Ситуация в мире также остается напряженной.

Центральным положением новой стратегии ВОЗ, рассчитанной на период до 2015 года, объявлено продолжение интенсивных исследований в области туберкулеза. Персистирующие жизнеспособные микобактерии на протяжении всей жизни в зараженном организме являются постоянной угрозой развития заболевания. Иммунопатогенез при туберкулезе характеризуется этапностью и специфическим проявлением иммунного ответа. Используемые в настоящее время кожный туберкулиновый тест и γ -интерферон тест имеют ограниченную чувствительность, что связано со сложностью интерпретации результатов на фоне массовой вакцинации BCG, невозможностью различать активную и латентную инфекцию. Нами исследован ряд биомаркеров, обладающих иммуногенными свойствами при туберкулезной инфекции. Эксперименты на животных разных видов показали высокую диагностическую эффективность отдельных биомаркеров, а также их ценность в исследовании патогенеза. Мультиплексный иммуноанализ с использованием биомаркеров, обладающих высокой чувствительностью и специфичностью создает предпосылки создания тест-систем для диагностики, исследования патогенеза и проведения мониторинга туберкулеза как у отдельных инфицированных пациентов, так и населения в целом.

**РОЛЬ ГЕНОВ РЕПАРАЦИИ ДНК В РЕГУЛЯЦИИ
ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ ДРОЗОФИЛЫ В ОТВЕТ НА
ИЗМЕНЕНИЕ РЕЖИМОВ ОСВЕЩЕНИЯ**

Шостаков О.А., Москалев А.А., Данилов А.А

ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

Известно, что белки семейства GADD45 и транскрипционный фактор p53 играют ключевую роль в репарации ДНК и в ответе на различные виды стресса. Однако роль данных генов в регуляции продолжительности жизни в ответ на изменение режимов освещения ранее не изучалась.

Цель наших исследований заключалась в изучении роли генов dGADD45 и p53 в регуляции продолжительности жизни *Drosophila melanogaster* в ответ на изменение режимов освещения. В работе исследовали линию дикого типа Canton-S в качестве контрольной линии; линию dGADD45 – гомозигота по дефекту гена dGADD45 (генотип: $y^* w^*$; P{GawB}Gadd45NP0351) и линию p535A-1-4 – гомозигота по дефекту гена p53 (генотип: $y1 w1118$; p535A-1-4). Условия эксперимента. Особи исследованных линий были разделены по полу на 3 группы. Первая группа исследуемых линий содержалась в условиях стандартного 12 ч освещения при интенсивности 120-130 лк, вторая группа – в условиях постоянного освещения (24 ч, 120-130 лк), третья группа – в условиях световой депривации (24 ч темнота, 0 лк). Также проводили измерение суточной у дрозophil с разными генотипами при 12 ч, 24 ч и 0 ч режимах освещения на 14, 35 и 50 дни жизни.

Согласно нашим результатам особи с нарушением в генах репарации ДНК оказались более чувствительными к изменению длины светового дня и имели более выраженную разницу между продолжительностью жизни в темноте и на свету по сравнению с линией дикого типа Canton-S. При этом с увеличением длины светового дня (с 12 ч до 24 ч) наблюдалось ещё большее снижение продолжительности жизни на свету по сравнению с особями дикого типа. Полученные результаты указывают на опасность избыточного освещения и подтверждают важную роль исследуемых генов в регуляции продолжительности жизни в ответ на изменение длины светового дня.

Исследование суточной активности самцов и самок лабораторных линий дрозофилы при разных режимах освещения (24 ч, 12 ч, 0 ч) в возрасте 14, 35 и 50 дней жизни показал, что суточная активность зависит от генотипа, пола и возраста мух. Самцы более активны, чем самки. С возрастом наблюдается снижение суточной активности самцов и самок исследуемых линий. Изменение режима освещения (световая депривация или удлинение светового дня до 24 ч) приводит к десинхронизации суточной активности как самцов, так и самок исследуемых линий. При этом наиболее заметное нарушение ритмов активности наблюдается при круглосуточном режиме освещения.

**ДЕЙСТВИЕ ФРАКЦИЙ ЯДА NAJA OXIANA EICHWALD НА
АДФ-ИНДУЦИРУЕМУЮ АГРЕГАЦИЮ ТРОМБОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА**

Юзиков Э.С., Садыков Э.С., Шкинев А.В., Султаналиева Н.М.

Институт биоорганической химии им. акад. А.С.Садыкова АН РУз, Ташкент,
Узбекистан.

Яд кобры *Naja oxiana Eichwald*, единственного представителя элапидовых змей в регионе Центральной Азии – богатый источник фосфолипаз А2, нейро-, цито- и кардиотоксинов. Также в нем выявлены оксидаза L-аминокислот и гидролазы: гиалуронидаза, ацетилхолинэстераза, различные фосфатазы, в том числе нуклеотидаза (5'-НД), оксиагин и α -фибриногеназа. Сравнительных исследований действия компонентов яда кобры на PRP ранее не проводилось. При разделении яда на Superose-12 (0.05 М трис-НСl, рН 7.6, 4°C) было получено пять основных фракций (фр. I- V). Фр. I (высокомолекулярная) содержала оксидазу L-аминокислот и α -фибриногеназу; активностей ВАЭЭ и ФЛА2 не обнаружено. Фр. II-IV (компоненты с мол. массой 15-6.5 кДа) включали основную по массе часть яда: ФЛА2, нейро- и цитотоксинами. Фр. V (низкомолекулярная) образована пептидами разной мол.массы, определяется также незначительная активность ФЛА2.

PRP получали из крови здоровых доноров по стандартной процедуре, кинетику агрегации регистрировали общепринятым методом Борна. Яд (20 мкг) незначительно ингибировал агрегацию в присутствии АДФ (16.5±1.1%). При этом порядок добавления в среду изучаемых яда, фракций и/или АДФ, или преинкубация яда с АДФ не сказывались на эффекте. Фракции (по 20 мкг) в разной степени тормозили агрегацию Тб. Так, для фр. I степень ингибирования составила 52.8±3.91, II – 38.4±9.81, III – 23.3±3.83, IV – 12.0±3.35 и V – 22.7±7.52 соответственно. Компоненты фр. II-IV (чистые ФЛА2-I и -II и цитотоксин V''с-5, по 25 мкг) ингибировали АДФ-агрегацию соответственно на 34±1.02, 31±1.0 и 14±0.9%, т.е. оказали умеренное действие. Фр. I (20 мкг/мл) достоверно ингибировала АДФ-агрегацию; 3-минутная преинкубация фр. I с индуктором приводила к 100% торможению агрегации, что может быть связано с присутствием 5'-НД. На клетках рака груди в культуре было установлено противоопухолевое действие фр. I (гибель 74% клеток при 1 ч инкубации 100 мкг фр. I/6x10⁶ клеток), в связи с чем будет исследована биологическая активность ее индивидуальных компонентов.

Секция «БИОХИМИЯ»

БИОКОНВЕРСИЯ ЦЕЛЛЮЛОЗОСОДЕРЖАЩИХ СУБСТРАТОВ

¹Абдулжанова М.А., ¹Кистаубаева А.С.

¹ Казахский Национальный Университет имени аль-Фараби, Алматы, Республика Казахстан.

Дрожже-бактериальная конверсия целлюлозосодержащего сырья для животноводства в обогащенные микробным белком и пробиотиками кормовые продукты – путь повышения питательности кормов. Инструментом биоконверсии исходных субстратов является совместная твердофазная ферментация двумя группами микроорганизмов. Это бактерии рода *Bacillus* (продуценты целлюлозолитических ферментов и антимикробных субстанций), осуществляющие первый этап конверсии - осахаривание сырья. Вторая - специальные штаммы дрожжей - продуценты белка.

Целлюлозосодержащее сырье – пшеничные отруби, подсолнечный шрот и рисовую шелуху инокулировали суточной бульонной бактериальной культурой. Культивирование осуществляли при температуре 28-30⁰С в течение 10-ти суток. Эффективность ферментации, т.е. способность 12-ти штаммов рода *Bacillus* расти на твердых целлюлозосодержащих субстратах, оценивали по изменению содержания целлюлозы (клетчатки), гидролизуемой 80% H₂SO₄ и легкогидролизуемых полисахаридов (гемицеллюлоз), гидролизуемых 2% HCl.

В ходе исследования было установлено, что убыль целлюлозы и гемицеллюлозы в отрубях составляла 2-6 %, в рисовой шелухе - 7-10 %, в шроте подсолнечника – 5-9%. Было сконструировано 6 смешанных культур, использование которых увеличивало эффективность деструкции целлюлозы в 2-3 раза. Наиболее активные: *Bacillus licheniformis* G23+*Bacillus subtilis* NP-9, *Bacillus pseudomycolides* S-17+*Bacillus cereus* NP-1, *Bacillus cereus* G-7+*Bacillus subtilis* S-7, *Bacillus licheniformis* G-7+*Bacillus cereus* P-5 гидролизуют клетчатку твердых субстратов на 20- 25 %.

Затем субстрат инокулировали штаммами дрожжей, принадлежащих к родам *Candida*, *Saccharomyces* и *Pichia*. Самым продуктивным штаммом оказался штамм *Pichia guilliermondii* IS-5. Эти дрожжи способны расти на исходных субстратах до 8.8×10⁹ КОЕ/г в течение 3-х суток культивирования. Использование предварительной бактериальной конверсии увеличивает рост дрожжей в среднем на 25-30%.

Полученные результаты демонстрируют возможность поэтапной деградации растительного субстрата аэробными целлюлозолитическими бактериями рода *Bacillus* и нецеллюлозолитическими дрожжами *Pichia guilliermondii*, которые используют сахар, полученный путем бактериальной конверсии целлюлозы.

**ИЗМЕНЕНИЯ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ЭРИТРОЦИТОВ
ПРИ ДЕЙСТВИИ НАНОЧАСТИЦ КОЛЛОИДНОГО СЕРЕБРА IN VITRO**

Алесова Н.М., Кандрашкина Ю.С., Кузьмичева Л.В., Тютяев Е.В.

ФГБОУ ВПО Мордовский государственный университет им. Н.П.Огарева,
Саранск, Россия.

Изучали влияние наночастиц коллоидного серебра (НЧС) на эритроциты крови человека. Исследование проводили на крови больных острой пневмонией,

отягощенной анемией (взяли за контроль). Эксперимент выполнен в соответствии с требованиями этического комитета Мордовского государственного университета им. Н. П. Огарева. В эксперименте кровь человека инкубировали с НЧС (100 мг/мл) в течение 60 мин и 3 часов при комнатной температуре. Применяемое нами коллоидное серебро содержит частицы с радиусом 205 pm и концентрацией $0,9 \cdot 10^{-5}$ M. Контроль за состоянием морфологии эритроцитов производили при помощи метода лазерной интерференционной микроскопии (ЛИМ). Как показали наши исследования площадь эритроцитов и содержание в них гемоглобина в контроле составляет $145,002 \pm 23,369$ мкм² и $0,207 \pm 0,029$ мкг соответственно. Содержание МДА, продукта ПОЛ, и активность каталазы составляют $0,69 \pm 0,02$ мкМ/л и $19,20 \pm 1,56$ мкат/л. Сорбционная емкость клеток в пределах $21,57 \pm 2,01$ опт.ед. При инкубации крови с НЧС в течение 60 мин наблюдаются увеличение содержания гемоглобина в эритроцитах на 41% ($p < 0,05$).

Таким образом, НЧС приводят к стабилизации морфологических параметров клетки, которые проявляются в увеличении площади клеток и содержания в них гемоглобина. При этом нормализуются показатели в системе ПОЛ/АОА и сорбционной емкости клеток.

МНОГОКРАТНАЯ ГИПОТЕРМИЯ СНИЖАЕТ РИСК СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В МОЗГЕ

Астаева М.Д., Исмаилова Ж.Г.

ФГБОУ ВПО Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия.

Температура тела является важным фактором, определяющим постоянство скорости физиологических процессов – одно из важнейших условий жизнедеятельности организма. Проблема адаптации к холоду является одной из важнейших проблем современной биологической науки. Однако при гипотермии в тканях различных органов млекопитающего возникает опасность возникновения окислительного стресса – процесса, связанного с интенсификацией окислительно-восстановительных реакций и, соответственно, свободнорадикальных процессов. Для оценки интенсивности свободнорадикальных процессов в головном мозге при многократной умеренной гипотермии крыс нами были исследованы интенсивность окислительной модификации белков мембран синапсом по содержанию в них карбонильных групп и содержание восстановленного глутатиона в супернатанте после шока синапсом. Было обнаружено, что при гипотермии 30°C содержание карбонильных групп в белках мембран синапсом увеличивается более чем в полтора раза, что свидетельствует об активации образования активных форм кислорода. При гипотермии 20°C содержание карбонильных групп в белках мембран синапсом уменьшается по сравнению с гипотермией 30°C, но остается выше контроля, что является выражением защитной функции глубокой гипотермии. Гипотермия 30°C после многократной гипотермии приводит к снижению содержания карбонильных групп в мембранных белках на 22,5%. Гипотермия 20°C после многократной гипотермии существенного влияния на уровень карбонильных групп не оказывает. Снижение интенсивности окислительной модификации белков в синапсоме коры головного мозга крыс при многократной гипотермии, вероятно, связано с адаптацией к холодному воздействию, и увеличением антиоксидантной защиты организма. В связи с этим нами было исследовано содержание глутатиона в супернатанте после шока синапсом коры головного мозга крыс. Гипотермия 30°C не оказывает существенного влияния на содержание глутатиона, в то время

как при гипотермии 20°C содержание глутатиона в синапсосомах крыс увеличивается в 2,5 раза по сравнению с контролем. Гипотермия 30°C после многократной гипотермии приводит к повышению содержания глутатиона в синапсосомах как относительно гипотермии 30°C, так и относительно контроля. Гипотермия 20°C после многократной гипотермии приводит к увеличению содержания глутатиона в синапсосомах в 2,8 раз по сравнению с контролем. Таким образом, наши данные свидетельствуют о том, что многократная гипотермия снижает риск окислительного стресса в головном мозге крыс.

ОПТИМИЗАЦИЯ СТЕРОЛТРАНСФОРМИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ КЛЕТОК РОДОКОККОВ

¹Бажутин Г.А., ²Ноговицина Е.М.

¹ Пермский государственный национальный исследовательский университет

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

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

Установлено, что закрепленные на носителе родококки эффективно трансформируют 2 г/л β-ситостерола в условиях фосфатно-щелочного буфера (KH₂PO₄/NaOH, pH 7). При этом продолжительность процесса биотрансформации составляет 3 сут. Наиболее высокий (50%) уровень конверсии исходного стерола в стигмаст-4-ен-3-он достигается при использовании 10 единиц носителя (фрагменты ткани площадью 1 см²) с иммобилизованными клетками *R. erythropolis* ИЭГМ 487 в 50 мл буфера.

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

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

Боброва А.Е., Кристофферсен Й.Б

Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова, Украина.

Греческий центр морских исследований, г. Анависсос, Греция

Морские лиманы сочетают в себе черты морских, речных и земноводных сред. Микроорганизмы, которые обитают в лиманах играют важную роль во всех биогехимических циклах и формируют уникальную экосистему. В Одесской области расположено множество лиманов с различными речными стоками. Целью этого исследования было определить состав микробных сообществ в Хаджибейском, Сухом и Днестровском лиманах с помощью метагеномного 16S РНК анализа воды. Вода Хаджибейского, Сухого и Днестровского лиманов была впервые профильтрована с последующим выделением из нее тотальной ДНК и секвенированием для исследования бактериальных сообществ, которые населяют эти воды. Библиотеку клонов создавали с помощью ПЦР и использования специфических двух-индексных праймеров к V4 варибельному участку 16S гена. Секвенирование проводили на платформе Illumina Miseq. Биоинформативный анализ осуществляли в программе QIIME компьютерного обеспечения Bio-Linux. В результате было показано высокое бактериальное разнообразие среди исследуемых образцов. Распределение бактериальных сообществ различалось между лиманами. В Хаджибейском лимане доминировали представители филюма Proteobacteria, в то время как в Сухом и Днестровском лимане преобладали Cyanobacteria. Также идентифицированы Bacteroidetes, Actinobacteria, Planctomycetes и Verrucomicrobia во всех образцах. На таксономическом уровне «род» показано доминирование Acinetobacter, Actinobacteria, Rhodobacteraceae, Comamonadaceae, Flavobacterium, Pseudomonas, Marivita, Phaeobacter и др. в Хаджибейском лимане. В Сухом и Днестровском лимане преобладали Cyanobacteria., Actinobacteria, Planctomycetaceae, Spartobacteria и др. Большинство идентифицированных бактерий являются типичными обитателями морских сред и были описаны в других подобных исследованиях. Различия в бактериальных популяциях между лиманами были показаны путем построения UPGMA дерева и анализом бета-разнообразия, где образец Хаджибейского лимана располагался отдельно от Сухого и Днестровского лиманов.

СИНТЕЗ И ДЕГРАДАЦИЯ ЗАПАСНЫХ ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТОВ У БАКТЕРИЙ

Бурлуцкая Е.Ю.

Пермский государственный национальный исследовательский университет
Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия.

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

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

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

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

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

Ваньков П.Ю., Зиганшина ЭЭ., Зиганшин А.М.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия.

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

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

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

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

Верховский Р.А., Абалымов А.А., Глинская Е.В.

Саратовский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия.

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

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

Работа проводилась на базе кафедры микробиологии и физиологии растений биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. Сбор насекомых осуществляли в весенне-летний период 2014 г. с деревьев яблонь, растущих на дачных участках Саратовского, Хвалынского, Энгельсского и Пугачевского районов Саратовской области. Систематическое положение насекомых определяли по Blackman, Eastop (2006).

В ходе исследования было изучено 1600 особей тли. Идентификацию выделенных штаммов проводили по Определителю бактерий Берджи (2001).

В результате исследований из организма яблонной тли было выделено 18 штаммов бактерий. Видовой состав бацилл представлен следующими видами: *Bacillus bataviensis*, *B. lentus*, *B. funiculus*, *B. nealsonii*, *B. soli*, *B. horikoshii*, *B. clausii*, *B. niacini*, *B. pumilus*, *B. halodurans*, *B. oleronius*. В зависимости от времени и места сбора тли, количественный и качественный состав микроорганизмов тли изменялся. Индекс встречаемости изолированных штаммов варьировал в пределах 10 - 80%, индекс общности видового состава находился в пределах 12.5 – 54.5%. Для Саратовского и Хвалынского районов общими являлись виды *B. bataviensis*, *B. funiculus*, *B. halodurans*, *B. lentus*, *B. nealsonii*. Для Энгельсского и Пугачевского районов – *B. oleronius* и *B. clausii*. Таким образом, наши исследования показали, что организм яблонной тли является средой обитания для широкого круга сапрофитических бактерий рода *Bacillus*.

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

Войцеховская И.В., Аксёнов-Грибанов Д.В., Протасов Е.С.
Иркутский государственный университет, Россия.

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

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

БАКТЕРИИ РОДА ARTHROBACTER ИЗ РАЙОНА СОЛЕРАЗРАБОТОК ВЕРХНЕКАМСКОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ (ПЕРМСКИЙ КРАЙ)

¹Гагарских О.Н., ^{1,2}Корсакова Е.С.

¹ Пермский государственный национальный исследовательский университет

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

Бактерии рода *Arthrobacter* широко распространены в окружающей среде и являются типичными представителями микрофлоры почвенных экосистем. Род *Arthrobacter* включает 66 видов и входит в класс Actinobacteridae, порядок Actinomycetales, семейство Micrococcales. Известна способность артробактеров к разложению ряда природных ароматических, алифатических соединений и ксенобиотиков, поступающих в почву в результате промышленной деятельности человека. Цель работы - характеристика бактерий рода *Arthrobacter*, выделенных из загрязненных почв и отходов калийного производства (гг. Березники, Соликамск, Пермский край).

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

Работа поддержана грантом РФФИ-Урал №14-04-96048р_урал_а.

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЛЕЗНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС КАК МОДЕЛЬ СИНДРОМА СУХОГО ГЛАЗА

¹Ганчарова О.С., ²Манских В.Н.

¹НИИ физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского ФГБОУ ВПО Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова;

²Факультет биоинженерии и биоинформатики ФГБОУ ВПО Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия.

Слезный аппарат человека изучен достаточно скупо, в то же время его заболевания, в особенности синдром сухого глаза (ССГ), безусловно, представляют острую проблему современной офтальмологии. ССГ – патологическое состояние, возникающее при снижении качества и/или количества слезной жидкости, связанное с функциональной несостоятельностью слезной железы, в т. ч. вызванной возрастными изменениями в ней. Имеется множество

работ, посвященных моделированию ССГ на лабораторных животных. Многие известные способы получения сниженного потока слезы связаны с сужением протока слезных желез, хирургическим их удалением или даже обдуванием роговицы воздухом. Такие подходы не могут быть полезными для понимания процессов, происходящих в сенильной слезной железе.

Поэтому имеется недостаток в адекватных моделях спонтанных возрастных изменений слезной железы и интерес к старению слезного аппарата лабораторных животных. Целью работы было исследование возрастных изменений слезной железы крыс и оценка возможности использования их как модели ССГ человека.

В работе изучали экзорбитальные слезные железы самцов крыс линии Wistar разного возраста: от 3 мес до 24 мес (всего 40 животных), из SPF-вивария Пушкино и конвенционального вивария НИИФХБ. Проводили морфометрический анализ гистологических срезов желез, окрашенных гематоксилином и эозином и по методу Ван-Гизона. Железа молодых (трехмесячных) животных демонстрировала нормальное строение как паренхимы, так и стромы. Возрастные изменения стромы железы начинались с возникновения в 6 мес перидуктулярных воспалительных инфильтратов. К 24 мес. все крысы демонстрировали выраженную лимфоцито-макрофагально-тучноклеточную инфильтрацию интерстиция железы варьирующей тяжести. В окрашенных по Ван-Гизону препаратах оценивали уровень фиброза в железе; показали, что крысы в 15 мес демонстрируют периацинарный фиброз средней степени тяжести, кроме того, с возрастом значительно утолщается соединительнотканная капсула железы. Паренхима железы также демонстрировала яркие возрастные изменения.

Таким образом, с возрастом в слезной железе крыс возникает хронический продуктивный интерстициальный дакриoadенит с явлениями фиброза, вероятно, способный влиять на продукцию слезы. Подобные изменения появляются с возрастом в слезных железах человека, и рассматриваются как немаловажный компонент патогенеза ССГ. В этой связи возрастные изменения, свойственные слезной железе крыс, могут служить модельными для понимания проблемы сухого глаза.

БИОРАЗНООБРАЗИЕ МИКРОБНОЙ АССОЦИАЦИИ СМОРОДИНОВОЙ ТЛИ НА ТЕРРИТОРИИ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Гамидова Ф.Э.

Саратовский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия.

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

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

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

Pseudomonas включали по 2 представителя, остальные роды были представлены единичными видами.

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

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

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

Герасимова Ю. С.

Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина, г. Екатеринбург Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрыбина РАН, Пушино, Россия.

Аэробные метиловобактерии, использующие окисленные и замещенные производные метана (но не CH_4), широко распространены в природе и часто ассоциированы с растениями. Эти ассоциации постоянны и обусловлены тем, что с одной стороны, метилотрофы потребляют метанол, выделяемый растениями через устьица в окружающую среду, с другой стороны, стимулируют рост и развитие растений за счет биосинтеза фитогормонов и витаминов. Также одним из ключевых механизмов влияния бактерий на развитие растений является способность снижать уровень этилена за счет активности 1-аминоциклопропан-1-карбоксилатдезаминазы (АЦК-дезаминазы).

Этилен - один из основных фитогормонов, сверхпродукция которого в стрессовых условиях приводит к запуску программы преждевременного старения растений, опадению листьев и созреванию плодов. *Amycolatopsis methanolica* 239 – представитель филума Actinobacteria, одна из немногих грамположительных бактерий, обитающих в почве и использующих метанол в качестве ростового субстрата. В настоящее время уделяется особое внимание изучению АЦК-дезаминаз. Несмотря на то, что у многих бактерий обнаружена активность данного фермента, очищены и охарактеризованы только четыре.

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

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

Демидова Е.В.

Новосибирский государственный университет

По данным Росстата в России ежегодно регистрируется около 526 000 онкологических больных, и это чисто растёт. Одним из новых подходов к лечению рака является использование онколитических вирусов, в частности, вирусов семейства Adenoviridae. Мы работаем с аденовирусом человека 6-го серотипа (Ad6), имеющим хороший онколитический потенциал среди серотипов своей (С) и других серогрупп.

Цель данной работы – получение плазмиды, содержащей полный геном Ad6, для дальнейшего конструирования модифицированного аденовирусного штамма 6-го серотипа, обладающего более эффективными по сравнению с исходным штаммом онколитическими свойствами. Плазмиду, содержащую копию полного генома Ad6, получали путем гомологичной рекомбинации между плазмидой pAdEnds, содержащей начальный и конечный фрагменты генома Ad6, и геномной ДНК Ad6. Указанная плазида pAdEnds была сделана таким образом, чтобы «внешние» концы фрагментов были фланкированы сайтами рестрикции, не встречающимися в геноме Ad6, для последующих встройки/вырезания копии генома из плазмиды. pAdEnds линеаризовали по уникальному сайту рестрикции, расположенному на границе начального и конечного фрагментов, и трансформировали в клетки E.coli BJ5183 вместе с предварительно выделенной геномной ДНК Ad6.

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

**СПЕКТР АДАПТИВНЫХ МУТАЦИЙ ВИРУСА СЕНДАЙ ПРИ
КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК**

Зайнутдинов С.С.

Новосибирский государственный университет, Россия.

Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»

Существуют вирусы, обладающие выраженными онколитическими свойствами, например, вирусы болезни Ньюкасла и Сендай, а также некоторые штаммы вирусов кори, энтеровирусов и другие. Многие из них нарабатываются на куриных эмбрионах, однако препараты, полученные таким образом, могут вызывать аллергические реакции из-за присутствия большого количества куриного белка. Одно из решений проблемы – наработка вирусов на культурах клеток. Онколитические свойства штамма Moscow вируса Сендай изучались в Институте вирусологии им. Д. И. Ивановского РАМН и Онкологическом научном центре РАМН. В Москве в 1980–90-х гг. этот штамм применялся для терапии

безнадёжно больных людей со злокачественными опухолями. Культивирование штамма Moscow проводилось на куриных эмбрионах.

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

1. Все культуральные штаммы гетерогенны и представляют собой смесь нескольких клонов вируса.
2. Спектр мутаций отличается между штаммами, адаптированными к разным культурам клеток (293 и 4647), и достаточно сильно совпадает при независимых актах культивирования исходного вируса на одной культуре клеток (как для 293, так и 4647).
3. Наибольшая плотность мутаций наблюдается в генах поверхностных белков. С помощью реакции торможения гемагглютинации было показано, что эти мутации существенно изменяют антигенные свойства вируса. Полногеномная последовательность штамма Moscow вируса Сендай была депонирована в базе данных GenBank (KP717417.1).

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

¹Зиганшина Э.Э., ²Белостоцкий Д.Е., ¹Ильинская О.Н., ¹Зиганшин А.М.

¹ Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия.

² Институт органической и физической химии им. А. Е. Арбузова Казанского научного центра РАН, Россия.

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

Настоящая работа посвящена изучению влияния увеличения нагрузки по органике (НО) с 1.0 до 3.5 г л⁻¹сут⁻¹ при постоянном времени удерживания (35 суток) на развитие мезофильных анаэробных микробных сообществ, ответственных за переработку куриного помета как в отсутствие (Реактор 1), так и в присутствии цеолитов (Реактор 2) (с целью снижения концентрации аммония в субстрате). Структуру микробных сообществ оценивали методом пиросеквенирования генов 16S рРНК. В структуре микробных сообществ преобладали различные представители Bacteroidales и Methanobacterium sp. при умеренных значениях аммонийного азота и летучих жирных кислот (ЛЖК). Увеличение НО, сопровождающееся накоплением аммония и ЛЖК, приводило к преобладанию

представителей Erysipelotrichaceae, Clostridium и Methanosarcina. Члены рода Methanosarcina достигли относительного содержания в 94% в реакторе 1 и 57% в реакторе 2 к концу эксперимента (94 суток). Параллельно с увеличением концентрации аммонийного азота, ЛЖК и повышением pH наблюдалось уменьшение Synergistaceae и Crenarchaeota, а также увеличение членов Achleplasmataceae.

**ОБНАРУЖЕНИЕ АМИНОКИСЛОТНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ
ПОЛИНУКЛЕОТИДЛИГАЗ В БАЗЕ ДАННЫХ БЕЛКОВ МОРСКОЙ
ПЛАНКТОНИЧЕСКОЙ МИКРОБИОТЫ, ПОЛУЧЕННЫХ В РЕЗУЛЬТАТЕ
ЭКСПЕДИЦИИ SORCERER II GLOBAL OCEAN SAMPLING.**

Зимин Ф.А., Зимин А.А.

¹ Институт математических проблем биологии, РНА, Пущино, Московская область, Россия.

² Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им.Г.К.Скрябина РАН, Пущино, Московская область, Россия.

Мировой океан содержит сложное сообщество бактериальных вирусов – бактериофагов большинство из которых не охарактеризованы ни генетически, ни биохимически. Сравнительно недавно были опубликованы метагеномные исследования морской планктонической микробиоты, которые были охарактеризованы из морских поверхностных проб, полученных в результате экспедиции Sorcerer II Global Ocean Sampling. Эти пробы были взяты на протяжении нескольких тысяч километров, начиная от Северной части Атлантического океана, далее через Панамский канал и заканчивая Южной частью Тихого океана. Всего было проведено 7.7 миллионов определений последовательностей ДНК. В результате экспедиции и метагеномного исследования под названием Глобальный Океанический отбор Проб (Global Ocean Sampling (GOS)) было суммарно расшифровано последовательностей общей длиной 6.3 миллиарда пар оснований. Данные GOS содержат более 6 миллионов новых аминокислотных последовательностей, большей частью из морских бактерий. Наиболее часто встречаются геномы из пяти родов бактерий Prochlorococcus, Synechococcus, Pelagibacter, Shewanella, и Burkholderia. При этом три рода Prochlorococcus, Synechococcus, и Pelagibacter представлены 15% GOS-последовательностей. Эти метагеномные исследования расширяют знания о белках. Например, поиск новых последовательностей такого фермента как ELK-киназы показал трех кратное увеличение гомологичных этим ферментам аминокислотных последовательностей.

Полинуклеотидлигазы являются ключевыми ферментами репликации, рекомбинации и репарации ДНК, участвуют в процессинге различных РНК. Многие бактериофаги кодируют различные полинуклеотидлигазы. У классического объекта молекулярной генетики бактериофага Т4 известна одна ДНК-лигаза и две РНК-лигазы. Геном другого хорошо изученного бактериофага Т7 также кодирует ДНК-лигазу. В задачи данной работы входил поиск и анализ

новых аминокислотных последовательностей гомологичных полинуклеотидлигазам фагового происхождения. Для поиска гомологов были использованы хорошо охарактеризованные полинуклеотидлигазы, для которых проведены подробные структурные, биоинформационные или генетические исследования аминокислотных последовательностей.

Сходство аминокислотных последовательностей ДНК-лигазы фага T4 отряда Caudovirales с базой GLOBAL OCEAN SAMPLING. Мы описываем поиск и исследование гомологичных этим полинуклеотидлигазам аминокислотных последовательностей среди последовательностей полученных с помощью полимеразной цепной реакции из океанических проб. Этот анализ обнаружил более 140 новых последовательностей гомологичных ДНК-лигазе фага T4 (Myoviridae) в метагеномных данных полученных в ходе экспедиции «Sorcerer II» Глобального сбора океанических проб (Global Ocean Sampling (GOS)). Были обнаружены 4 полноразмерные, содержащие последовательность как центра активности, так и ДНК-связывающего домена АТФ-зависимых ДНК-лигаз, с высокой степенью сходства с ДНК-лигазой T4. У трех из этих последовательностей с помощью программы BLASTp было обнаружено сходство с фаговыми ДНК-лигазами ряда бактериофагов вибрионов и бацилл.

Сходство аминокислотных последовательностей РНК-лигаз фага T4 отряда Caudovirales с базой GLOBAL OCEAN SAMPLING. В ходе аналогичного анализа РНК-лигазы 2 фага T4 в океаначеской базе данных не было обнаружено гомологов. Можно предположить, что функция РНК-лигазы 2 фага T4 не характерна для океаначеского планктонного сообщества. В отличие от нее аминокислотная последовательность РНК-лигазы 1 фага T4 встречается в планктоне и может также, как и ДНК-лигаза принадлежать крупным Myoviridae.

Сходство аминокислотных последовательностей ДНК-лигазы фага T7 отряда Caudovirales с базой GLOBAL OCEAN SAMPLING. ДНК-лигаза фага T7, принадлежащего к семейству Podoviridae, не имеет гомологов в исследованных метагеномных данных и, видимо, как и РНК-лигаза 2 связана с наземными биотами. На основе проведенного анализа можно предположить наличие в океаническом планктоне новых крупных бактериофагов семейства Myoviridae, геномы которых кодируют обнаруженные последовательности полинуклеотидлигаз.

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

Зонов Е.В., Кочнева Г.В.

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор».

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

Мышам линии ICR прививали карциномы Эрлиха подкожно или внутривенно. После формирования опухоли мышам однократно

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

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

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ИСТОЧНИКОВ УГЛЕРОДА НА БИОТРАНСФОРМАЦИЮ 2,4,6-ТРИНИТРОТОЛУОЛА Ибрагимов Э.М.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия.

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

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

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

приблизительно на сходном уровне, что и на средах с глюкозой и глицерином, в то время как на средах с пропионатом и ацетатом данный процесс значительно замедлился.

БИОМАРКЕРЫ ОБЩИХ И ДНК-СВЯЗАННЫХ ЛИПИДОВ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНОЙ И ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНОЙ БАКТЕРИЙ

Ибрагимова М.Я., Шакирова Р.И., Жданов Р.И.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия.

Целью работы явилось выявление биомаркеров как общих, так и фракции прочносвязанных с ДНК липидов бактерий. ДНК-связанные липиды могут участвовать в передаче сигнала и составлять «липидный код» геномной ДНК.

Нами обнаружены биомаркеры жирнокислотного (ЖК) профиля общих липидов, характеристичные при изменении температуры и фазы роста для грамположительной (*B. subtilis* OSU 142) и грамотрицательной (*P. aurantiaca* Nakhimovskaya 1948) бактерий. Величина отношения 15:0антеизо/17:0антеизо представляет собой удобный маркер фазы роста штамма OSU 142. Предложено использовать в качестве биомаркера штамма *P. aurantiaca* и рода *Pseudomonas* соотношение содержания 16:0/18:1 ω 7с кислот.

Показано, что основными компонентами ЖК профиля ДНК-связанных липидов препарата геномной ДНК являются кислоты: 16:0, 18:0 и 10:0, а 11:0 2ОН, 13:1 и 13:0 2ОН являются минорными. Надмолекулярный комплекс (нк) ДНК, состоящий из четырех типов биомакромолекул, последовательно обрабатывали гидролизующими ферментами и проводили ЖК анализ липидной фракции. Гидроксикислоты 11:02ОН и 13:02ОН являются маркерами липидов, связанных с белками; ЖК 14:1 ω 5с - маркерами липидов, связанных с белками и РНК, а ЖК 15:1 ω 8с - липидов, связанных с ДНК.

Профиль ДНК-связанных липидов геномной ДНК *P. aurantiaca* изучен с использованием масс-спектрометрии (ESI-LC-MS/MS). Этим методом подтверждены данные ЖК профиля, полученные ранее методом GS-MS о содержании 16:0 и 18:1 кислот (фракция 1 - спирторастворимые липиды) и 14:0, 16:1 и 18:2 кислот (фракция 2 - ДНК-связанные липиды). Обе фракции ДНК-связанных липидов прокариот содержат фосфатидилсерин, фосфатидилглицерин и фосфатидилинозитол, в то время как сфингомиелин содержится только во фракции 1, а кардиолипин - лишь во фракции 2.

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

¹Иванов А.А., ²Люкманова Е. Н., ³Кондратов И. Г., ⁴Веремейчик Г. Н., ¹Мазейка А. Н., ¹Санина Н. М., ¹Костецкий Э. Я.

¹ Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток

² Институт биоорганической химии имени академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова, г. Москва, Россия.

³ Лимнологический институт СО РАН, г. Иркутск, Россия.

⁴ Биолого-почвенный институт ДВО РАН, г. Владивосток, Россия.

В связи с тем, что распространенность ВКЭ с каждым годом растет, как и смертность от него, а надежной вакцины однократного введения с

продолжительным протективным эффектом против этого недуга пока нет, возникает проблема разработки вакцины альтернативной существующей (цельновирионной). Такой альтернативой может послужить субъединичная вакцина с иммунологически-активным носителем, так как субъединичные структуры вириона, сами по себе, слабо иммуногенны.

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

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

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

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ ПИЩЕВАРЕНИЯ ТЕРМИТОВ РОДА *ANACANTHOTERMES* JACOBSON, 1904.

Искандаров А.И., Абдуллаев И.И., Рахимбаева Ф.Р.

Ургенчский государственный университет, Ургенч, Узбекистан.

Среди разнообразного мира насекомых термиты (*Isoptera: Hodotermitidae*) занимают особое место. Хотя биоразнообразие термитов не самое богатое по числу видов, но оно является одним из самых многочисленных по числу особей и представляет большую биомассу. Термиты на протяжении нескольких веков непрерывно наращивают свою численность и чрезмерно расширяют ареал обитания в природных условиях, экстремально вторгаясь в урбанизированные биогеоценозы и агроценозы. Они имеют исключительное негативное значение для человечества, как биологические разрушители сооружений (национального зодчества) и других объектов народного хозяйства.

Уникальность термитов связана еще и с тем, что они активно участвуют в почвообразовательном процессе в естественной среде их обитания. И, последний аспект этого таксона связан с его огромным влиянием на глобальный круговорот углерода и на концентрацию парниковых газов – метана и диоксида углерода – в атмосфере. Негативные последствия жизнедеятельности термитов – очевидны. Они выражаются как в социальном, так и экономическом планах.

Все животные (за исключением паразитов) в качестве основных питательных веществ используют набор определенных макромолекул или других сложных компонентов. Для того чтобы эти вещества могли участвовать в метаболизме, необходимо расщепить их до простых форм с помощью специальных ферментов. Ферменты, участвующие в пищеварении животных, в том числе и рассматриваемых насекомых, относятся исключительно к гидролитическому типу.

Общеизвестно, что макрокомпоненты пищи включают углеводы, белки, жиры и нуклеиновые кислоты. В ходе эволюции сформировался такой набор

пищеварительных ферментов, который способен расщеплять каждое из перечисленных веществ до простых единиц, всасываемых и включаемых затем в обмен веществ. У разных групп животных набор пищеварительных ферментов сильно варьирует, отражая сложный характер влияния адаптации к разным видам пищи и эволюционное происхождение. Специализация в выборе пищи – древесины и в пищеварительных способностях термитов рода *Anacanthotermes*, послужила предметом следующих исследований.

Одним из главных средств общего кормления называется трофаллакис или взаимный обмен содержимого кишечника между членами колонии. Трофаллакис также позволяет эффективно использовать питательные вещества, признанные членами колонии, распределение химических веществ, участвующих в кастовой регуляции и передачи целлюлозы переваривания простейших. Многие члены колонии термитов не могут прокормить себя, поэтому они полагаются на других членов колонии, чтобы кормить их. Такое поведение также облегчает передачу токсикантов, используемых в приманках и других инсектицидов.

Разнообразие морфологических и функциональных особенностей пищеварительной системы термитов связано с их пищевой специализацией. Рассматриваемые термиты питаются древесиной. Таким кормом питаются рабочие особи, личинки старших возрастов, нимфы младших возрастов. Солдаты, личинки младших возрастов и половые особи получают от рабочих уже частично обработанную пищу.

Слюна при этом является прямым участником обменных процессов, происходящих между особями различных каст. Учитывая, что первым гидролитическим барьером, которому подвергается пища, попавшая в полость рта термитов, - это секрет слюнных желез. Выявление участия ферментов слюнных желез различных каст в углеводном пищеварении термитов является целью исследования настоящего раздела.

В качестве фермента начальной стадии гидролиза целлюлозы определена активность экзоцеллюлазы. Оказалось, что экзоцеллюлаза участвует в переваривании пищевых полимеров у рабочих, нимф, но не солдат. Самая высокая активность экзоцеллюлазы отмечена у рабочих термитов. При этом у рабочих старших возрастов она была выражена больше, чем у рабочих младших. Экзоцеллюлазная активность у старших рабочих была в 1.5 и 3.0 раза выше, чем у младших рабочих и нимф соответственно.

Несмотря на то, что основной пищей термитов является целлюлоза, активность фермента, участвующего в начальных стадиях её расщепления, т.е. экзоцеллюлазы, была выражена в 10 - 20 раз меньше по сравнению с другой карбогидразой - α -амилазой, расщепляющей крахмал. Активность α -амилазы также имела кастовую специфичность. Её активность у рабочих младших возрастов, нимф и солдат по сравнению со старшими рабочими была в 1.5, 2.1 и 2.5 раза соответственно ниже. Активность ферментов карбоксиметилцеллюлазы и целлобиазы, участвующих в гидролизе продуктов целлюлозы, т.е. завершающих этапах её расщепления, отсутствовали вовсе. Мальтаза. Активность дисахаридазы, участвующей в гидролизе димера, образующегося при расщеплении крахмала, обнаружена у всех исследуемых представителей каст термитов. Кастовой специфичности при этом не было обнаружено.

Приблизительно такая же активность проявилась и у сахаразы, т.е. она была на одном и том же уровне у всех каст термитов. В отношении лактазы, которая участвует в переваривании молочного сахара, можно отметить лишь то, что она была почти в 2 раза больше активности других ферментов.

Слюнные железы большинства насекомых функционируют в тесной связи с органами питания, поэтому ферментный состав слюны зависит от пищевого режима насекомых. Слюнные железы не содержат симбионтов, все ферменты, обнаруженные в них, имеют собственное происхождение. В ряде работ показано, что экстракты желез рабочих термитов многих видов могут гидролизовать значительное число олиго- и полисахаридов, а также гетерозидов, однако в этих исследованиях не уделялось внимания другим кастам термитов.

Мы показали, что в слюнных железах *A. turkestanicus* имеются гидролитические системы, участвующие в начальной и конечной стадиях гидролиза углеводов.

Из полученных данных видно, что те ферменты, которые участвуют в начальных стадиях гидролиза макромолекул, а именно: α -амилаза и экзоцеллюлаза, у рабочих более выражены по сравнению с представителями других каст. Переваривание полимеров имеет кастовую выраженность и ослабевает ряду: старшие рабочие-младшие рабочие, нимфы, солдаты.

Ферменты, принимающие участие в конечных стадиях гидролиза углеводов, в слюнных железах термитов выражены неоднозначно. Гидролазы, завершающие расщепление целлюлозы (карбоксиметилцеллюлаза, целлюбиаза), отсутствуют. Между тем дисахаридазы, не расщепляющие продукты гидролиза целлюлозы: мальтаза, сахараза и лактаза, обнаруживаются. Возможно, последние участвуют в переваривании не только димеров естественной нищи термитов, но и частично переработанной микроорганизмами кишечника пищи, которая может попасть к ним при транзите её от термита к термиту при оральной или капрофагальной передаче.

Показано, что в слюнных железах, помимо наличия некоторой экзоцеллюлазной активности, проявляется достаточно высокая активность α -амилазы, а также некоторая активность таких дисахаридаз, как мальтаза, сахараза и лактаза, которые в переваривании основного пищевого компонента насекомых – целлюлозы не участвуют.

Это наводит на мысль о том, что в полости рта у термитов, имеет место гидролиз только легко расщепляемых продуктов, а более трудно гидролизующие, например, целлюлоза, скорее всего, подвергаются перевариванию в медиальных и дистальных отделах пищеварительного канала с участием симбиозных организмов. Ранее нами было показано, что в полости тонкой кишки активность ферментов – целлюлоз симбионтного происхождения, доминирует. Тем не менее, интенсивность пищеварительных процессов, более выраженная в ротовой полости старших рабочих, свидетельствует о том, что они являются не только фуражирами, но и особями и доминирующими в переработке пищи по сравнению с другими представителями семьи в конвейере трофоллаксиса.

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

Капустина Ю.М., Мороз И.В.

Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь.

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

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

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

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

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ИЗОЛЯТОВ РИККЕТСИЙ, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ

Карташов М. Ю., Тупота Н.Л., Москвитина Н.С., Терновой В.А., Микрюкова Т.П.,
Локтев В.Б.

Новосибирский государственный университет, Россия.

Томский государственный университет, Россия.

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

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

В исследование взято 305 собранных на флаг клещей (220 клещей вида *I. persulcatus* и 85 клещей вида *D. reticulatus*), а также 500 клещей (для исследования был предоставлен их гомогенат), снятых с людей. По результатам исследования методом ПЦР уровень зараженности риккетсиями клещей *I. persulcatus* составил $13,1 \pm 2,2$ %, для клещей *D. reticulatus* он составил $38,2 \pm 5,4$ %. Путем определения нуклеотидной последовательности фрагмента гена COI митохондриального генома клещей нам удалось восстановить видовую принадлежность клещей, снятых с людей: 52 % - *I. persulcatus*, 10 % - *I. pavlovskyi*, 37 % - *D. reticulatus*, в единичных случаях обнаружены клещи *D. sivarum*. Зараженность клещей *Ixodes*

spp., снятых с людей, составила $24,8 \pm 2,4$ %; клещей *Dermacentor* spp. – $37,5 \pm 3,4$ %. Генотипирование риккетсий проведено путем секвенирования фрагмента гена цитратсинтазы *gltA*. Показано, что в иксодовых клещах на этой территории циркулирует 4 вида риккетсий: *Candidatus R. tarasevichiae*, *R. raoultii*, *R. helvetica*, *R. sibirica*.

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

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ХЛОРИДА КАЛИЯ НА СОРБЦИЮ Н⁺ И ОН⁻ ИОНОВ НА ЖЕЛАТИНЕ, КАЗЕИНЕ И АЛЬБУМИНЕ

¹Кергенцев А.А., ²Новикова Ю.И., ¹Дмитриева И.Б.

¹ГБОУ ВПО Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия Министерства здравоохранения РФ; ²ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия.

Одним из важнейших параметров водных дисперсий белка является изоэлектрическая точка белка, в значительной степени определяющая свойства и структуру белков в водных растворах. Значение рН изоэлектрической точки рН_{ИЭТ} белка соответствует равенству нулю электрокинетического потенциала. Эту величину определяют из результатов электрокинетических исследований, изучением устойчивости дисперсий, зависимости степени набухания и вязкости от рН дисперсионной среды. Другой не менее важной характеристикой является значение точки нулевого заряда рН_{Тнз} белка, соответствующее равенству положительно и отрицательно заряженных активных центров в молекуле белка. Эту величину определяют из результатов адсорбционных измерений. На величину рН_{ИЭТ} и рН_{Тнз} влияет состав дисперсионной среды. Если в растворе отсутствуют компоненты, способные сорбироваться специфически на активных группах белка (специфическое взаимодействие – не простое кулоновское электростатическое взаимодействие), то значения рН_{ИЭТ} и рН_{Тнз} совпадают, в противоположном случае их значения могут сильно отличаться. Положение изоэлектрической точки белков в значительной степени влияет на процессы структурирование белков, а точка нулевого заряда белков отражает их способность взаимодействовать с компонентами в растворе (как с неорганическими, так и органическими электролитами).

Цель настоящего исследования состоит в изучении влияния хлорида калия на величину адсорбции ионов Н⁺ и ОН⁻ и рН_{Тнз} белков. В качестве объектов исследования выбраны три белка: альбумин, казеин и желатин. Адсорбция Н⁺ и ОН⁻ на белках изучалась методом потенциометрического титрования в диапазоне рН от 3,0 до 10,5 и при варьировании концентрации хлорида калия от $1 \cdot 10^{-3}$ до 1,0 моль/л. Титрование проводили в атмосфере азота для исключения влияния углекислого газа. Установлено, что рН_{Тнз} для всех изученных белков зависит от концентрации хлорида калия и не совпадает с их изоэлектрической точкой, что ионы, входящие в состав хлорида калия могут взаимодействовать с активными центрами молекул белков не только за счет простых электростатических – кулоновских сил, но и за счет иных сил, например, ван-дер-ваальсовых.

БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГЕПАТОСТЕАТОЗА ПРИ ОТСУТСТВИИ ЗАПАСОВ ВИТАМИНА А

Кобылянская О.Н., Шмарakov И.А.

Черновицкий национальный университет им. Юрия Федьковича, Черновцы,
Украина.

Среди патологий печени стремительно возрастает доля неалкогольного ожирения, в основе которого лежит нарушение транспорта, аккумуляции и метаболизма нейтральных жиров. Указанная патология выступает ключевым элементом развития метаболического синдрома, сопутствующим проявлением которого является инсулинорезистентность и развитие диабета 2 типа. Особо актуально раскрытие механизмов вовлечения природных биорегуляторов в развитие указанных процессов с целью применения полученных знаний в коррекции метаболических нарушений. В этом аспекте большое внимание привлекают ретиноиды (витамин А и его метаболиты), запасы которых прогрессивно утрачиваются при развитии патологий печени.

Цель работы установить особенности развития гепатостеатоза и инсулинорезистентности при отсутствии эндогенно депонированных ретинил эфиров. В эксперименте использовали мышей, нокаутных по гену лецитин: ретинолацилтрансферазы, ЕС 2.3.1.135 (Lrat^{-/-}), лишенных эндогенно депонированных ретинил эфиров. Гепатостеатоз вызвали путем содержания животных в течение 16 недель на высокожировой диете, обогащенной трансжирами и с высоким содержанием фруктозы. Результаты проведенных исследований показали, что у мышей дикого типа наблюдались классические признаки развития неалкогольного ожирения печени, а именно увеличение уровня триацилглицеролов печени на 35% и холестерина на 25%. Одновременно фиксировалось нарушение соотношения транспортных форм липидов, проявляющееся в возрастании уровня липопротеинов низкой плотности на 50% с одновременным увеличением уровня триацилглицеролов и общего холестерина на 50% и 30%, соответственно. У животных данной группы развивались признаки инсулинорезистентности, ее выражение в достоверно высоких показателях уровня глюкозы и замедлении темпов клиренса глюкозы, определенных в тесте толерантности к глюкозе. Повышенный уровень гликозилированного гемоглобина на 30% свидетельствовал о персистенности процессов, характеризующих развитие диабета 2 типа. Вместе с тем животные, лишенные эндогенно депонированных ретинил эфиров (Lrat^{-/-}), были резистентными к индукции неалкогольного ожирения печени при содержании на высокожировой диете. У животных данной группы исследуемые показатели не отличались от величин, характерных для животных, содержащихся на стандартной диете.

Таким образом, полученные результаты указывают, что эндогенно депонированные ретинил эфиры вовлечены в процессы развития неалкогольного ожирения печени и инсулинорезистентность.

ЦИТОТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ АМИНОНИТРОКСИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ПЛАТИНЫ (IV) НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ MCF7

Комлева Н.В., Балакина А.А., Лапшина М.А., Сень В.Д., Терентьев А.А.
ФГБУН Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка, Россия.

Противоопухолевые препараты на основе комплексов платины вызывают серьезные побочные эффекты, связанные с повышенным образованием активных

форм кислорода и окислительным стрессом. Поскольку, нитроксильные радикалы обладают антиоксидантными свойствами, актуальным направлением исследований является синтез и изучение противоопухолевой активности комплексов платины с нитроксильными радикалами различной структуры.

Целью работы являлось исследование цитотоксичности аминонитроксильных комплексов платины (IV) на опухолевых клетках MCF7 (аденокарцинома молочной железы человека). Были изучены аминонитроксильные комплексы платины (IV) с общей структурой $Pt(IV)(NH_3)(R\cdot NH_2)Cl_2X_2$, где $R\cdot NH_2$ – нитроксильный радикал, а X – аксиальные лиганды (остатки алифатических карбоновых кислот – уксусной, масляной, валериановой, капроновой и каприловой). В качестве препаратов сравнения использовали цисплатин и сатраплатин. Определение цитотоксичности комплексов платины проводили с помощью МТТ-теста через 72 часа инкубации с соединениями.

Обнаружено, что аминонитроксильные комплексы платины (IV) превосходят по цитотоксичности цисплатин. Показано, что сатраплатин и его структурный аналог с нитроксильным радикалом существенно не различаются по цитотоксичности. Выявлено, что удлинение аксиальных лигандов приводит к увеличению липофильности аминонитроксильных комплексов платины (IV) и значительному усилению их цитотоксических свойств. Следует отметить, что аминонитроксильные комплексы платины (IV) с разными нитроксильными радикалами не отличались по токсичности для опухолевых клеток.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ N-ТЕРМИНАЛЬНЫХ ТАГОВ НА АВТОУБИКВИТИНИРОВАНИЕ E3 УБИКВИТИН ЛИГАЗЫ ПАРКИН И ЕГО TV7 СПЛАЙС ВАРИАНТ

¹Крюкова М.В., ¹Тамаркин М.А., ¹Клушина Д.Д., ¹Лисов А.С., ¹Липкин А.В.,
^{1,2}Качалова Г.С.

¹ФГБУ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»;

²ФГБУН Институт биохимии им. А.Н.Баха РАН, Москва, Россия

В разнообразных клеточных процессах, таких как протеасомная деградация, эндоцитоз и репарация ДНК, используют в качестве сигнальной метки убиквитин для посттрансляционной модификации клеточных белков. Каталитический остаток цистеина E3 убиквитин лигаз, обеспечивает специфичность формирования тиозфирного интермедиата с целевым белком. RING E3 лигазы наиболее представительный класс, включающий почти 90% всех известных E3 лигаз. RING E3 лигаза - паркин, белок, кодируемый PARK2 геном, одним из 7 генов мутации которых приводят к нейродегенеративным нарушениям при наследственных формах паркинсонизма. Паркин классифицирован как новый субкласс RBR E3 лигаз семейства, в которых RBR мотиву из двух RING доменов, разделенных IBR (In-Between-Ring) доменом, предшествует еще один RING0 и убиквитин-подобный (Ubl) домены.

Установлено, что паркин способен убиквитинировать не только целевые клеточные белки, но и обладает также способностью к автоубиквитинированию. Показано, что в структуре нативного паркина, его N- терминальный Ubl домен может ингибировать автоубиквитинирование паркина. Представляет также интерес роль C-терминальных RING доменов в активности паркина, так как именно в этой области содержится наибольшее количество мутаций, выявленных при наследственных заболеваниях. Кроме того, поскольку исследования активности паркина в клетках *in vivo*, как правило, проводятся с использованием

рекомбинантного паркина, содержащего различные N-терминальные таги, важно также выяснить влияние размеров тагов и их структурной роли на автоубиквитинирующую активности паркина.

В данной работе приводятся описание генетически сконструированных рекомбинантных форм полноразмерного паркина, имеющих в качестве N-терминальных тагов глутатион-S глутатион (GST 26kD), мальтоза-связывающий белок (MBP 43kD) и бхHis (0.7kD). Для выявления структурной роли убиквитин-подобный домена и C- терминальных RING доменов паркина на его автоубиквитинирующую способность, получены также делеционные конструкции, содержащие те же N-терминальные таги с нуклеотидной последовательностью, кодирующей 80-293 аминокислотные остатки паркина, соответствующего TV7 сплайс варианту. Определена автоубиквитинирующая активность проэкспрессированных и очищенных рекомбинантных форм полноразмерного и делеционного вариантов паркина. Проведен сравнительные анализ активности полученных химерных рекомбинантных белков и паркин продуктов их протеолиза протеазами, соответствующими сайтам расщепления, включенным в конструкции между фьюжн белками.

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ СЕКРЕТИРУЕМОЙ ЛИТИЧЕСКОЙ ЭНДОПЕПТИДАЗЫ В БИОГЕНЕЗЕ ВЕЗИКУЛ *LYSOBACTER SP. XL1*

Кудрякова И.В., Сузина Н.Е., Цфасман И.М., Васильева Н.В.

ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.Скрябина
РАН, Пушкино, Россия.

Образование везикул является физиологической особенностью грамотрицательных бактерий. Несмотря на то, что к настоящему времени накоплено много экспериментальных данных относительно формирования (биогенеза) везикул разными таксонами бактерий, этот процесс до конца не понят. Грамотрицательная бактерия *Lysobacter sp. XL1* секретирует в культуральную жидкость пять бактериолитических ферментов (Л1-Л5). Ранее было показано, что фермент Л5 (эндопептидаза) попадает в окружающую среду посредством внешнемембранных везикул. Совокупность данных литературы, а также собственные экспериментальные результаты позволили предположить, что у одной бактерии образование везикул может происходить по нескольким механизмам, в одном из которых участвует секретлируемый белок Л5. Для подтверждения выдвинутого предположения препарат везикул, полученный из культуральной жидкости *Lysobacter sp. XL1*, был фракционирован в плотностном градиенте сахарозы.

В результате получено несколько фракций, которые охарактеризованы биохимическими методами и методом электронной микроскопии. Были выявлены две субпопуляции везикул: везикулы 30% фракции сахарозы диаметром 45-65 нм, содержащие белок Л5, и везикулы 35% фракции сахарозы диаметром 65 – 90 нм, не содержащие его. Кроме того, метод электрофореза в ПААГ показал, что исследуемые фракции отличны друг от друга и по спектру мажорных белков. Полученные данные могут свидетельствовать в пользу выдвинутого предположения о протекании биогенеза везикул *Lysobacter sp. XL1* по нескольким механизмам, в одном из которых участвует секретлируемая эндопептидаза Л5. Также был изучен фосфолипидный состав везикул и проведен сравнительный анализ с фосфолипидами внешних и цитоплазматических мембран *Lysobacter sp. XL1*, что позволило в целом охарактеризовать везикулы *Lysobacter sp. XL1*. На

основании полученных данных и данных литературы была предложена модель биогенеза везикул *Lysobacter* sp. XL1. Дальнейшее изучение этого процесса у *Lysobacter* sp. XL1 внесет вклад в понимание биогенеза везикул у грамотрицательных бактерий.

Работа поддержана грантом РФФИ №11-04-01937-а.

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ПЦР ДЛЯ ВИДОВОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ АКТИНОБАКТЕРИЙ РОДА RHODOCOCCLUS

¹Конев А.И., ²Серебренникова М.К.

¹ Пермский государственный национальный исследовательский университет

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

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

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

Работа выполнена в рамках Госзадания № 6.1194.2014/К Минобрнауки России.

ОСОБЕННОСТИ ТРАНССУЛЬФИРОВАНИЯ ГОМОЦИСТЕИНА В ГЕПАТОЦИТАХ КРЫС В УСЛОВИЯХ БЕЛКОВОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Копыльчук Г.П., Бучковская И.М., Островская Ю.К.

Черновицкий национальный университет имени Юрия Федьковича, Черновцы,
Украина..

Сегодня в центре внимания многих исследователей находится гомоцистеин (ГЦ) – новый фактор риска развития патологических состояний печени и сердечно-сосудистых заболеваний. Известно, что с повышением уровня гомоцистеина возникает дисбаланс между путями его продукции и утилизации. При этом

уровень гомоцистеина рассматривается как патогенетический фактор, приводящий к развитию гипергомоцистеинемии. Однако остается до конца невыясненным является гипергомоцистеинемия самостоятельным фактором риска или лишь следствием развития других патологических состояний.

Целью исследования было определить концентрацию гомоцистеина и активность ключевых ферментов транссульфирования – цистатионин- β -синтазы и цистатионин- γ -лиазы в плазме крови и гепатоцитах крыс в условиях алиментарной белковой недостаточности.

Установлено, что в условиях белковой недостаточности наблюдается повышение содержания гомоцистеина до 28,2 мкмоль/л, что приводит к развитию умеренной гипергомоцистеинемии. Известно, что ГЦ в плазме крови содержится преимущественно в трех формах, а именно свободный гомоцистеин, дисульфид ГЦ с цистеином (гомоцистин) и связан с белком, в частности с альбумином. Вероятно, что повышение концентрации гомоцистеина в плазме крови крыс за данных экспериментальных условий связано со снижением содержания его белковосвязанной формы, и одновременным увеличением содержания свободного ГЦ.

В то же время показано, что недостаток белка в пищевом рационе характеризуется нарушением функционирования ключевых звеньев транссульфирования гомоцистеина, что выражается снижением цистатионин- β -синтазной активности с одновременной активацией цистатионин- γ -лиазы в гепатоцитах крыс по сравнению с показателями контроля. Поскольку известно, что цистатионин- γ -лиаза принимает непосредственное участие в образовании водород сульфида в клетках печени, то, очевидно, что повышение активности данного энзима сопровождается увеличением уровня H_2S в гепатоцитах животных.

Таким образом избыточное образование водород сульфида в гепатоцитах крыс в условиях алиментарной недостатка протеина свидетельствует об активации десульфуразного пути преобразования гомоцистеина.

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

Коршунова И.О.

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

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

Бактериальный штамм *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 231 из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (акроним ИЭГМ, WDCM # 768; www.iegm.ru/iegmcol/strains) инкубировали в присутствии 20% н-гексана или циклогексана, либо 1% бутанола-1, этанола, ацетона или ацетонитрила в течение 1 сут. Суспензию родококков (ОП600 0,05) вносили в среду LB с добавлением растворителя и 10 мМ ортованадата натрия, или 0,025 мМ парокситина гидрохлорида, или 0,1 мМ фенил-аргинин β -нафтиламид (РА β N) дигидрохлорида в качестве ингибиторов. Растворители и ингибиторы эффлюксных насосов вносили в субингибиторных концентрациях. Инкубирование проводили на орбитальном шейкере при 28 $^{\circ}$ C и 160 об./мин в течение 7 сут, контролируя бактериальный рост путем измерения ОП600 каждые

6-12 ч. Парокситин практически полностью (на 99%) подавлял рост *R. ruber* ИЭГМ 231 в присутствии растворителей, что указывает на участие H⁺-зависимых эффлюкных насосов в формировании устойчивости родококков. Напротив, присутствие в среде ортованадата натрия и РАβN не оказывало ингибирующего воздействия на бактериальный рост клеток, так как Na⁺- и АТФ-зависимые насосы, по-видимому, не участвуют в выведении избытка растворителей из клеток родококков.

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

ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ И ХОЛЕСТЕРИН ЯДЕР ПЕЧЕНИ ПРИ ЗИМНЕЙ СПЯЧКЕ ЯКУТСКОГО СУСЛИКА

Лахина А.А., Маркевич Л.Н., Коломийцева И.К.
Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия.

Зимняя спячка млекопитающих (гибернация) – сезонная адаптация, которая обеспечивает выживание в неблагоприятных условиях окружающей среды – при низких температурах и в отсутствии пищи. У гибернирующих сусликов *Spermophilus undulatus* значительно (в сотню раз) снижен уровень физиологических и обменных процессов, что позволяет экономить энергетические ресурсы организма. Оцепенение (баут спячки) периодически прерывается состоянием нормотермии (интербаут, обычно на 1 - 2 дня), когда температура тела поднимается до 37°C. В период зимней спячки энергетический метаболизм зимоспящих млекопитающих сдвинут в сторону использования липидов взамен углеводов. Преимущественным источником энергии становятся продукты липолиза жиров - жирные кислоты. Жирные кислоты (ЖК) являются жизненно важными структурно-функциональными компонентами клеток. Они служат источником энергии, предшественниками всех классов липидов, а также сигнальными молекулами. ЖК, как и оксистеролы, выступают лигандами ряда мембранных рецепторов. При перегрузке клеток ЖК развиваются процессы деструкции мембран, активация воспалительных маркеров и апоптоз клеток. Зимоспящие млекопитающие обладают способностью длительно существовать при значительном увеличении количества ЖК в крови и возвращаться к нормотермии без вреда для клеток сосудов и других тканей. Показано, что адаптация многочисленных видов организмов к холоду сопровождается активацией десатураз ЖК, ростом уровня ненасыщенности ЖК цепей фосфолипидов и падением количества холестерина как факторов уменьшения вязкости мембран. Представляет большой интерес исследование количества ЖК кислот и холестерина ядер печени якутского суслика. Мы поставили своей задачей изучить соотношение нейтральных липидов (мкг липида на 1 мг белка) ядер печени якутского суслика в трех состояниях: летние, зимние спящие, зимние активные. Ядра печени получали методом дифференциального центрифугирования. В ядрах печени летних сусликов среди нейтральных липидов массовым липидом выступают ЖК, как и в ядрах печени, нейронов и тимуса крыс. В ядрах печени спящих сусликов было обнаружено увеличение количества жирных кислот более чем в 2 раза по сравнению с летними; количество ЖК у активных сусликов по сравнению со спящими уменьшается наполовину, возвращаясь к уровню летних. У гибернирующих сусликов количество холестерина было повышено также в два раза по сравнению с летними. Количество моно и диглицеридов – продуктов расщепления триглицеридов - было

увеличено в ядрах гибернирующих сусликов. Высокое количество ЖК и холестерина в ядрах гепатоцитов спящих сусликов свидетельствует об их важной роли в состояниях спячки и пробуждения. Таким образом, жирные кислоты, холестерин, моно и диглицериды ядер гепатоцитов принимают участие в фенотипической адаптации суслика *S. undulatus* к экстремальным условиям окружающей среды.

**ЗАВИСИМОСТЬ ЧИСЛЕННОСТИ СИМБИОТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ
WOLBACHIA В МОЗГЕ DROSOPHILA MELANOGASTER ОТ УРОВНЯ
ЭКСПРЕССИИ ХОЗЯИНОМ ГЕНА БЕЛКА ТЕПЛООВОГО ШОКА HSP67BС**

^{1,2} Малькеева Д. А., ² Жукова М. В., ² Киселева Е. В.

¹ Новосибирский государственный университет

² Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

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

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

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-04-08993.

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

Меликян А.А., Усубова Е.З.

Волгоградский государственный университет, Россия.

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

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

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

**ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ВЛИЯНИЯ МАТОЧНОГО
МОЛОЧКА ПЧЕЛ И Q-10 ПРИ АДРЕНАЛИНОВОЙ АРИТМИИ У КРЫС**

Морозов И.Д., Крылова Е.В.

ННГУ им. Лобачевского, институт биологии и биомедицины, кафедра биохимии и физиологии, Н.Новгород, Россия.

Среди проблем современной медицины одной из актуальных является профилактика и лечение сердечнососудистых заболеваний. Аритмии сердца являются одной из самых распространённых патологий. Это состояние может повлечь тяжелые последствия, вплоть до инфаркта. Поэтому важна профилактика аритмий. Для данной цели можно использовать маточное молочко пчел (ММ) и убихинон-10 (Q₁₀). Целью нашей работы было изучение эффективности применения маточного молочка и убихинона-10 при моделировании адреналиновой аритмии у крыс. Критериями эффективности препаратов были выбраны показатели реакции организма - содержание молекул средних масс (МСМ), уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) – содержание диеновых, триеновых конъюгатов и оснований Шиффа в плазме крови.

Исследование проводилось на 30 белых лабораторных крысах массой 150-200г, содержащихся в стандартных условиях вивария. Животные были поделены на 5 групп по 6 особей. Перед моделированием аритмии в 3-х опытных

Международная конференция молодых ученых
«Проблемы современной физико-химической биологии»

группах проводили, соответственно, скармливание маточного молочка в дозе 100мг/кг, убихинона-10 в дозе 15мг/кг и их комбинации, в течение 10 дней. Контролем служили крысы, у которых проводилось моделирование аритмии, но не получавших препараты. В ходе эксперимента было показано, что аритмия оказывает отрицательное воздействие на показатели крови подопытных животных и повышает показатель суммарной активности процессов перекисного окисления липидов (таблица 1).

Таблица 1

Содержания диеновых (ДК), триеновых конъюгатов (ТК) и оснований Шиффа (ОШ) в плазме крови крыс (отн.ед)

Показатели крови	ДК	ТК	ОШ
Группы			
Интактные	0.27±0.07	0.18±0.04	0.12±0.06
Контроль адреналиновая аритмия	1.35±0.05×	0.88±0.04×	0.64±0.03×
Опыт ММ + адреналиновая аритмия	0.75±0.27×*	0.57±0.12×*	0.39±0.08×*
Опыт Q ₋₁₀ + адреналиновая аритмия	0.68±0.33×*	0.44±0.23*	0.25±0.10*
Опыт ММ + Q ₋₁₀ + адреналиновая аритмия	0.53±0.07×*	0.27±0.05*	0.15±0.02*

Статистически значимые различия (p<0.05): * - по отношению к контрольной, × - к интактной группе.

В плазме крови крыс контрольной группы содержание диеновых конъюгат увеличилось в 5 раз, триеновых конъюгат - в 4 раза, оснований Шиффа - в 5 раз.

Не было выявлено выраженных изменений (показатели контрольной группы близки к интактным) содержания МСМ в плазме (таблица 2). Полагаем, что за время регистрации аритмии и эксперимента в целом (острый опыт) в крови подопытных животных картина эндогенной интоксикации, определяемая по концентрации МСМ, не успевает сформироваться. Отсутствие достоверных различий между данными групп контроля и опыта, указывает на то, что убихинон-10 и ММ в данных дозах не проявляют токсического эффекта на систему крови.

Таблица 2

Содержание МСМ (отн.ед.) в плазме (П) и эритроцитах (Э) крови крыс

Группа исследуемых животных	Интегральный показатель		Катаболический пул	Анаболический пул
	П	Э		
Интактные	П	4.48±0.57	0.71±0.25	3.49±0.28
	Э	20.10±1.17	6.12±0.39	11.41±0.72
Контроль адреналиновая аритмия	П	6.67±0.71	1.17±0.26	5.01±0.44
	Э	22.26±0.72	7.31±0.38	12.25±0.36
Маточное молочко адреналиновая аритмия	П	6.70±1.12	1.35±0.26	5.03±0.68
	Э	16.98±2.00	5.07±0.93	9.67±0.92
Q - 10 адреналиновая аритмия	П	4.99±0.86	0.94±0.36	3.82±0.48
	Э	17.71±0.78	5.22±0.45	10.34±0.63

(ММ+Q-10) адреналиновая аритмия	П	7.90±1.15	2.22±0.60	5.13±0.53
	Э	20.97±0.92	6.96±0.40	11.41±0.46

Предварительное скармливание маточного молочка, убихинона и их комбинации привело к снижению интенсивности свободнорадикальных процессов и приближению их к уровню у интактных животных. Выявлено, что на фоне адреналиновой аритмии показатели содержания продуктов ПОЛ снизились, по сравнению с контролем, в группах с ММ, Q₋₁₀ и ММ+Q₋₁₀: концентрация диеновых конъюгат - на 55%, на 50,3%, и на 39%, соответственно; триеновых конъюгат – на 64,7%, 50% и на 30,6%, соответственно, и оснований Шиффа - на 60%, на 39% и на 23%, соответственно.

Следовательно, маточное молочко пчел и убихинон Q₋₁₀ проявляют антиоксидантные свойства в качестве протекторов аритмических повреждений.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК ПУПОВИННОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА EX VIVO РЕКОМБИНАНТНЫМИ АДЕНОВИРУСАМИ

¹Патрушев Ю.В., ¹Соловьева В.В., ¹Салафутдинов И.И., ²Исламов Р.Р.,

¹Ризванов А.А.

¹К(П)ФУ, Россия.

²КГМУ, Казань, Россия.

Современные терапевтические стратегии для лечения нейродегенеративных заболеваний различной природы предполагают трансплантацию клеток и доставку терапевтических генов, продукты которых сдерживают развитие патологических проявлений и стимулируют регенерацию. Одним из перспективных типов клеток для биомедицинских приложений являются мононуклеарные клетки пуповинной крови человека. В пуповинной крови присутствуют стволовые клетки, являющиеся источником многочисленных ростовых и трофических факторов и способные давать начало специализированным клеткам разных тканей и стимулировать ангиогенез. В основе терапевтического эффекта мононуклеарных клеток пуповинной крови лежит их естественная способность к направленной миграции в очаги воспаления и дегенерации. В повреждённых тканях организма, стволовые клетки способны к дифференцировке в различные типы клеток, замещающие клетки, погибшие в результате патологических процессов. Не менее важным аспектом является то, что стволовые клетки секретируют множество трофических и протекторных факторов, повышающие выживаемость резидентных клеток ткани посредством паракринной стимуляции. Цель работы — генетическая модификация мононуклеарных клеток пуповинной крови человека репликационно-дефектными аденовирусами Ad5- VEGF121 и Ad5-EGFP. В рамках цели данной работы поставлены следующие задачи:

1. Выделение мононуклеарных клеток пуповинной крови человека (hUCB-МС);
2. Генетическая модификация выделенных hUCB-МС рекомбинантными аденовирусами Ad5-VEGF121 и Ad5-EGFP;
3. Количественный анализ экспрессии мРНК гена *vegfl121* в трансдуцированных клетках hUCB-МС.

В ходе работы в градиенте плотности фиколла с помощью центрифугирования были выделены мононуклеарные клетки пуповинной крови человека. Затем с

помощью рекомбинантных вирусов Ad5-EGFP и Ad5- VEGF121 была проведена генетическая модификация выделенных клеток. При этом эффективность вирусной трансдукции подтверждена с помощью флуоресцентной микроскопии. В заключение работы была проведена количественная оценка экспрессии мРНК гена *veg121*. В результате показано увеличение уровня экспрессии мРНК гена *veg121* по сравнению с нетрансфицированными клетками в более чем 10000 раз.

ЛИГНИНДЕГРАДИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ АЗОСПИРИЛЛ

Петров С.В., Купряшина М.А.

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

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

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

ОЦЕНКА УРОВНЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА У ДЕТЕЙ БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1 ТИПА

Пешкова А.Д., Ле МиньЖ., Невзорова Т.А.

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

В настоящее время сахарный диабет (СД) является одной из важных проблем мировой биологии, медицины и здравоохранения. Патогенез СД 1 типа – сложный многоэтапный процесс, на сегодняшний день его считают классическим аутоиммунным заболеванием, в основе которого лежат генетические факторы и

факторы внешней среды. Некоторыми авторами показано, что важная роль в патогенезе СД 1 типа принадлежит активации процессов свободнорадикального окисления. При данном состоянии нарушается баланс между прооксидантами и антиоксидантами, что может привести к выработке в чрезмерном количестве активных форм кислорода (АФК).

Тем не менее, механизм, который может спровоцировать окислительный стресс (ОС) при СД 1 типа, до конца не изучен. Вероятно, увеличение уровня АФК и развитие ОС может являться не только причиной, но и показателем, свидетельствующим об инициации

патологических процессов. Цель данной работы: характеристика окислительного стресса у детей больных сахарным диабетом 1 типа на разных этапах заболевания. Объектами исследования являлись сыворотки крови детей больных СД 1 типа, любезно предоставленные Селищевой А.А. НИИ Морфологии человека РАМН, АНО «Институт биомедицинских проблем» г. Москва. Сыворотки в трех разных группах с разными историями заболевания: I группа – СД 1 типа от первично выявленных до 1 года; II группа – СД 1 типа от 1 года до 10 лет; Контрольная группа – условно здоровые доноры.

Для оценки ОС применялись биохимические, спектрофотометрические и колориметрические методы анализа. У детей, болеющих менее 1 года СД 1 типа, достоверно повышена активность каталазы и составляет 366 мкмоль/мин по сравнению с активностью каталазы в норме (14 мкмоль/мин).

У больных СД 1 типа на поздней стадии заболевания в сыворотке крови достоверно повышено содержание каротиноидов и составляет 193 мг/мл по сравнению с нормой (44,06 мг/мл). У больных СД 1 типа с длительной историей заболевания (более 1 года) достоверно повышено количество триеновых конъюгатов и составляет 0,73 мг/мл по сравнению с нормой (0,51 мг/мл). У детей, болеющих СД 1 типа менее 1 года и с длительной историей заболевания (более 1 года) достоверно повышена активность супероксиддисмутазы составляет 751,24%/мг и 461,78%/мг соответственно, по сравнению с нормой (224, 1%/мг).

ОСОБЕННОСТИ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ОРГАНИЗМЕ СЫЧА ВОРОБЬНОГО (GLAUCIDIUM PASSERINUM L., 1758)

Пудовкин Н.А., Смутнев П.В.

ФГБОУ ВПО Саратовский государственный аграрный университет им.
Н.И.Вавилова, Саратов, Россия.

Активные формы кислорода (АФК) являются нормальными метаболитами обменных процессов и выполняют определенную физиологическую роль в функционировании клетки. Но при определённых состояниях АФК начинают проявлять свою реакционную способность, связанную с токсической окислительной деструкцией белков, липидов и др. Исходя из этого, изучение процессов перекисного окисления липидов в организме является актуальной задачей. Объектом исследований был выбран Воробьиный сыч - *Glaucidium passerinum*, (Linnaeus, 1758).

Определение содержания малонового диальдегида проводили тиобарбитуровым методом. Антиоксидантную обеспеченность организма оценивали по активности фермента каталазы в сыворотке крови и гомогенатах тканей. В ходе проведенных исследований было установлено, что концентрация малонового диальдегида (МДА) в ткани печени составила $8,033 \pm 0,012$ нмоль/г, относительно низкое

содержание МДА в можно объяснить тем, что в норме в митохондриях печени нарабатывается около 0,2 нмоля $O_2^{\bullet-}$ /мин/мг белка. За счет действия Mn-зависимой супероксиддисмутазы и пероксидазы содержание O_2 и H_2O_2 поддерживается на низком уровне. В миокарде исходное содержание МДА составило $12,830 \pm 0,011$ нмоль/г. относительно высокое содержание МДА в миокарде можно объяснить интенсивными обменными процессами, протекающими в данном органе. В мышцах концентрация МДА составила – $6,166 \pm 0,045$ нмоль/г. Мышцы являются одними из основных ловушек активных форм кислорода, которые образуются как продукты окислительно-восстановительных реакций ферментативной и не ферментативной природы. В желудочно-кишечном тракте концентрация МДА составила $8,233 \pm 0,061$ и $11,761 \pm 0,012$ нмоль/г в желудке и кишечнике соответственно.

Каталаза является гемопротеином, катализирует реакцию расщепления H_2O_2 . В печени активность данного фермента составила $98,541 \pm 2,012$ ммоль/л. Антиоксидантная система этого органа выделяется высокой эффективностью всех своих компонентов. Такие уровни активности каталазы свидетельствуют о том, что в гепатоцитах процессы ПОЛ протекают с высокой интенсивностью, а указанным ферментам принадлежит ключевая роль в АО защите данного органа. В мышцах активность каталазы равнялось $44,231 \pm 1,023$ ммоль/л. Такой уровень активности связан, возможно, с невысоким, по сравнению с другими исследованными органами, содержанием липидов, но при этом низкое содержание МДА может объясняться и относительно высокой активностью каталазы. Исходная активность фермента в мышце сердца равнялось $33,156 \pm 1,333$ ммоль/л. В желудочно-кишечном тракте активность каталазы составила $44,362 \pm 1,045$ ммоль/л и $47,201 \pm 1,054$ ммоль/л в желудке и кишечнике соответственно.

Таким образом, самая высокая активность фермента каталазы и содержание малонового диальдегида отмечено в ткани печени, что является закономерным процессом с точки зрения функциональных особенностей данного органа.

ПРИМЕНЕНИЕ НАНОРАЗМЕРНЫХ БИОАКТИВНЫХ ИМПЛАНТАНТОВ ПРИ ПЕРЕЛОМАХ КОСТИ

¹Попов В.П., ²Дружинина Т.В., ²Каменчук Я.А., ¹Завадовская В.Д.,
¹Акбашева О.Е., ¹Фомина С.В.

¹ГБОУ ВПО СибГМУ МЗСР России, Томск, Россия.

²ФГУП «ЭПМ» ФМБА России, Москва, Россия.

Изучали влияние наноразмерных биоактивных покрытий на процессы резорбции и синтеза костной ткани у больных с переломами длинных трубчатых костей, по сравнению с традиционными биоинертными титановыми пластинами (БИП). Рельеф биоактивного покрытия (БАП) на микро-наноразмерном диапазоне состоит из глобул диаметром около 1 мкм, высотой 35 нм и чешуйчато-осколочных фрагментов, формирующих субмикросферолиты с диаметром до 5 мкм и высоту до 300 нм, в центре которых и между ними располагаются сквозные поры диаметром менее 1-2 мкм, достигающие до металлической подложки. Предполагается, что благодаря такой микроархитектонике, БАП проявляют биомедицинские свойства, в том числе и способность влиять на процессы костеобразования. Биоактивные нанопокрывтия использовали при лечении переломов у 82 больных, традиционные биоинертные пластины из титана – у 100 больных. Исследуемые группы были сопоставимы по возрасту, полу и локализации переломов. Ультразвуковую остеометрию проводили через 60, 90,

120, 180 дней после операции. В соответствии с рекомендациями ВОЗ, диагностика нормы, остеопении и остеопороза осуществлялась при помощи Т-критерия. Дополнительно изучали биохимические маркеры резорбции и синтеза кости. Показано, что имплантаты с БАП, начиная с первых дней после их установки, увеличивают минеральную насыщенность костной ткани в ходе сращения перелома, повышают содержание кальция и остеокальцина – показателей синтеза костной ткани и снижают содержание CrossLap. В отличие от биоактивных пластин, биоинертный вариант на костного остеосинтеза сопровождается достоверным, прогрессивным накоплением в крови маркера резорбции кости (CrossLaps), снижением концентрации кальция, что характерно для замедленного течения консолидации, либо ее отсутствия. Системный остеопенический синдром выявлен у 59,0% оперированных лиц с применением БИП, против 35,4% больных с имплантированными БАП. Через 4-6 месяцев после операции у 44,0% пациентов с БАП минеральная плотность костной ткани соответствовала норме, в то время как в группе с БИП доля таких больных составила лишь 10,0%. Количество локальных изменений кости увеличилось в группе с БИП с 19% до 30%. При БАП доля таких случаев, напротив, снизилась с 36,6% до 12,0%. Полученные результаты свидетельствуют о преимуществе оперативного вмешательства с применением наноконструкций, по сравнению с биоинертными имплантатами.

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

Протасов Е.С., Войцеховская И.В., Аксенов-Грибанов Д.В.
Иркутский государственный университет, Россия.

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

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

МИКРООРГАНИЗМЫ В СОЛЯНЫХ ПОРОДАХ ВЕРХНЕКАМСКОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ (ПЕРМСКИЙ КРАЙ)

¹Пьянкова А.А., ²Карташова Ю.А.

¹ Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия.

² Пермский государственный национальный исследовательский университет

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

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

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

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ-Урал № 14-04-96048.

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОТЫ ЖЕЛЧИ ПРИ ИНВАЗИИ OPISTHORCHIS FELINEUS

Салтыкова И.В., Петров В. А., Логачева М. Д., Иванова П. Г., Огородова Л. М., Н. В. Мерзликин, П. Дж. Бриндли, А. Э. Сазонов

Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Россия.

Национальный исследовательский Томский политехнический университет

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова

Университет Джорджа Вашингтона, г. Вашингтон, США.

Описторхоз – природно-очаговый гельминтоз, вызываемый печеночными сосальщиками рода *Opisthorchis*. Известно, что при паразитарных инвазиях возможны изменения в составе микробиоты пораженного участка тела, что потенциально оказывает влияние на состояние здоровья. Ранее были

охарактеризованы изменения в композиции микробиоты желчи при инвазии *Opisthorhis viverrini* на экспериментальной модели описторхоза у животных.

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

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

АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ СТРАТЕГИИ АДАПТАЦИИ БАКТЕРИЙ В УСЛОВИЯХ ГОЛОДА

Сергеева Ю.П., В. Ю. Горшков, А. Г. Даминова, Ю. В. Гоголев
Казанский (Приволжский) федеральный университет
Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Россия.

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

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

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

своего физиологического состояния бактерии способны реализовать разные стратегии адаптации к голоду.

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

**ПЕРВИЧНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СЕМЕЙСТВА СУР74 ПЛАУНКА
SELAGINELLA MOELLENDORFFII**

Смирнова Е.О., Горина С.С., Мухтарова Л.Ш., Топоркова Я.Ю., Гоголев Ю.В.,
Гречкин А.Н.

ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань, Россия.

В регуляции ответа растений на стрессовые факторы важная роль принадлежит ферментам липоксигеназной сигнальной системы, включающим цитохромы P450 семейства СУР74 – алленоксидсинтазы (АОС), гидропероксидлиазы (ГПЛ) и дивинилэфирсинтазы (ДЭС). Среди них дивинилэфирсинтазы остаются наименее изученными. Охарактеризованные ферменты, в основном, принадлежат растениям семейства пасленовые и утилизируют 9-гидроперекиси жирных кислот. Охарактеризованы только две 13-специфичные дивинилэфирсинтазы чеснока и льна. Однако имеются сведения о присутствии дивиниловых эфиров в растениях разных таксонов. Среди двудольных это представители семейства лютиковые, а среди однодольных это представители семейства ирисовые и спаржевые.

Плаунок *Selaginella moellendorffii* является в своем роде уникальным объектом, поскольку в тканях этого растения в норме встречается большое разнообразие дивиниловых эфиров, а в геноме содержится 6 генов, предположительно кодирующих дивинилэфирсинтазы. Они обладают небольшой степенью сходства с представителями известных подсемейств СУР74, вследствие чего их отнесли к новым подсемействам СУР74К, СУР74М, СУР74М. Гены ферментов СУР74М1, СУР74М2 и СУР74М3 были клонированы, соответствующие ферменты охарактеризованы. Они представляют собой не сходные изоформы, катализирующие образование одной группы продуктов, а четко различающиеся ферменты, ответственные за образование широкого спектра дивиниловых эфиров, структура которых определена с помощью ГХ-МС, ЯМР и УФ-спектроскопии. Значение такого разнообразия образуемых дивиниловых эфиров для жизнедеятельности растения еще предстоит выяснить.

Работа поддержана грантами РФФИ 14-04-01140-а, 15-04-97087-р, 14-04-01532-а и 12-04- 97059-р, МК-4886.2013.4 и ВНШ-1890.2014.4.

**ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ
АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ ИЗ КУЛЬТУРЫ LACTOBACILLUS
PLANTARUM 8РА-3**

Соболева А.В., Колобов А.А., Гришина Т.В.

ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия.

Профилактика и терапия заболеваний, вызываемых патогенными микроорганизмами, является одной из важнейших задач современной медицины. Антимикробные пептиды пробиотических лактобактерий можно рассматривать в качестве потенциальных антибактериальных и противогрибковых лекарственных веществ, перспективных для последующего создания медицинских препаратов. Секвенирование генома промышленного пробиотического штамма *Lactobacillus*

plantarum 8PA-3 выявило наличие локуса, отвечающего за синтез двух бактериоцинов EF и NC8.

В работе охарактеризован спектр молекулярных масс пептидов, обладающих антимикробной активностью, выделенных из культуры *Lactobacillus plantarum* 8PA-3. Экстракцию низкомолекулярных бактериоциноподобных пептидов проводили из культуры *Lactobacillus plantarum* 8PA-3 препаративными методами: кислотная экстракция пептидных фракций раствором 5% уксусной кислоты и ультрафильтрация через фильтры 10 кДа и 1 кДа. Фракционирование группы низкомолекулярных полипептидов осуществляли хроматографическими методами, такими как катионообменная хроматография и обращенно- фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография на хроматографе АКТАexplorer 10S. Хромато-масс-спектрометрический анализ производили на приборе LC/MS Agilent Tehnologies. В процессе хромато-масс-спектрометрического анализа полученной ранее фракции антимикробных пептидов с молекулярной массой до 10 кДа было показано наличие множества однозаряженных компонентов белковой низкомолекулярной матрицы (масса/заряд 300-750), входящей в состав питательной среды MRS, а также присутствие относительно высокомолекулярных пептидов с молекулярной массой: 2946,7 Да; 3784,2 Да; 3883,9 Да; 3896,2 Да; 3900,0 Да; 4611,1 Да; 5454,9 Да и 6280,4 Да.

Несмотря на наличие высокой антимикробной активности полученной фракции низкомолекулярных пептидов из культуры *Lactobacillus plantarum* 8PA-3, спектр молекулярных масс пептидов, охарактеризованных с помощью хромато-масс-спектрометрического анализа, не соответствуют массам предсказанных бактериоцинов.

Работа выполнялась в рамках гранта НИР СПбГУ Ф-№0.37.123.2011. «Морфофизиологические и биохимические аспекты антимикробного воздействия бактериоцинов».

ОСОБЕННОСТИ СУБЪЕДИНИЧНОГО СОСТАВА РАЗНЫХ ФОРМ ПРОТЕАСОМ, ВЫЯВЛЕННЫЕ МЕТОДАМИ НАТИВНОГО И ДВУМЕРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

Степанова А.А., Ерохов П.А., Шарова Н.П.

ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К.Кольцова РАН, Москва, Россия.

Нативный электрофорез является мощным инструментом анализа четвертичной структуры таких крупных белковых комплексов, как протеасомы, однако существует ряд факторов, которые ограничивают применения этого метода. Наличие ДНК сильно ухудшает разрешение белковых полос при нативном электрофорезе. Целью работы являлся поиск оптимального метода проведения нативного и двумерного электрофорезов для анализа субъединичного состава протеасом.

Образцами служили осветленные гомогенаты печени крысы, из которых разными способами удаляли ДНК: ферментативным гидролизом, осаждением анионитами. Для удаления ДНК осаждением были синтезированы поликатионы на основе инулина, активированного периодатом, с разной плотностью посадки спермидина или спермина (Сд-Ин и Сн-Ин, соответственно). Другой анионообменник, использованный в работе, - DEAE-Sephacel. Сохранение активности протеасом определяли по гидролизу флуорогенного субстрата Suc- LLVY-AMC, качество полученного образца оценивали в ходе электрофореза в 1% агарозе (100 мМ Трис-НС1 рН 7.5, 5 мМ ЭДТА) и градиентном (3.5-12%) полиакриламидном геле (50 мМ

бис-трис-глицин рН 8.0, 5 мМ ЭДТА). Затем с дорожек первого направления проводили электрофорез в присутствии додецилсульфата натрия, после которого методом иммуноблоттинга выявляли субъединицы протеасом.

Проведение ферментативного расщепления нуклеиновых кислот приводит к быстрому падению активности протеасом, поэтому этот метод не может быть использован для подготовки образцов к проведению электрофореза протеасом. Спермидин-инулин с определенной плотностью посадки групп позволяет очистить осветленные гомогенаты тканей от нуклеиновых кислот, но значительно ухудшает разрешение белковых полос при нативном электрофорезе за счет связывания с белками и формирования агрегатов. Осаждение нуклеиновых кислот с помощью DEAE-Sepharose приводит к улучшению разрешения белковых полос и позволяет сохранить активность образца. Разработанные нами методики подготовки образцов и проведения нативного электрофореза позволяют разрешить до 5 типов каталитически активных форм протеасом, различающихся набором регуляторов их активности. Кроме того, было установлено, что иммунная субъединица протеасом LMP2, играющая роль в борьбе клетки с последствиями окислительного стресса и в развитии иммунологической толерантности к трансплантату, неравномерно представлена в разных формах протеасом. Данную иммунную субъединицу содержат 20S протеасомы и протеасомы, связанные с регулятором 11S, в то время как у 26S протеасом она практически не выявляется.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 14-04-31013 мол_а.

СОЗДАНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АДЕНОВИРУСА, ЭКСПРЕССИРУЮЩЕГО ГЕН ДИСФЕРЛИНА ЧЕЛОВЕКА

Старостина И.Г., Соловьева В.В., Ризванов А.А.

К(П)ФУ, Казань, Россия.

Дисферлинопатии человека относят к нейромышечным заболеваниям, связанным с нарушением экспрессии и/или функции белка дисферлина в скелетной мышце, что обусловлено мутациями в гене *dysf*. Возможность восстановления дефектного белка мышц путем введения в клетку функционального гена дикого типа является перспективным методом генной терапии мышечных дистрофий. Вследствие большого размера кодон- оптимизированного гена *dysf* (6243 п.н.) для создания генетических конструкций подходят аденовирусные вектора, которые способны доставлять большой объем рекомбинантной генетической информации как в делящиеся, так и в неделящиеся клетки, а также обеспечивают высокий уровень экспрессии трансгенов.

Цель нашей работы — создание рекомбинантного аденовируса, кодирующего кодон-оптимизированный ген дисферлина человека, и анализ экспрессии рекомбинантного белка в культуре клеток *in vitro*. Для оптимизации кодонного состава гена *dysf* использовали алгоритм OptimumGene, который учитывает различные факторы, влияющие на уровни экспрессии генов. В качестве матрицы для кодонной оптимизации была взята нуклеотидная последовательность мРНК гена *dysf* (GeneBank #NM_003494).

Синтез *de novo* оптимизированной нуклеотидной последовательности гена *dysf* осуществляла фирма GenScript (США). Субклонирование гена *dysf* из вектора-донора pDONR221 в аденовирусный плазмидный вектор-реципиент pAd/CMV/V5-DEST проводили по технологии Gateway® (Invitrogen). Для анализа экспрессии белка дисферлина использовали клеточную линию НЕК- 293Т (АТСС,

CRL-11268), которую трансфицировали полученной кольцевой плазмидой pAd-Dysf с использованием трансфекционного агента TurboFect (Fermentas). Иммунофлуоресцентный анализ клеток НЕК293Т, трансфицированных плазмидой pAd-Dysf, выявил положительную реакцию с поликлональными антителами кролика к дисферлину. Белковые лизаты клеток анализировали с помощью вестерн-блот анализа, который показал наличие выраженной полосы, соответствующей ожидаемой молекулярной массе белка дисферлина (231 кДа). Путем перевода плазмиды pAd-Dysf в линейную форму с помощью рестрикционного расщепления в клетках линии НЕК293А (Invitrogen) получен рекомбинантный репликационно-дефектный аденовирус серотипа 5, кодирующий кодон-оптимизированный ген дисферлина человека (Ad5-Dysf).

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ СВИНЦА НА ФИТОТОКСИЧНОСТЬ СЕМЯН В ПРИСУТСТВИИ RHODOCOCCLUS-БИОСУРФАКТАНТОВ

¹Тищенко А.В., ²Костина Л.В.

¹ Пермский государственный национальный исследовательский университет

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

Загрязнение тяжелыми металлами (ТМ) – одно из самых распространенных и экологически опасных для объектов окружающей среды. В настоящее время разрабатываются комбинированные и экологически безопасные технологии очистки почвы от ТМ, основанные на использовании методов фиторемедиации и биосурфактантов, для увеличения мобилизации и десорбции ТМ от компонентов почвы. Цель настоящей работы – изучение фитотоксичности свинца в присутствии Rhodococcus-биосурфактантов. В сравнительных исследованиях изучали влияние Rhodococcus-биосурфактантов (2,0; 4,0 и 8,0 г/л воды) и нитрата свинца (Pb(NO₃)₂) на фитотоксичность семян растений: овес посевной (*Avena sativa*), горчица белая (*Sinapis alba*) и вика полевая (*Vicia sativa* L.). Уровень фитотоксичности определяли по методу МР 2.1.7.2297-07 «Фитотест». Нитрат свинца добавляли в количестве 1, 10, 50, 100 и 200 ПДК. Биосурфактанты получали методом, разработанным в ЛАМ ИЭГМ УрО РАН, при культивировании штамма *R. ruber* ИЭГМ 231 в жидкой минеральной среде с н-додеканом (C12) и н-гексадеканом (C16) в качестве единственного источника углерода и энергии. Эксперименты по фитотоксичности проводили на базе Ботанического сада ПГНИУ.

В результате проведенных исследований установлено, что наиболее устойчивым к действию ионов Pb²⁺ растением является овес посевной, менее устойчивы семена вики. Уровень прорастания семян овса колебался от 10 до 92 %. Следует отметить, что размер побегов и корневой системы семян овса при добавлении Rhodococcus-биосурфактантов C16, был длиннее на 6,9 и 5,3 см, соответственно, по сравнению с таковым при изучении фитотоксичности ионов Pb²⁺ в присутствии Rhodococcus-биосурфактантов C12. Семена горчицы и вики при концентрации ионов Pb²⁺ 50 ПДК и выше не прорастали. Ионы Pb²⁺ во всех вариантах эксперимента ингибировали прорастание корневой системы у вики полевой, а количество проросших побегов не превышало 12%. Исследования поддержаны Российским Научным Фондом (14-14-00643).

**ИССЛЕДОВАНИЕ НАДМОЛЕКУЛЯРНЫХ ЧАСТИЦ В ВОДНЫХ
РАСТВОРАХ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ БАКТЕРИЙ РОДА
AZOSPIRILLUM МЕТОДОМ ДИНАМИЧЕСКОГО РАССЕЯНИЯ СВЕТА**

¹Усанов П.С., ²Бурыгин Г.Л., ²Сигида Е.Н., ²Федоненко Ю.П., ²Хлебцов Б.Н.,
^{1,2}Щеголев С.Ю.

¹ФГБОУ ВПО Саратовский государственный университет им. Н.Г.Чернышевского;
²ФГБУН Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН,
Саратов, Россия

Липополисахариды (ЛПС) являются основным классом молекул, формирующих внешний слой наружной мембраны грамотрицательных бактерий. В целом молекулы ЛПС, называемые также эндотоксинами, при попадании в организм животных и человека могут активировать иммунную систему и вызывать развитие воспалительных реакций. В водных препаратах ЛПС вследствие амфифильности макромолекул при определенных условиях могут возникать мицеллоподобные надмолекулярные комплексы различного размера и структуры. Однако такие комплексы ЛПС в водной среде, строение которых, так или иначе, определяет их взаимодействия с различными объектами окружающей среды, в настоящее время исследованы недостаточно.

Одним из информативных инструментов изучения надмолекулярной организации биомacroмолекул, позволяющий определять размер надмолекулярных комплексов и распределение частиц по размерам, является метод динамического рассеяния света (ДРС). Таким образом, представляет интерес исследование структуры водных систем ЛПС, позволяющее судить об возможных фазовых превращениях и параметрах образуемых надмолекулярных частиц (НМЧ), что и явилось целью данной работы, достигаемой с применением метода ДРС.

В данной работе нами были исследованы температурные зависимости интенсивности рассеяния, среднего размера и степени полидисперсности НМЧ в водных растворах ЛПС бактерий рода *Azospirillum*. В диапазоне до +24 - 34°C (в зависимости от препарата ЛПС) отмечено скачкообразное изменение интенсивности рассеяния на графиках ее зависимости от температуры и значительная гетерогенность системы по размерам частиц. При достижении температуры +24 - 34°C (и выше) для водных растворов ЛПС наблюдался существенно более сглаженный характер этой зависимости и резкое снижение гетерогенности дисперсных систем НМЧ, что делало возможным корректное определение размера методом ДРС. Для каждого температурного интервала относительной стабильности оптических характеристик дисперсных систем наиболее вероятный модалый гидродинамический диаметр НМЧ составил: 9.9 ± 0.7 нм (*A. lipoferum* Sp59b), 22.7 ± 0.7 нм (*A. irakense* KBC1), 25.0 ± 0.6 нм (*A. halopraeferens* Au4) и 31 ± 2 нм (*A. brasilense* Cd). Установлено, что для сравнительной оценки значений числовой и массово-объемной концентраций НМЧ полимерного вещества во взвеси водных систем ЛПС может быть использована теория рассеяния света в приближении оптически мягких релеевских частиц при допущении, что при достижении определенных значений температуры в исследованных системах образуются однослойные мицеллы, размер и концентрация которых зависит от особенностей химического строения ЛПС.

**МИКРООРГАНИЗМЫ ПОЧВ, ДЛИТЕЛЬНО ЗАГРЯЗНЕННЫХ
ХЛОРОРГАНИЧЕСКИМ ИНСЕКТИЦИДОМ ДДТ**

¹Фарофонова В.В., ²Шестакова Е.А.

1 Пермский государственный национальный исследовательский университет
2 Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия.

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

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

Объекты и методы исследования. Образцы почвы (обозначенные О1, О2, О3, О4) были отобраны на территории ООПТ «Осинская лесная дача» (Пермский край), в 1968-1970 годах подвергавшейся обработке препаратом торговой марки «ДДТ». Выделение микроорганизмов производили методом накопительного культивирования в минеральной среде К1 с добавлением ДДТ (0,5 г/л). Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре BioSpec-mini (Shimadzu). Чистые культуры получали методом высева на агаризованную богатую среду LB. Результаты исследований. Путем трех последовательных пересевов накопительных культур (НК) были получены ассоциации микроорганизмов (АМ), способные использовать ДДТ в качестве единственного источника углерода и энергии. Максимальная ОП600 НК составляла (о.е.): О1 - 0,69 (1,08 – 2-й пересев); О2 - 0,11 (0,54); О3 - 0,11 (0,43); О4 - 0,04 (0,03). Из НК был выделен 71 штамм бактерий, составляющих 39 различных морфотипов. Представители каждого морфотипа были отобраны для дальнейшего анализа. После длительной селекции в составе АМ оставалось 2-3 доминирующих морфотипа.

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

**ФАУНА НЕМАТОД РОДА PANAGROBELUS (PANAGROLAIMIDAE) НА
ТЕРРИТОРИИ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ**

Хусаинов Р.В.

Центр паразитологии Института проблем экологии и эволюции им. А.Н.
Северцова РАН, г. Москва, Россия.

Представители рода Panagrobelus являются свободноживущими нематодами-бактериофагами, которые заселяют надземную часть деревьев, находящихся в различном санитарном состоянии. Данный род отличается от близкого рода Panagrolaimus наличием псевдогуб на головной капсуле и включает всего три валидных вида (P. coronatus; P. stammeri; P. Phloeosini). На территории России зарегистрирован всего один вид – P. phloeosini. Не смотря на то, что изучению подобных нематод придается мало значения, панагробелусы являются типичными представителями фауны нематод-ксилобионтов в различных экосистемах наряду с нематодами рода Laimaphelenchus.

Изучение фауны древесных нематод проводилось в 2011-2014 гг. на территории 12 регионов Европейской части России. Нематод выделяли вороночным методом по Берману. Экспозиция составляла от 24 до 72 часов в зависимости от типа субстрата и температуры в помещении. Нематод нагревали в течении 2 мин. при 55°C и фиксировали 4% раствором ТАФ.

В результате исследований выявлено четыре вида нематод рода *Panagrobelus*: *P. coronatus*, *P. phloeosini*, *P. stammeri* и *P. sp.* Все виды, за исключением *P. phloeosini*, впервые регистрируются на территории России. Наиболее широко распространенным и часто встречаемым видом являлся *P. phloeosini*. Этот вид наряду с *P. stammeri* распространен по всей территории Европейской части России. *P. coronatus* и *P. sp.* отмечены единично. Численность панагробелусов зависела от типа экосистемы. Наибольшая численность наблюдалась в естественных ценозах (леса и поймы), – от 8 до 115 особей/100см³ древесного субстрата. На урбанизированных территориях (посадки вдоль автострад, городские парки) количество нематод колебалось от 5 до 70 особей/100см³ субстрата. На живых стоячих деревьях панагробелусы обитают на поверхности коры (флеобионты), где их численность зависит от структуры ее поверхности. После утраты деревом коры нематоды переходят на поверхность оголенной древесины, также они заселяют ходы насекомых-ксилофагов (кормобионты), и продолжают обитать на гниющей древесине после гибели дерева.

ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ВОДОЕМОВ НА ОСНОВЕ ДНК-ШТРИХКОДИРОВАНИЯ ИНДИКАТОРНЫХ ОРГАНИЗМОВ

Хусаинов А.М.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия.

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

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

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

ДЕЙСТВИЕ МИКРОМИЦЕТОВ НА ВСХОЖЕСТЬ СЕМЯН И МОРФОЛОГИЮ ХЛОПЧАТНИКА

Шеримбетов А.Г., Шералиев А.Ш., Зохидов А.А., Сайтганиева З.

Институт генетики и экспериментальной биологии растений АН РУз, Узбекистан.

В статье приводятся данные проведенных вегетационных опытов на хлопчатнике по изучению влияния сапротрофных грибов *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger*, *Penicillium* sp, и патогенных *F. oxysporum f. vasinfectum*, *F. solani*, представители на всхожесть и рост и развитие хлопчатника.

Сапротрофные представители грибов положительно влияет на всхожесть семян хлопчатника и увеличивают рост и развития и урожайность хлопчатника. Они играют важную роль в повышении устойчивости растений к фузариозу, что имеет важное значение в жизни растений.

ГЛУТАТИОН-S-ТРАНСФЕРАЗНАЯ И СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ В ПОСТМИКРОСОМАЛЬНОЙ ФРАКЦИИ ПЕЧЕНИ КРЫС В УСЛОВИЯХ РАЗНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ω -3 И ω -6 ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫМИ ЖИРНЫМИ КИСЛОТАМИ

Швед Х.М., Кеца О.В., Петрик О.А.

Черновицкий национальный университет им. Юрия Федьковича, Черновцы,
Украина.

Омега-6 (ω -6) и омега-3 (ω -3) полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) являются важными регуляторами ряда физиологических процессов в организме. Входя в состав фосфолипидов всех клеточных мембран, они участвуют в передаче импульсов и работе рецепторов, являются предшественниками эйкозаноидов. Оптимальное соотношение ω -6 и ω -3 ПНЖК в пищевом рационе должно составлять от 10:1 до 1:1. Насыщение организма ω -6 или ω -3 ПНЖК может привести к усилению свободнорадикальных процессов и нарушению функционирования прооксидантно-антиоксидантной системы, основными компонентами которой являются глутатион-S-трансфераза (GST) и супероксиддисмутаза (СОД).

Цель работы – определить ферментативную активность глутатион-S-трансферазы и супероксиддисмутазы в постмикросомальной фракции печени крыс в условиях дифференциального обеспечения ω -6 и ω -3 ПНЖК. Результаты проведенных исследований показали, что в группы крыс, содержащих на полусинтетической диете обогащенной ω -6 ПНЖК в течение шести недель ферментативная активность GST в 20 раз превышала показатели контрольной группы животных. В то же время у крыс, получавших только ω -3 ПНЖК активность GST превышала показатели контроля в 3 раза. Повышение активности GST может быть следствием активации процессов свободнорадикального окисления макромолекул в клетках, поскольку GST активно использует восстановленный глутатион для осуществления антиоксидантной функции – восстановления органических пероксидов. Восьминедельное удержания крыс на диете обогащенной ω -6 ПНЖК приводит к снижению ферментативной активности GST, что может быть следствием окислительной модификации энзима.

Анализ ферментативной активности СОД показал, что удержание животных в течение шести недель на диете обогащенной ω -6 ПНЖК приводит к повышению ферментативной активности СОД в 1,6 раза по сравнению с контролем, что может быть следствием генерации супероксидного радикала, превращение которого в

относительно менее активный пероксид водорода и молекулярный кислород катализирует СОД. Подобная тенденция наблюдается и в группе крыс, получавших рацион обогащенный ω -3 ПНЖК. На дальнейших этапах эксперимента наблюдается понижение ферментативной активности СОД, вероятно, в результате свободнорадикального окисления фермента.

Таким образом, удержание крыс в течение шести недель на рационе обогащенном ω -6 ПНЖК, приводит к повышению ферментативной активности GST и СОД в постмикросомальной фракции печени крыс по сравнению с контролем с последующим понижением на восьмую неделю эксперимента.

STRUCTURE OF UPH FROM SALMONEL
МИКРОБНОЕ СООБЩЕСТВО ШЛАМАХРАНИЛИЩА
СОЛЕДОБЫВАЮЩЕГО ПРЕДПРИЯТИЯ
ОАО «УРАЛКАЛИЙ» (Г. БЕРЕЗНИКИ, ПЕРМСКИЙ КРАЙ)

¹Шипова А. В., ²Шестакова Е.А.

¹ Пермский государственный национальный исследовательский университет

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

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

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

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

НАШИ ПАРТНЕРЫ



Компания "Химмед" успешно работает на рынке уже более 20 лет. Поставляемый товар - всегда высочайшего качества. Гарантия тому - отлаженные контакты с непосредственными производителями, скорость и качество поставки товара, высокий профессионализм нашей команды. "Химмед" являемся официальным дистрибутором ведущих компаний, таких как Merck, Acros Organics, Calbiochem, Fluka, IKA, Labscan, Roth, Sigma-Aldrich. Supelco, ОАО "Химлаборприбор" и др.



Компания "Пушинские лаборатории" предлагает комплексные решения в сфере оснащения исследовательских и медицинских лабораторий. Находит для клиентов оптимальное решение поставленных задач, доставляет заказ точно в срок со склада и под заказ, обеспечиваем техническую поддержку.



Ведущая европейская компания в сфере здравоохранения и бытовой электроники. Специализируется на производстве оптики, фототехники, высококачественного оптического оборудования для проведения медикобиологических исследований и иных технических решений.



ООО Микросистемы объединяет специалистов с большим опытом практической работы по подбору, поставке и сервисному обслуживанию оборудования для биологии, медицины и промышленности. Компания работает с государственными заказчиками, общественными организациями и коммерческими структурами.



Компания Хеликон предлагает комплексные решения в сфере оснащения исследовательских и медицинских лабораторий с 1997 года. Девиз: «Скорость, точность, сотрудничество!»

Международная конференция молодых ученых
«Проблемы современной физико-химической биологии»

Научное издание

МЕЖДУНАРОДНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ

07-09 декабря 2015 г.

**Проблемы современной
физико-химической биологии**

Сборник тезисов и
программа конференции

Материалы изданы в авторской редакции

**Подписано к печати 26.11.2015 г.
Печать цифровая. Формат 60×90¹/₁₆.
Усл. печ. л. 11,0. Тираж 250 экз.
Отпечатано в типографии «Fix-Print»
142290, Московская область, город Пущино,
микрорайон "АБ", дом 22
Заказ № 1206**