

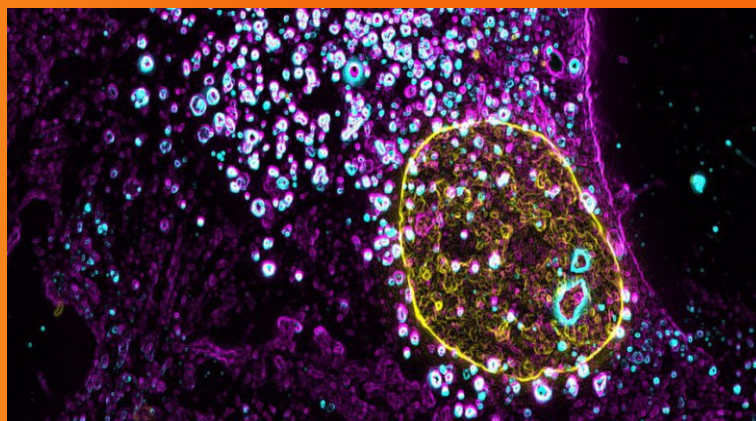
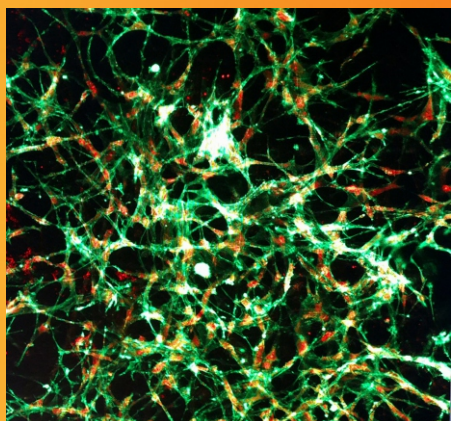
21-я Международная Пущинская школа-конференция молодых учёных



Биология

Наука XXI века

СБОРНИК ТЕЗИСОВ



Пущино, 17-21 апреля 2017

ФГБУН Пушинский научный центр РАН
ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН
Совет молодых ученых и специалистов ИТЭБ РАН
Межфакультетский научно-образовательный центр МГУ в г.Пушино

При поддержке Федерального агентства научных организаций России



21-я Международная Пушинская школа-конференция молодых ученых
«БИОЛОГИЯ - НАУКА XXI ВЕКА»
The 21th INTERNATIONAL PUSHCHINO SCHOOL CONFERENCE OF YOUNG SCIENTISTS
“BIOLOGY – THE SCIENCE OF THE XXI CENTURY”

Пушино, 2017

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

БИОЛОГИЯ – НАУКА XXI ВЕКА: 21-я Международная Пушинская школа-конференция молодых ученых. 17 - 21 апреля 2017 г., Пушкино. Сборник тезисов, 2017. – 337 с.

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

Работа школы-конференции проводится в следующих секциях:

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

В программу школы-конференции, кроме устных и стендовых докладов участников, входят лекции ведущих российских и зарубежных ученых, круглые столы, мастер-классы, экскурсии в научные лаборатории институтов Пушкинского научного центра, научные и творческие конкурсы, культурная и спортивная программа.

ISBN 978-5-9908139-1-5



9 785990 813915

СЕКЦИЯ «МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ»

ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЧВЫ ЧЕРНОЗЕМА ЮЖНОГО ПРИ ПРИМЕНЕНИИ NO-TILL И КОМПЛЕКСА МИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Абдурашитова Э. Р.¹, Абдурашитов С. Ф.¹

¹ФГБУН Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма, Симферополь, Россия
elvi-jadore@mail.ru

В условиях экономии природных ресурсов и сохранения почвенного плодородия большую перспективу в аграрном производстве имеет применение микробных препаратов и системы земледелия No-till. Для диагностики состояния почвы важным показателем является активность почвенных ферментов. Так, каталазы участвуют в окислительно-восстановительных реакциях, полифенолоксидазы являются основным звеном в процессе синтеза гумусовых веществ, а пероксидазы катализируют их минерализацию. Поэтому целью нашего исследования является оценка влияния системы земледелия No-till и применения комплекса микробных препаратов (КМП) на ферментативную активность (ФА) чернозема южного.

В заложенном в 2015 г. стационарном опыте проведена оценка ФА почвы в пахотном горизонте, свободном от сельскохозяйственных культур, на паровавшем участке опытного поля с традиционной системой земледелия и участке после выращивания *Pisum sativum* L. с No-till. Горох выращивали с применением КМП и без него. В комплекс входят: Ризобифит, Биополитид, Фосфоэнтерин. Измерение активности проводили послойно: от 0 до 10 см, 10-20 см, 20-30 см. Лабораторные анализы проводили по методике, описанной Грицаенко З. М. с соавторами (2003).

В условиях 2016 г. осенью в паровавшей почве на глубине до 10 см активность каталаз составила 6,1 мл O₂ / мин. / г почвы. Во втором слое она увеличилась в 2,4 раза, а на глубине 20-30 см в 1,7 раза. Применение КМП на горохе увеличило в 1,7-2,4 раза активность фермента по сравнению с горохом без обработки во всех исследуемых слоях.

Пероксидазная активность достоверно снижается в 1,9 раза от верхнего к более низким слоям в паровавшей почве до уровня 8,7 мкмоль гваякола / 100 г почвы. Как в варианте No-till без обработки КМП, так и No-till с КМП активность пероксидаз увеличивается от слоя 0-10 к слою 20-30 в 3,3 раза, а с применением биопрепарата в 2 раза соответственно.

В активности полифенолоксидаз изменения наблюдали только при традиционной обработке почвы, которая повысилась на 10,3-12,4 % к с увеличением глубины отбора. Такая же тенденция отмечена с No-till без КМП.

Процессы синтеза и распада гумусовых веществ могут быть охарактеризованы коэффициентом гумификации (КГ) – соотношением активностей полифенолоксидаз к пероксидазам. В 2016 году КГ были более 1, что свидетельствует о преобладании процессов синтеза гумусовых веществ над минерализацией.

Проведенные полевые исследования в условиях 2016г. позволили выявить изменения ФА чернозема южного под воздействием системы земледелия и комплекса микробных препаратов. Исследования будут продолжены.

СТРУКТУРА МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА В ПОЧВАХ РЕКРЕАЦИОННЫХ ЗОН ГОРОДОВ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Ажогина Т.Н.¹, Илюшкина Л.Н.¹

¹ФГАОУ ВО Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия
t.azhogina@mail.ru

Почвенная микробиота — чувствительный индикатор последствий разного рода антропогенных воздействий на почву. В результате трансформируются условия существования почвенного микробного комплекса, что в свою очередь, сопровождается перестройкой его структуры (Пухова Н.Ю. и др. 2011).

В связи с вышеизложенным, целью данной работы явилось изучение структуры микробного сообщества в почвах, расположенных в зонах с разной рекреационной нагрузкой.

Объектом исследования являлась почва парков городов Ростовской области: мегаполиса – г. Ростова-на-Дону и двух небольших близлежащих городов: Азова и Аксая. Материалом исследования были образцы почв, отобранные в следующих парках: в г. Ростове-на-Дону – парки им. Горького и им. Островского; в г. Азове – парк Жемчужина Азова и Сквер Азова; в г. Аксая – парк Культуры и отдыха и Мухина балка. Парки им. Островского, Мухина Балка и Сквер Азова находятся ближе к окраинам городов, а парки им. Горького,

Культуры и отдыха и Жемчужина Азова являются центральными. Отбор проб проводился весной, летом и осенью 2015 года.

Анализ данных показал, что на протяжении всего периода исследования в структуре микробного сообщества доминировали бактерии. В весенний и осенний периоды отмечалось повышение содержания мицелиальных форм.

Доля актиномицетов весной колебалась от 4,24% (Сквер Азова), до 22,33% (парк им. Островского). Летом доля данных микроорганизмов резко сократилась в среднем в 10,6 раза. В осенний период наблюдалось возрастание доли актиномицетов в почвах всех исследуемых рекреационных зон, кроме почвы Сквера Азова, где она снизилась в 2,5 раза. Доля микромицетов в почвах парка Азова снизилась летом и возросла в осень. Для почв парков г. Аксая и парка им. Горького была характерна обратная закономерность: в летний период доля микромицетов возросла (в среднем в 10,25 раза), а в осенний снизилась (в среднем в 10,64 раза). Доля микроскопических грибов в почве парка им. Островского снижалась на протяжении всего периода исследования.

Таким образом, для микробных сообществ всех исследуемых зон характерно доминирование бактерий, а доля представителей актиномицетов и микромицетов была не 22,33%. Для более полного анализа структуры сообщества и установления более точных закономерностей необходимы дальнейшие исследования.

Список литературы:

1. Пухова Н. Ю., Верховцева Н. В., Ларина Г. Е. Структура микробного сообщества чернозема выщелоченного в зависимости от антропогенной нагрузки //Проблемы агрохимии и экологии. – 2011. – №. 4. – С. 42-47.

ОЦЕНКА РАЗНООБРАЗИЯ ГЕНОВ ПОЛИКЕТИДСИНТАЗ И НЕРИБОСОМАЛЬНЫХ СИНТЕТАЗ АКТИНОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ГРУНТОВ ОЗЕРА БАЙКАЛ

Аксенов-Грибанов Д.В.¹, Войцеховская И.В.¹, Тимофеев М.А.¹

¹ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия
protasov.evgenii@gmail.com

Целью настоящего исследования была оценка разнообразия генов поликетидсинтаз и нерибосомальных синтетаз и оценка антимикробной активности актинобактерий, выделенных из грунтов озера Байкал. Было выделено 15 штаммов актинобактерий из осадков южной части озера Байкал, собранных с глубин 50 – 200 м. По результатам филогенетического анализа установлено, что штаммы относятся к родам *Micromonospora* и *Streptomyces*. Для выявления генов поликетидсинтаз (PKS I и PKS II) и нерибосомальных синтетаз (NRPS) были использованы следующие пары праймеров: KSMA-F/ KSMB-R (PKS I), KI/M6R (PKS I), 540F/1100R (PKS II), FW/RV (PKS II), A3F/A7R (NRPS).

Показано, что все 15 исследованных штаммов обладают генами поликетидсинтаз PKS I (праймеры KSMA-F/ KSMB-R) и NRPS. Вторая пара праймеров PKS I, KI/M6R, выявила наличие целевого фрагмента гена поликетидсинтаз у 12 штаммов из 15. Однако, только для двух штаммов, *Streptomyces* sp. IB 2016P328-4 и *Micromonospora* sp. IB 2016P328-8, было выявлено наличие гена PKS II (FW-RV). Ни один из штаммов не показал наличие генов PKS II, фланкируемого парой праймеров 540F/1100R. Десять штаммов обладали тремя искомыми генами (два типа PKS I и NRPS). Штаммы *Streptomyces* sp. IB 2016P328-2 и *Streptomyces* sp. IB 2016P328-3 показали наличие двух генов (PKS I KSMA-F/ KSMB-R и NRPS). В штаммах *Streptomyces* sp. IB 2016P328-4 и *Micromonospora* sp. IB 2016P328-8 обнаружили наличие четырех генов (PKS I (KSMA-F/ KSMB-R и KI/M6R), PKSII (FW/RV) и NRPS).

По результатам исследования антибиотической активности ни один из штаммов не показал активности против *P. aeruginosa*. Четыре штамма ингибировали рост *S. aureus* по сравнению с контролем при концентрации экстракта 5 мкг/мл. Из 15 штаммов 8 проявили высокую активность против *C. albicans*. Также было показано, что не существует прямой зависимости от количества генов PKS и NRPS и числом и степенью ингибирования роста тест-микроорганизмов.

Таким образом, наличие и состав генов поликетидсинтаз и нерибосомальных синтетаз могут служить дополнительными критериями при выборе перспективных штаммов для дальнейшей работы по выявлению биосинтетического потенциала штаммов, в частности способности синтезировать вещества антибиотической природы.

Настоящее исследование проведено при частичной финансовой поддержке проектов РФФИ (16-34-00686) и гранта ИГУ для молодых ученых и аспирантов.

НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИЕ (УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИЕ) МИКРООРГАНИЗМЫ РЕКИ ЛИСТВЯНКА

Андрианова Е. А.¹

¹ФГБОУ ВО Рязанский государственный университет имени С. А. Есенина, Рязань, Россия
elena.imL201 @yandex.ru

В настоящее время в результате активного развития нефтедобывающей и нефтеперерабатывающей промышленности нефть и продукты ее переработки стали одним из самых распространенных загрязнителей. Наиболее эффективным способом борьбы с загрязнением нефтепродуктами в поверхностных водных объектах является биологический, основанный на применении культур нефте- и углеводородоокисляющих микроорганизмов (НиУОМ). Поскольку степень и эффективность деградации нефти в водных экосистемах за счет деятельности микроорганизмов также зависит от большого набора факторов среды (скорость течения, температура, pH, качественный состав вод, интенсивность перемешивания и т.д.), наиболее перспективным считается использование аборигенных (выделенных именно из этого водного объекта) ассоциаций нефтеокисляющих бактерий, адаптированных к конкретным условиям.

Проблема нефтезагрязнения в Рязанской области особенно актуальна для реки Листвянка, которая служит приемником очищенных сточных вод АО «Рязанская нефтеперерабатывающая компания».

С целью создания биопрепарата на основе аборигенной ассоциации НиУОМ в ноябре 2015 г были отобраны пробы донных иловых отложений реки Листвянка. Для выделения НиУОМ была использована синтетическая среда, приготовленная по рецепту Ворошиловой-Диановой с добавлением в нее сырой нефти, используемой на АО «РНПК», а также нефтяных фракций (дизельное топливо, бензин, мазут). Из колб, в которых наблюдалось активное разрушение нефти и нефтепродуктов в течение 3-5 дней, выделяли монокультуры. Для их получения использовали универсальная плотная питательная среда (МПА, МПБ).

НиУОМ обнаружены во всех пробах донных отложений р. Листвянка. Среди микроорганизмов преобладали грамположительные бактерии. Выяснено, что в среде с добавлением нефти наблюдается наибольшее разнообразие морфологических типов бактерий. На среде с добавлением бензина, дизельного топлива и мазута происходит интенсивный рост палочек. Встречаемость кокковых форм значительно ниже. Нитевидные формы обнаружены во всех пробах с нефтью (100%), на мазуте - отсутствовали. В результате проведенной работы удалось выделить чистые культуры *Pseudomonas aeruginosa*, *Nocardia* spp., *Micrococcus* spp., способные к интенсивному разложению нефти и других нефтепродуктов.

ИЗУЧЕНИЕ СОВМЕСТНЫХ ТРАНСКРИПТОМНЫХ ПРОФИЛЕЙ В СИМБИОТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЕ ГОРОХ ПОСЕВНОЙ(PISUM SATIVUM L.) - RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM

Афонин А. М.¹, Сулима А. С.¹, Жернаков А. И.¹, Жуков А. В.¹, Борисов А. Ю.¹, Тихонович И.А.¹

¹ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии
Россельхозакадемии, Санкт-Петербург, Россия
aafonin@arriam.ru

Клубеньковые бактерии рода *Rhizobium* способны вступать в азотфиксирующий симбиоз с растениями семейства бобовые. В ряде родов Бобовых клубеньковые бактерии проходят терминальную (необратимую) дифференциацию в органелло-подобные структуры - бактериоиды. Процесс терминальной дифференциации в бактериоиды (ТДБ) заключается в увеличении размера клеток, полиплоидизации геномов и повышении проницаемости мембран бактерий. Известно, что ряд мутаций в растительных регуляторных симбиотических генах приводит к нарушениям процесса терминальной дифференциации ризобий. Изучение процессов происходящих в клубеньках подобных мутантных линий может позволить определить молекулярные основы протекания ТДБ.

Цель работы - характеристика роли регуляторных растительных генов в процессе ТДБ при помощи оценки уровня экспрессии бактериальных генов в клубеньках мутантных линий гороха посевного (*Pisum sativum* L.), а также описание новых генетических детерминант, важных для успешной дифференциации бактериальных клеток, как со стороны растения, так и со стороны микросимбионта.

В работе изучалось взаимодействие штамма *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* RCAM1026 с рядом линий гороха посевного. Для совместного определения уровня экспрессии растительных и бактериальных генов был использован метод 5'MACE (massive analysis of cDNA ends), разработанный компанией GenXPro (Франкфурт-на-Майне, Германия), в соответствии с которым для каждой молекулы РНК определяется последовательность небольшого (около 100 п.н.) участка со стороны 5'-конца. Для анализа были взяты следующие образцы: 1) жидкая культура свободноживущих бактерии *Rhizobium leguminosarum*

RCAM1026; 2) клубеньки линии “дикого типа” SGE; 3) линии гороха, мутантные по генам *sym33*, *sym40*, *sym26* полученные на линии SGE, демонстрирующие блокирование ТДБ на последовательных стадиях.

Были идентифицированы бактериальные и растительные гены, необходимые для межорганизменного метаболизма внутри клубеньков. Кроме того в мутантных клубеньках наблюдалось повышение бактериальной экспрессии генов, кодирующих белки множественной лекарственной устойчивости (MDR), возможно модифицирующие действие NCR-пептидов (коротких антимикробных пептидов, способствующих ТБД) в клубеньках. Результаты работы демонстрируют роль регуляторных генов растения в ТБД, а также указывают на принципиальную возможность построения межорганизменных генно-метаболических сетей, характерных для нормальных и мутантных клубеньков гороха посевного.

Данная работа была поддержана грантами РФФИ (16-16-00118 и 14-24-00135), РФФИ (16-04-01859-а и 17-04-01978-а), НШ-6759.2016.4.

ИЗУЧЕНИЕ РЕАКЦИИ МХА *PHYSCOMITRELLA PATENS* НА ЗАРАЖЕНИЕ ФИТОПАТОГЕННЫМИ БАКТЕРИЯМИ

Барасева Н.А.¹, Егорова Е.Д.¹, Виноградова С.В.¹

¹ФГУ ФИЦ Фундаментальные основы биотехнологии РАН,
Институт биоинженерии, Москва, Россия
svetlana.vinogradova@biengi.ac.ru

Мхи относятся к высшим растениям, одними из первых колонизировавших сушу. Общий предок мхов и покрытосеменных растений возник около 480 млн. лет назад. Мох *Physcomitrella patens* широко используется в работах по изучению функций компонентов клетки и эволюционной биологии растений. Ранее было показано, что в результате инокуляции мха *Botrytis cinerea* и *Erwinia carotovora* происходит повышение экспрессии генов защитных механизмов PR-1, PAL, CHS и LOX, что характерно для покрытосеменных растений.

Целью данной работы является изучение взаимодействия биотрофных фитопатогенных бактерий родов *Pseudomonas* и *Xanthomonas* и мха *P. patens*. Для анализа использовали штаммы бактерий *Xanthomonas arboricola*, *Pseudomonas syringae* и *Pseudomonas viridiflava*, являющиеся фитопатогенами многих плодовых и овощных сельскохозяйственных культур.

Ранее нами была доказана патогенность изучаемых бактериальных штаммов для *P. patens* на фенотипическом и цитологическом уровнях. В данной работе проведен метаболомный и транскриптомный анализ мха, инфицированного *X. arboricola*, *P. syringae* и *P. Viridiflava*. Гаметофоры *P. patens* культивировали на агаризованной питательной среде Кнопа и инокулировали суспензиями бактерий. Культуры бактерий наращивали на агаризованной питательной среде Luria-Bertani в течение 48 часов и готовили суспензии с оптической плотностью 0,4. Из гаметофоров на 0-ой, 2-ой, 5-ый, 10-ый, 17-ый и 30-ый дни после инокуляции выделяли метаболиты. Идентификацию выделенных веществ проводили методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии. Нами было обнаружено 60 метаболитов, участвующих в углеродном обмене, фитостерины, участвующие в регуляции структурной организации мембран, а также характерные для цветковых растений фенольные соединения (хлорогеновая кислота, лигнаны, флавоноиды), синтезирующиеся в растениях в ответ на биотический стресс.

Выделение мРНК и секвенирование образцов *P. patens* проводили на 5-ый день после инокуляции. На основе полученных данных провели сравнительный анализ экспрессии генома мха до и после заражения.

Анализ метаболитов и транскрипционных профилей мха дает представление об ответе *P. patens* на заражение фитопатогенными бактериями *X. arboricola*, *P. syringae* и *P. viridiflava*. Исследованные нами штаммы бактерий способствовали накоплению в клетках мха веществ, необходимых для размножения бактерий и отвечающих за системную устойчивость растения.

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

МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ РЕСВЕРАТРОЛА НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ *ESCHERICHIA COLI* К ЦИПРОФЛОКСАЦИНУ

Безматерных К.В.¹, Смирнова Г.В.¹, Октябрьский О.Н.¹

¹ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

hydrargyrum@iegm.ru

Ресвератрол, относящийся к полифенолам, является компонентом различных фруктов и овощей, обладает выраженным антиоксидантным действием и широко используется в фармакологической, косметической и пищевой промышленности. Известно, что бактерии в кишечнике человека и животных подвергаются воздействию высоких концентраций немодифицированных полифенолов, которые могут различным образом влиять на видовой состав микробиоты, а также модулировать действие антибиотиков. Несмотря на многочисленные исследования, механизмы действия полифенолов на микробиом, являющийся важным метаболическим органом, остаются не до конца изученными.

В работе изучалось влияние ресвератрола в диапазоне концентраций от 1 до 100 мкг/мл на чувствительность *E. coli* BW25113 к 0.03 и 0.3 мкг/мл фторхинолона ципрофлоксацина (ЦФ). В наших условиях минимальная ингибирующая концентрация (МИК) ЦФ составляла 0.016 мкг/мл. При этом низкие дозы ресвератрола не влияли на МИК, но при повышении его концентрации от 40 до 100 мкг/мл значение МИК увеличивалась в 2 раза. В условиях периодической культуры ЦФ в дозе 0.03 мкг/мл не влиял на удельную скорость роста (μ) бактерий, а в дозе 0.3 мкг/мл – снижал μ на треть от контрольного уровня. В отсутствие антибиотика ресвератрол дозозависимо ингибировал μ , максимально снижая ее значение в 1.5 раза при концентрации 100 мкг/мл. Экспозиция бактерий к ЦФ приводила к быстрому уменьшению числа колониеобразующих единиц (КОЕ). Через 70 мин экспозиции к 0.03 мкг/мл антибиотика КОЕ падало в 83 раза по сравнению с контролем, при этом присутствие 1 мкг/мл ресвератрола в среде дополнительно снижало число КОЕ в 2 раза. Однако при увеличении дозы ресвератрола он оказывал протекторное действие, и при концентрации ресвератрола 100 мкг/мл бактерицидный эффект антибиотика снижался в 27 раз. Высокая доза ЦФ (0.3 мкг/мл) вызывала резкое падение КОЕ, которое к концу культивирования было на 4.5 порядка ниже, чем в контроле. В этих условиях концентрация 100 мкг/мл ресвератрола оказывала выраженное защитное действие, повышая КОЕ в 12 раз. Поскольку бактерицидный эффект антибиотиков сильнее выражен в быстрорастущих культурах бактерий, модифицирующее влияние ресвератрола на чувствительность бактерий *E. coli* к ципрофлоксацину может быть частично опосредовано воздействием этого полифенола на скорость роста бактерий.

Модулирующее влияние ресвератрола и созданных на его основе БАД на чувствительность бактерий к антибиотикам требует дальнейшего изучения и должно учитываться при антибиотикотерапии.

Исследования выполнены при финансовой поддержке грантов РФФИ № 16-04-00762 и УМНИК 0019636.

ИЗУЧЕНИЕ БИОПЛЁНКООБРАЗУЮЩИХ СВОЙСТВ *LISTERIA MONOCYTOGENES* В АССОЦИАЦИЯХ С БАКТЕРИЯМИ, ВЫДЕЛЕННЫМИ С ПОВЕРХНОСТИ РАСТЕНИЙ

Бердасова А. С.¹

¹ФГАОУ ВО Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия

berdasova_as@mail.ru

Изучение взаимоотношений растений и микроорганизмов, а также межбактериальных отношений на поверхности растений, является одной из наиболее актуальных и малоизученных тем. Интересным представляется то, что одновременное присутствие нескольких возбудителей на поверхности растений, в частности овощей, может приводить к взаимовыгодным бактериальным отношениям, что в дальнейшем может привести к вспышкам различных заболеваний.

Поэтому целью данной работы было – изучить способность формировать биоплёнки сапротрофными бактериями, выделенными с поверхности овощей и фруктов, и *L. monocytogenes*, при действии различных температур.

Для исследования биоплёнкообразующих свойств сапротрофных и патогенных штаммов при различных температурах (37°C, 22°C, 5°C) был использован статический метод, основанный на культивировании микроорганизмов в планшетах с использованием 1% раствора кристаллического фиолетового. В работу были включены штаммы *L. monocytogenes* из коллекции НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова и сапротрофные микроорганизмы, выделенные с поверхности растений, чаще всего выступающих как факторы передачи листерий.

В ходе эксперимента было установлено, что сапротрофные бактерии и листерии образуют биоплёнку в консорциумах. Показано, что температура оказывает влияние на процесс образования биоплёнки. Наиболее благоприятной температурой для развития биоплёнки является 22°C, в то время как при температуре 37°C сокращалось количество штаммов, образующих биоплёнку. Стоит также отметить, что понижение температуры до 5°C не стимулировало образование биоплёнки, но способствовало ее сохранению.

Таким образом, патогенные бактерии, в частности листерии, способны сохраняться на растениях, употребляемых человеком в пищу в виде биоплёнок, совместно с сапротрофными бактериями, что представляет большую опасность, так как зачастую эти продукты употребляются сырыми, без термической обработки.

ТЕРМОФИЛЬНЫЙ БАКТЕРИОФАГ *AERIBACILLUS PALLIDUS* AP45: БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА, АНАЛИЗ ГЕНОМА, ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С МИКРООРГАНИЗМОМ-ХОЗЯИНОМ

Боковая О.В.^{1,2}, Морозова В.В.², Козлова Ю.Н.², Бабкин И.В.², Тикуннова Н.В.²

¹ФГАОУ ВО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия; ²ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия
bokovaya.o.v@gmail.com

Изучение термофильных бактериофагов представляет интерес для установления взаимоотношений микроорганизмов в экстремально высоких температурных условиях, а также для получения данных о термостабильных структурных белках и ферментах. При этом в отличие от бактериальных сообществ, бактериофаги многих экстремальных местообитаний до сих пор мало исследованы.

Термофильный бактериофаг AP45 и его термофильный микроорганизм-хозяин КЭМТК 656 были выделены из почвенных образцов Долины гейзеров на Камчатке.

Бактериальный микроорганизм-хозяин был идентифицирован как термофильный микроорганизм *Aeribacillus pallidus* методом флотипирования по последовательности гена 16S рРНК.

По морфологии фаговых частиц бактериофаг AP45 был отнесен к семейству *Siphoviridae*.

Фаг обладает следующими биологическими свойствами: на газоне чувствительной культуры продуцирует бляшки размером 0,5-1 мм и широкую зону лизиса за счет продукции растворимого белка-лизина. Фаг термостабилен при 55-65°C, сохраняет жизнеспособность при нагревании в течение 2 часов при температуре 95°C, чувствителен к хлороформу.

Размер генома по данным полногеномного секвенирования составил 51606 н.п. Анализ полученной последовательности выявил 74 предполагаемых ОРТ. Геном содержит ОРТ, кодирующие белки рекомбинации и регуляции ДНК метаболизма, белки лизиса бактериальной клетки, структурные белки, а также 41 ОРТ, кодирующих белки с неизвестными функциями. Геном бактериофага не содержит ДНК- и РНК-полимераз, которые есть у большинства хвостатых фагов. Наибольшее сходство (36%) среди геномных последовательностей бактериофагов было обнаружено с термофильным фагом D6E [GU568037] в кластере структурных белков. Большинство ОРТ неструктурных белков фага AP45 имеют сходство с ОРТ термофильных микроорганизмов, относящихся к семейству *Bacillaceae*.

Способность к лизогенному пути развития была предположена благодаря наличию нескольких белков рекомбинации и подтверждена индукцией выхода профага из резистентных клеток культуры 656.

Таким образом, впервые был охарактеризован бактериофаг, специфичный к термофильной бактерии *Aeribacillus pallidus*, выделенной из камчатского термофильного сообщества. Бактериофаг AP45 способен как к литическому, так и к лизогенному путям развития. Для последовательностей, кодируемых неструктурными ОРТ фага, не обнаружено аналогичных последовательностей бактериофагов в существующих базах данных.

ИССЛЕДОВАНИЕ КЛЕТОЧНОЙ ПОВЕРХНОСТИ И СОЦИАЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ БАКТЕРИЙ *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* SP7 И SP245

Буданова А.А.¹, Широков А.А.¹, Матора Л.Ю.¹

¹ФГБУН Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, Россия
anglinca@mail.ru

PGP (plant growth promoting) бактерии рода *Azospirillum* способны к альтернативному запуску механизмов коллективного распространения в полужидких средах (роения или коллективной миграции с образованием микроколоний), в частности, под влиянием растительных лектинов, что существенно повышает

адаптивный ресурс этих ассоциативных микроорганизмов (Schelud'ko *et al.*, 2007). Показано также, что адсорбция витального красителя конго красного может приводить к подавлению роения азоспирилл и к стабильному проявлению у них способности к распространению в полужидкой среде с образованием микроколоний (Шелудько с соавт., 2006).

Целью настоящей работы было исследование изменений социального поведения и клеточной поверхности бактерий рода *Azospirillum* при культивировании на полужидких средах, содержащих данный краситель, методами световой и электронной микроскопии.

Объектами исследования являлись штаммы *Azospirillum brasilense* Sp7 и Sp245. Бактерии выращивались на полужидкой синтетической среде в течение 48-72 часов при температуре 32°C. Посев в полужидкий агар осуществляли уколом петлей в среду культивирования. Для подавления роения бактерий конго красный добавляли в полужидкую среду до концентрации 37.5 мкг/мл.

С помощью световой микроскопии были проанализированы особенности фронта распространения азоспирилл в полужидкой среде с добавлением и без добавления красителя. Установлено, что в среде с конго красным небольшие мобильные колонии образуются в массиве единичных клеток и, сформировавшись, покидают границы фронта роения. Следует отметить, что у бактерий штамма Sp7 (в отличие от Sp245) в присутствии красителя выявляется некий межклеточный матрикс, очевидно, являющийся результатом адсорбции конго красного на поверхности клеток. При этом клетки Sp7 на среде без добавления красителя, модулирующего изменения социального поведения азоспирилл, распространялись исключительно посредством роения, а у Sp245 перед фронтом роящихся клеток наблюдались единичные мигрирующие микроколонии.

Методом электронной просвечивающей микроскопии были оценены изменения поверхности бактерий, выращенных в течение 3 суток в полужидкой среде в присутствии конго красного. Показано, что клетки, выращенные на среде, не содержащей красителя, имеют полярные жгутики, тогда как клетки со среды с конго красным не имеют жгутиков и покрыты слоем фибриллоподобного материала, предположительно белковой природы и относящегося к классу пилинов.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНОВ *GROESL* БАКТЕРИЙ-ДЕСТРУКТОРОВ НЕФТИ РОДА *RHODOCOCCLUS*

Букляревич А.А.¹, Чернявская М.И.¹, Валентович Л.Н.², Титок М.А.¹

¹Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь; ²ГНУ Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь
ann_bukl@tut.by

Бактерии рода *Rhodococcus*, способные утилизировать опасные для жизнедеятельности живых организмов поллютанты, являются перспективными объектами биотехнологии. Для эффективного использования данных микроорганизмов абсолютно необходимы знания об организации и функционировании их систем метаболизма, определяющих способность противостоять стрессовым условиям среды. В этом плане определенный интерес представляют белки теплового шока *GroESL*, экспрессия которых на базовом уровне обеспечивает функциональную активность многих клеточных ферментов, а при стрессовых условиях они защищают клетку от гибели.

Целью работы являлся молекулярно-генетический анализ генов *groESL* бактерий рода *Rhodococcus*, способных эффективно деградировать нефть при разных температурных режимах (4 °C, 24 °C, 37 °C, 45 °C).

Нуклеотидные последовательности генов *groELS* бактерий *R. opacus* GP1, *R. erythropolis* A29-k1, *R. erythropolis* A2-h2 были определены после изоляции с использованием полимеразной цепной реакции и встраивания в состав вектора *E. coli* pTZ57R/T. Гены *groESL* бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap анализировали на основании полногеномного секвенирования. В результате полученных данных установлено, что исследованные детерминанты характеризуются высокой консервативностью, что позволяет их использовать для видовой идентификации бактерий рода *Rhodococcus* (общепринятый анализ генов 16S РНК не позволяет установить их видовой статус). Филогенетический анализ достоверно установил различия в генах *groELS* представителей видов *R. opacus*, *R. erythropolis* и *R. pyridinivorans*. Несмотря на 100 % сходство генов *groES* внутри вида *R. erythropolis* установлены отдельные несинонимические замены в этих детерминантах у исследованных бактерий *R. erythropolis* A29-k1 (замена gly27 на asp и ala45 на val) и *R. erythropolis* A2-h2 (lys99 на gln). Следует отметить, что данные штаммы изолированы из антарктического грунта (в ГенБанке отсутствуют сведения о генах *groESL* бактерий *R. erythropolis*, выделенных на территории Антарктиды). Наибольший полиморфизм в генах *groEL* выявлен внутри вида *R. opacus* (до 4% отличий). У бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap (эффективно деградирует нефть при температуре до 45 °C) оперон *groESL* идентичен на 100% таковому бактерий *R. pyridinivorans* SB3094, однако имеет другое

генетическое окружение (ниже по течению расположены гены, детерминирующие рекомбинацию, и локализован геном бактериофага размером более 39 kb).

ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОСТИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА НАКОПЛЕНИЕ ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТОВ У ШТАММА RHODOCCOCUS RUBER П5-8

Бурлуцкая Е. Ю.², Максимова Ю. Г.¹

¹ФГБОУ ВО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия;

²ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

burlutskajelena@yandex.ru

Полигидроксиалканоаты (ПГА) – это полиэфиры гидроксипроизводных алкановых кислот, внутриклеточные углеродсодержащие запасные питательные вещества, накопление которых происходит в условиях несбалансированного роста, при лимитировании по источнику азота, фосфора, серы, кислорода или магния, и при избытке предшественников полимеров - соединений углерода. Уровень содержания этих веществ в клетке в процессе метаболизма может изменяться - в зависимости от длительности культивирования и фазы роста в клетках микроорганизмов идут процессы как синтеза и накопления, так и эндогенной деградации полимеров.

Целью настоящей работы явилось изучение накопления ПГА в клетках *Rhodococcus ruber* П5-8 в зависимости от длительности культивирования на полноценной и несбалансированной синтетической минеральной среде с бутиратом натрия как источником углерода.

R. ruber П5-8 выращивали на среде, сбалансированной по источнику углерода, азота и фосфора в течение 5-14 суток с последующим переносом на лимитированные по азоту и фосфору среды и культивированием в течение 5 суток. Содержание ПГА определяли методом масс-спектрометрии гидролизированных при 100°C образцов биомассы.

Наибольшее накопление ПГА (510,2 мкг/мг) было отмечено в условиях роста на среде, ограниченной по фосфору при длительности культивирования 10 суток (5 суток - фаза накопления биомассы и 5 - синтез ПГА на несбалансированной среде). При той же продолжительности роста на среде, лимитированной по азоту, содержание ПГА в клетках составило 136,0 мкг/мг. При культивировании 14 суток на сбалансированной среде с дальнейшим переносом на лимитированную среду клетки накапливали меньшее количество ПГА. Так, при недостатке азота содержание ПГА составило 126,23 мкг/мг, при недостатке фосфора - 61,5 мкг/мг. Более того, отличалось содержание ПГА в клетках при росте на сбалансированной среде в течение 5 и 14 суток - оно составило 407, 5 мкг/мг и 45,2 мкг/мг соответственно. Можно предположить, что разница в содержании ПГА в клетках связана с длительностью культивирования. Вероятно, выраживание клеток на протяжении двух недель приводит к использованию резервного источника питательных веществ - накопленного ПГА, в результате истощения субстрата роста.

Работа поддержана Комплексной программой Уральского отделения РАН (0426-2015-0028), проект № 15-4-4-26 "Биосинтез и биокаталитическая трансформация полимерных соединений".

ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ И МОЛЕКУЛЯРНОЙ ЭВОЛЮЦИИ ВИРУСА ГЕМОРАГИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ КРОЛИКОВ В РОССИИ С 2003 ПО 2016 ГГ.

Бурмакина Г.С.¹, Малоголовкина Н.В.¹, Луницин А.В.¹, Малоголовкин А.С.¹

¹ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной вирусологии и микробиологии

РАСХН, пос. Вольгинский, Владимирская область, Россия

Lila5757@yandex.ru

Вирусная геморрагическая болезнь кроликов (ВГБК) - остропротекающая высококонтагиозная болезнь диких и домашних кроликов (*Oryctolagus cuniculus*), первая вспышка которой была отмечена в 1984 г. в Китае. Заболеваемость при ВГБК может достигать 70-80 %, а летальность - 90-100 %. Возбудителем заболевания является вирус семейства *Caliciviridae* рода *Lagovirus*.

Вспышки ВГБК ежегодно регистрируют в разных странах мира, включая и Россию. Природным резервуаром возбудителя при этом являются популяции диких кроликов, в которых вирус постоянно циркулирует зачастую совместно с непатогенными калицивирусами кроликов. Анализ особенностей геномной организации и молекулярной эволюции калицивирусов кроликов необходим для прогнозирования новых вариантов вируса и предсказания эволюционных изменений у циркулирующих вариантов вируса.

Целью настоящего исследования являлось изучение генетического разнообразия и закономерностей молекулярной эволюции калицивирусов кроликов, циркулирующих на территории Российской Федерации.

Для достижения поставленной цели необходимо было провести филогенетический и сравнительный анализ последовательностей генов, кодирующих белки капсида (VP60 и VP10), штаммов вируса ГБК, выделенных на территории России с 2003 года по настоящее время. Все исследованные штаммы вируса ГБК были генетически гетерогены и отнесены к геногруппе G6, объединяющей штаммы вируса, принадлежащие к антигенному варианту RHDVa. В последовательности гена VP60 отечественных штаммов были выявлены 2 кодона (в Е регионе – 432 и в F регионе – 476), являющиеся маркерами положительного отбора. Замены в данных кодонах потенциально могут свидетельствовать об эволюционных событиях в структуре капсидного белка у российских изолятов вируса ГБК.

С явлением рекомбинации может быть связано возникновение патогенного вируса ГБК из непатогенных калицивирусов кроликов. В связи с этим следующим этапом изучения молекулярных аспектов эволюции вируса ГБК являлось определение участков генома, связанных с рекомбинацией, а также выяснение роли рекомбинации в эволюции калицивирусов кроликов. В ходе исследований было установлено, что для вируса ГБК характерна гомологичная рекомбинация последовательности гена VP60, которая играет важную роль в эволюции вируса ГБК.

Таким образом, в ходе исследований проведен анализ структуры генома штаммов вируса ГБК, циркулирующих на территории Российской Федерации, а также определены особенности молекулярной эволюции вируса.

Работа выполнена при финансовой поддержке фонда Президента РФ для государственной поддержки молодых российских учёных (грант № МК-9335.2016.11).

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ ЦИАНОБАКТЕРИАЛЬНОЙ ПРИРОДЫ НА РОСТ И ЛИПИДООБРАЗОВАНИЕ *STREPTOMYCES CANOSUS* CNMN-AC-02

Бырса М.Н.¹

¹Институт микробиологии и биотехнологии АНМ, Кишинев, Республика Молдова
mellon23@yandex.ru

Ассоциации цианобактерий и актиномицетов широко распространены в природе. Они используют в качестве субстрата комплекс биологически активных веществ, от которых зависит химический состав продуктов жизнедеятельности.

Целью исследований было изучение влияния препаратов цианобактериальной природы на выход биомассы и фракционный состав липидов *Streptomyces canosus* CNMN-Ac-02.

Для повышения активности штамма *S. canosus* CNMN-Ac-02 использовались препараты, полученные из биомассы *Spirulina (Arthrospira) platensis*: экстракт аминокислот и олигопептидов и сульфитированные полисахариды. Инокулум штамм *S. canosus* CNMN-Ac-02 получен при культивировании на жидкой синтетической среде Дюлоне в течение 3 суток при температуре 27°C. Препараты вносили в комплексную жидкую среду культивирования М-1 (основной источник углерода и азота – кукурузная мука) в разных концентрациях. Культивирование осуществлялось в течение 5 суток на вибростеле при температуре 27°C. Количество полученной биомассы определяли гравиметрически. Экстракцию липидов из биомассы производили по методу Фолча, модифицированному в лаборатории. Фракционный состав определяли методом тонкослойной хроматографии денситометрически на пластинах Sorbfil (100×150 мм).

Установлено, что при добавлении 20.0 % экстракта аминокислот и олигопептидов в среду культивирования выход биомассы штамма увеличивался на 81.38 %, а наибольшее количество липидов, содержащихся в биомассе (38.36 %), было получено при добавлении в среду 1.0 % экстракта аминокислот и олигопептидов. Количество фракции фосфолипидов увеличилось по сравнению с контролем на 25.39 % при добавлении 5.0 % экстракта аминокислот и олигопептидов, триглицериды уменьшились на 10-30 % при всех концентрациях этого препарата.

Цианобактериальный препарат полисахаридной природы оказал следующее действие: присутствие 30.0 % Псх*ZnS в среде способствовало увеличению выхода биомассы на 63.91 % к контролю, а количество липидов в биомассе *S. canosus* CNMN-Ac-02 снизилось на 10-40 % при всех испытанных концентрациях. Замечено увеличение содержания фракции фосфолипидов при концентрации 1.0 % Псх*ZnS (на 39.34 %), а стеринов – на 16.9 % по отношению к контролю. Содержание 30.0 % Псх*ZnS в среде культивирования увеличило долю триглицеридов на 28.8 %.

Полученные результаты позволяют сделать вывод, что биопрепараты из биомассы *Spirulina (Arthrospira) platensis* оказывают положительное действие на рост и продуктивность липидов в стрептомицетах, однако количество используемого препарата зависит от поставленной задачи.

РАЗНООБРАЗИЕ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ ГОРОХА ПОСЕВНОГО *PISUM SATIVUM* L.

Васильева Е.Н.^{1,2}, Афонин А.М.², Ахтемова Г.А.², Жуков В.А.², Борисов А.Ю.², Тихонович И.А.²

¹ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург, Россия; ²ГНУ

Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии

Россельхозакадемии, Санкт-Петербург, Россия

grayman616@gmail.com

Большинство растений взаимодействует с разнообразными группами полезных микроорганизмов. В последние годы все больший интерес вызывают эндофитные бактерии, которые населяют межклеточное пространство растений и выступают в роли эндосимбионтов. Бактериальные эндофиты способны положительно влиять на рост и развитие растительного организма, улучшать его снабжение необходимыми питательными веществами, увеличивать устойчивость к стрессорным факторам среды и модулировать уровень гормонов. Кроме того, такие организмы способны продуцировать сидерофоры и витамины, что также повышает иммунитет растения и резистентность к патогенам.

Цель данной работы: определение таксономической принадлежности выделенных бактериальных культур с помощью секвенирования диагностического фрагмента гена 16S рРНК.

Эндофитные бактерии выделяли из поверхностно стерилизованных стеблей и листьев растений гороха посевного (*Pisum sativum* L.) трех генотипов (К-8274 - высокоэффективный при взаимодействии с полезной почвенной микрофлорой; К-3358 – низкоэффективный и «Триумф» - селекционный сорт). Всего было выделено 230 морфологически различных изолятов бактериальных эндофитов.

Таксономическую принадлежность определяли с помощью секвенирования диагностического фрагмента V3-V12 гена 16S рРНК. Выделение бактериальной ДНК производилось по модифицированному фенол-хлороформному протоколу.

На сегодняшний день проанализирована часть штаммов. Помимо преобладающих во всех генотипах бактерий рода *Bacillus*, из генотипа К-3358 выделены бактерии вида *Rahnella aquatilis*; в листьях растений К-8274 обнаружены бактерии из родов *Serratia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*; из стеблей растений сорта «Триумф» были выделены бактерии родов *Sphingomonas* и *Micrococcus*, из листьев — *Micrococcus* и *Stenotrophomonas*. В смывах с листьев гороха найдены бактерии из родов *Rhizobium*, *Pseudomonas* и *Sphingomonas*.

В настоящее время в лаборатории поддерживается коллекция бактериальных эндофитов и эпифитов и продолжается работа по установлению таксономической принадлежности всех полученных штаммов и созданию коллекции ДНК бактерий.

Работа поддержана грантами РФФИ 17-04-01978-а и НШ-6759.2016.4.

АНТАГОНИЗМ *STREPTOMYCES MASSASPOREUS* CNMN-06 К ПАТОГЕННЫМ МИКРООРГАНИЗМАМ

Васильчук А. В.¹

¹Институт микробиологии и биотехнологии АНМ, Кишинев, Республика Молдова

vasilchuk2009@mail.ru

Антибиотики - самый большой класс фармацевтических препаратов, которые синтезируются микроорганизмами. Актиномицеты разных родов являются продуцентами многих ценных антибиотиков и других биологически активных веществ. В связи с этим представляет несомненный интерес исследование биологии и экологии актиномицетов. Актиномицеты рода *Streptomyces* экскретируют во внешнюю среду множество продуктов своего метаболизма, в том числе и антибиотики. Целью исследования было определение антимикробной активности *Streptomyces massasporus* (*St.m.*) CNMN-Ac-06 при культивации на разных питательных средах.

По результатам проведенных исследований установлено, что штамм *St.m.* CNMN-Ac-06, культивированный на среде Чапека, вызвал образование зон задержки роста (оказался чувствительным) у *St. faecalis* и *Cand. albicans* до 14 и 13 мм соответственно, на остальных средах наблюдалось полное подавление роста. Штамм *St. m.* CNMN-Ac-06, культивированный на остальных четырех средах, показал антибактериальную активность в отношении *Cand. albicans*, вызвав образование зон задержки роста d= 13,0 мм на среде Гаузе, d=15,0 мм на среде SR-1, d=15,0 мм на среде овсяный агар, d= 14,0 мм на среде Придгема и Готтлиба. В отношении *E. coli*, *St. aureus*, *Ps. aeruginosa* исследуемый штамм, культивированный на агаризованных средах Чапека, Гаузе, Придгема и Готтлиба, SR-1, не выявил антимикробной активности.

Контролем опыта служили стандартные диски с антибиотиком (стрептомицин, гентамицин, тетрациклин, нистатин).

Таким образом, проведенные исследования показывают, что выделенный из почв Молдовы штамм *St. m. CNMN-Ac-06* обладает антимикробной активностью по отношению к ряду тест-микроорганизмов в разной степени и особенно в зависимости от среды культивирования. Полученные результаты позволяют рассматривать штамм *St. m. CNMN-Ac-06*, как основу для создания комплексного биопрепарата с возможным применением в ветеринарии и сельском хозяйстве, в частности, растениеводстве.

ИЗУЧЕНИЕ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ БАКТЕРИЙ ЦИКЛА СЕРЫ В ПРИБРЕЖНЫХ ДОННЫХ ОСАДКАХ ЧЕРНОГО МОРЯ

Власова М.А.¹, Брюханов А.Л.², Перевалова А.А.¹, Малахова Т.В.³, Пименов Н.В.¹

¹ФГУ ФИЦ Фундаментальные основы биотехнологии РАН, Москва, Россия; ²ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; ³ФГБУН Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН, Севастополь, Россия

brjuchanov@mail.ru

Чёрное море – один из крупнейших меромиктических водоёмов, в донных осадках которого протекает мощный процесс образования сероводорода, биогенная природа которого на данный момент подтверждена полностью. Несмотря на это, к настоящему времени еще не было проведено серьезных исследований филогенетического разнообразия сульфатредуцирующих бактерий (СРБ) в донных отложениях, хотя изучение сульфатредукции, а также сопряженного с ней процесса окисления серы и вовлеченных в них микроорганизмов, несомненно, остается одним из ключевых векторов изучения морских экосистем в целом, и Чёрного моря, в частности.

Целью данной работы было получение данных о филогенетическом разнообразии бактерий цикла серы, обитающих в прибрежных донных осадках Чёрного моря.

Донные образцы отбирали в Голубой бухте Чёрного моря (г. Севастополь) с глубины 5 м в августе 2015 г. из белёсых бактериальных матов сульфурет, а также из верхнего слоя близлежащего донного осадка в качестве контроля. С ДНК из нативных проб и полученных нами накопительных культур был проведён ПЦР-анализ с использованием олигонуклеотидных праймеров, специфичных к участкам генов (reductive *dsrB*, oxidative *dsrB*), кодирующих β-субъединицу диссимиляционной (би)сульфитредуктазы – ключевого фермента цикла серы, присущего сульфатредуцирующим и сероокисляющим бактериям. Полученные ПЦР-продукты разделяли посредством денатурирующего градиентного гель-электрофореза (DGGE), определяли их нуклеотидные последовательности и проводили филогенетический анализ с помощью программных пакетов BLAST и MEGA.

Было показано, что по аминокислотным последовательностям, кодируемым геном *dsrB*, сульфатредуцирующие бактерии, обнаруженные нами в донных осадках Чёрного моря, имели наибольшую гомологию (92-99%) с геном *dsrB* культивируемых СРБ родов *Desulfovibrio*, *Desulfatitalea*, *Desulfobacter*, *Desulfobacterium*, а также с некультивируемыми штаммами СРБ из различных морских местообитаний, таких как морские осадки Северного и Японского морей. Аминокислотные последовательности, кодируемые геном oxidative *dsrB*, обладали наибольшей гомологией (90-99%) к соответствующему гену представителей родов *Thiocapsa*, *Thiobaca*, *Thioflavicoccus* и *Thiorhodococcus*.

Работа частично финансировалась из средств гранта РФФИ №14-04-90400.

ВЛИЯНИЕ КОСМЕТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ НА РОСТ БИОПЛЕНОК МИКРООРГАНИЗМОВ-ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ МИКРОБИОТЫ КОЖИ

Ганнесен А.В.^{1,2,3}, Боррель В.³, Лефёвр Л.⁴, Нетрусов А.И.¹, Плакунов В.К.², Фейоле М.Г.Ж.³

¹ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; ²ФГБУ ФИЦ Фундаментальные основы биотехнологий РАН, Институт микробиологии имени С.Н. Виноградского, Москва, Россия; ³Университет Руана, Руан, Франция; ⁴Дерматологические лаборатории Урьяж, Москва, Россия
andrei.gannesen@gmail.com

Кожа и ее микробиом являются важными факторами взаимодействия организма с окружающей средой – они подвергаются разнообразному воздействию биологически активных соединений, и в частности – косметических средств. Косметика ежедневно используется многими людьми и может влиять на кожную микробиоту.

На коже человека, по разным оценкам, обитают сотни видов микроорганизмов – представителей всех трех доменов жизни. Для многих из них не пока подобраны условия культивирования в лаборатории. Одними из самых распространенных представителей кожной микробиоты являются грамположительные бактерии *Staphylococcus aureus* и *Propionibacterium acnes* – факультативный и аэротолерантный анаэробы соответственно. Оба вида являются условными патогенами, способны образовывать биопленки (в том числе и на коже) и быть причиной инфекционных заболеваний кожи и внутренних органов. Например, *P. acnes* может быть причиной акне и воспалений, ассоциированных с искусственными имплантатами, а *S. aureus* осложняет атопический дерматит. Важным фактором развития инфекционных заболеваний являются биопленки данных бактерий, которые образуются на поверхности ран, слизистых оболочек, в полостях кожных желёз.

Целью данной работы было исследование влияния на рост культур и биопленок *S. aureus* и *P. acnes* косметических средств «Термальная вода Урьяж»[™] и «Тефлоза»[™]. При помощи методики с кристаллическим фиолетовым и конфокальной лазерной сканирующей микроскопии нами показано, что данные средства значительно ослабляют рост биопленок обоих штаммов. Анализ динамики роста культур и биопленок и эксперименты с окрашиванием биопленок на фильтрах при помощи 3-(4,5-диметил-2-тиазолил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолия бромидом цитотоксического влияния на клетки не показали. Мы полагаем, что термальная вода, как и тефлоза, влияет на способность клеток к адгезии к поверхностям и друг к другу. Это подтверждается в опытах по адгезии клеток к растворителям – в присутствии в среде исследуемых средств клетки обоих штаммов становятся более отрицательно заряженными (сродство к хлороформу повышается, а к этилацетату – понижается).

Полученные результаты показывают важность воздействия косметических средств и процедур на кожу человека и ее микробиоту, что позволит в будущем разрабатывать процедуры и препараты для лечения заболеваний кожи, вызванных биопленками патогенных микроорганизмов.

АДГЕЗИЯ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ *KLEBSIELLA OXYTOCA* И *MORGANELLA MORGANII* К КЛЕТКАМ КАРЦИНОМЫ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ T-24

Гиляева А.Г.¹, Миннуллина Л.Ф.¹, Марданова А.М.¹

¹ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Казань, Россия
frica1203supchik@list.ru

Инфекции мочевыводящих путей (ИМП) относятся к наиболее распространенным инфекционным заболеваниям. Основными возбудителями ИМП являются бактерии из семейства *Enterobacteriaceae*, в частности, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* и *Proteus mirabilis*. Такие энтеробактерии, как *Klebsiella oxytoca* и *Morganella morganii*, хотя и редко, но также способны вызывать ИМП. Вирулентные свойства этих бактерий изучены недостаточно. Известно, что ключевым этапом, необходимым для колонизации мочевыводящих путей, инвазии в клетки уротелия, формирования биопленок или синтеза токсинов, является адгезия к клеткам хозяина или твердым поверхностям, таким как мочевые катетеры.

Цель данной работы заключалась в исследовании адгезивных свойств клинических изолятов *K. oxytoca* и *M. morganii*, выделенных из катетера и мочи амбулаторных больных соответственно. Бактерии культивировались на среде LB в течение 12 ч. Наличие фимбрий на поверхности уропатогенов определяли с помощью теста, основанного на дрожжевой агглютинации. Агглютинация клеток дрожжей, вызванная бактериями *K. oxytoca*, наблюдалась через 55 секунд, а реакция, вызванная штаммами *M. morganii* 4 и 190, наступала через 4.5 мин и 30 с соответственно. Исследовали адгезивные свойства бактерий к клеткам

карциномы мочевого пузыря Т-24. Для этого выращенные на покровных стеклах клетки эукариот инфицировали суспензией бактерий в соотношении 50 бактерий на 1 клетку. Пробоподготовка включала в себя фиксацию 2.5% раствором глutarового альдегида и обезвоживание восходящими концентрациями спиртов. Препараты изучали с помощью сканирующей электронной микроскопии (*Merlin*, Carl Zeiss). Было показано, что разные виды бактерий по-разному влияют на морфологию клеток уротелия. *K. oxytoca* адгезирует к эукариотическим клеткам, однако не индуцирует формирование выростов на их поверхности; более того, бактериальные клетки выделяют метаболиты, локально формирующие отверстия на поверхности клеток уротелия. В то же время, эукариотические клетки в местах контакта со штаммами *M. morganii* 4 и 190 формируют большое количество выростов. Показано, что штамм *M. morganii* 190, обладающий выраженными гемолитическими свойствами, обладает также выраженными способностями к адгезии и, кроме того, приводит к гибели большинства эукариотических клеток. Можно заключить, что результаты, полученные на дрожжевых клетках и клетках млекопитающих, коррелируют между собой.

Таким образом, впервые установлено, что уropатогенные штаммы *K. oxytoca* и *M. morganii* способны адгезировать на поверхности клеток уротелия, что может способствовать развитию инфекций мочевыводящих путей.

ДИНАМИКА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ И ДЫХАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ РОДОКОККОВ ПРИ КОНТАКТЕ С НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННОЙ ВОДОЙ В БИОРЕАКТОРЕ

Головина Е.Э.¹, Куюкина М.С.^{1,2}, Ившина И.Б.^{1,2}

¹ФГБОУ ВО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия;

²ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

basa_12@mail.ru

Одним из эффективных способов очистки нефтезагрязненных сточных вод (НСВ), является использование биореакторов с иммобилизованными углеводородокисляющими микроорганизмами. Иммобилизация обеспечивает повышенную жизнеспособность клеток бактерий, их устойчивость к воздействию неблагоприятных факторов внешней среды, а также сохранение метаболической активности в течение длительного времени. Цель работы – изучение жизнеспособности и дыхательной активности иммобилизованных в криогеле поливинилового спирта (крио-ПВС) клеток родококков при контакте с нефтезагрязненной сточной водой в колонном биореакторе.

В работе использовали штаммы *Rhodococcus opacus* ИЭГМ 263 и *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 231 из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов ИЭГМ УрО РАН (<http://www.iegmccl.ru>). Родококки выращивали в 250-мл конических колбах, содержащих 100 мл мясopептoнного бульона (Oxoid Ltd, Англия), на орбитальном шейкере (150 об/мин) при 28°C в течение 3 сут. В качестве носителя для иммобилизации клеток родококков использовали макропористый криогель на основе ПВС марки 16-1 (ГОСТ 10779-78) производства ОАО «Невинномысский Азот» (Россия). Клеточные суспензии *R. opacus* ИЭГМ 263 или *R. ruber* ИЭГМ 231 смешивали с 12 %-ным раствором ПВС в соотношении 1: 2. Перед использованием гранулы с иммобилизованными клетками регидратировали в 0.5%-ном растворе NaCl в течение 24 ч. Жизнеспособность иммобилизованных в крио-ПВС клеток родококков определяли методом окрашивания йодонитротетразолия хлоридом (ИНТХ). Определение дыхательной активности иммобилизованных клеток проводили с использованием респирометра Micro-Oxymax® (Columbus, США).

Установлено, что крио-иммобилизованные клетки *R. ruber* после контакта с НСВ в биореакторе проявляли в 1,2-1,5 раз более высокую жизнеспособность по сравнению со свежеприготовленными клетками. В то же время, жизнеспособность представителей *R. opacus* после биореактора незначительно снижалась. Сравнительный анализ дыхательной активности показал, что после обработки нефтезагрязненной воды в биореакторе повышалась скорость респирации крио-иммобилизованных клеток *R. ruber*, а также ассоциации *R. opacus* и *R. ruber*. При этом средняя скорость потребления O₂ и выделения CO₂ превышала таковую для свежееммобилизованных клеток на 54–74 % и 74–80 % соответственно. Однако скорость респирации иммобилизованных клеток *R. opacus* после биореактора снижалась на 7–41 %.

ВЛИЯНИЕ 2,4,6-ТРИНИТРОТОЛУОЛА НА ИЗМЕНЕНИЕ СПЕКТРА ЦИТОЗОЛЬНЫХ БЕЛКОВ *BACILLUS PUMILUS* GA-1

Горбунова А.С.¹, Ваньков П.Ю.¹, Яковлева Г.Ю.¹

¹ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
GorbunovaAnna94@gmail.com

2,4,6-тринитротолуол (ТНТ) - нитроароматическое соединение, которое проявляет токсическое действие на про- и эукариот и обладает чрезвычайной устойчивостью к биodeградации. Нитроарилы находят свое применение в военной деятельности, как взрывчатые вещества, в сельском хозяйстве, как гербициды, в промышленности, как сырье для производства красителей. Биологическая очистка при помощи микроорганизмов является одним из универсальных и безопасных способов удаления химических соединений из загрязненных объектов. Это связано с наличием у них различных ферментативных систем деструкции ксенобиотиков. Известно, что токсический эффект на микроорганизмы-деструкторы проявляется в подавлении роста культуры, изменении морфологии клеток, подавлении дыхания, снижении трансмембранного потенциала и т.д.

Внутриклеточные изменения *Bacillus subtilis* SK 1 под действием ТНТ (20, 200 мг/л) оценивали с помощью протеомного анализа с привлечением двумерного электрофореза и масс-спектрометрии. С использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и ионообменной хроматографии (ИОХ) были идентифицированы продукты трансформации данного ксенобиотика.

Рост культуры наблюдался после полной элиминации ТНТ (20 мг/л) из среды культивирования к 4 часу. При исходной концентрации ТНТ 200 мг/л к 24 часу из среды элиминировалось 18% данного ксенобиотика. Трансформация ТНТ шла по пути восстановления нитрогрупп с образованием 4-амино-2,6-динитротолуола.

Сравнительный протеомный анализ продемонстрировал, что высокие концентрации ксенобиотика (200 мг/л) оказывали более выраженное токсическое действие в отношении *B. subtilis*. Среди индуцируемых белков изучаемого микроорганизма преобладали белки, ответственные за восстановительный путь трансформации ксенобиотика, снятие окислительного стресса и репарацию молекулы ДНК и клеточной стенки. В числе ингибируемых ТНТ белков отмечались белки характерные для клеток, находящихся на стадии активного роста.

В ходе протеомного анализа большинство белков *B. subtilis* было идентифицировано как белки *B. pumilus*. Поэтому для уточнения таксономического положения штамма *B. subtilis* был проведен генетический анализ с помощью секвенса 16S рРНК. Согласно проведенному скринингу по базе данных GenBank, наиболее близкими к полученной последовательности гена 16S рРНК к штамму оказались штаммы вида *B. pumilus*. Уровень сходства последовательностей изучаемого штамма и представителей вида *B. pumilus* составляет 99%.

СИДЕРАТЫ КАК ФАКТОР ПОВЫШЕНИЯ ПЛОДОРОДИЯ ПОЧВЫ

Гритчин М.В.¹

¹ФГБУН Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма, Симферополь, Россия
maxim_gmv@mail.ru

Эффективным и целесообразным агротехнологическим приемом, обеспечивающим пополнение органического вещества в почве является сидерация. Трансформация фитомассы, поступившей в почву при заделке сидеральных культур, в сложные органические вещества, в том числе гумус, происходит при непосредственном участии микроорганизмов. В Крыму период от заделки сидератов в почву (май-начало июня) до посева озимых зерновых культур (первая декада октября) достаточно длительный. В то же время, погодные условия, как правило, характеризуются высокими температурами и отсутствием осадков, что негативно сказывается на микробиологических процессах. Следовательно, актуальной проблемой является изучение микробиологической активности почвы в сидеральных парах.

В полевых опытах на базе агропредприятия ООО «Антей» изучали динамику биологической активности чернозема южного при заделке фитомассы озимой ржи в фазу выхода в трубку с применением целлюлозолитического микробного комплекса, разработанного в отделе сельскохозяйственной микробиологии ФГБУН «НИИСХ Крыма».

Комплекс биопрепаратов деструкторов растительных остатков активировал микробиологические процессы в почве. Так, в первую фазу разложения фитомассы тритикале (через 0,5 месяцев экспозиции), отмечалось увеличение эмиссии диоксида углерода, что может свидетельствовать об ускорении минерализации органического вещества гетеротрофными микроорганизмами. Увеличивалась активность ферментов пероксидазы и полифенолоксидазы через 2, 4 и 6 месяцев исследования на 27 %, 25 % и 164 % и 26 %, 12 % и

166 % соответственно в сравнении с контролем. Данные ферменты характеризуют потенциальную способность почвы окислять органические соединения, превращая их в гумус.

Численность целлюлозолитических микроорганизмов коррелировала с пероксидазой и полифенолоксидазой, $r=0,84$ и $0,94$ соответственно, что свидетельствует об обеспечении микроорганизмов органическим субстратом и интенсивности процессов его гумификации.

Таким образом, установлено, что применение микробных препаратов при заделке фитомассы озимой ржи в фазу выхода в трубку повышает биологическую активность почвы сидерального пара, стимулирует процессы гумификации, тем самым улучшает плодородие почвы.

ПОЛУЧЕНИЕ ШТАММОВ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ С ИЗМЕНЁННОЙ РЕГУЛЯЦИЕЙ ГЕНОВ НИТРОГЕНАЗНОГО КОМПЛЕКСА

Гуменко Р.С.¹, Владимирова А.А.¹, Саргалиева Г.М.², Акимова Е.С.¹, Баймиев Ан.Х.¹

¹ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Уфа, Россия; ²ФБГОУ ВПО Башкирский государственный университет, Уфа, Россия
r.gumenko@yandex.ru

Известно, что за активацию всей системы азотфиксации как у свободноживущих, так и у симбиотических азотфиксаторов отвечает продукт всего лишь одного гена *nifA*, что дает возможность искусственно изменять его регуляцию и, по сути, изменять азотфиксирующий статус микроорганизма. У ризобий, в отличие от свободноживущих азотфиксаторов, регуляция экспрессии *sum*-генов осуществляется не только внешними факторами (в основном, кислородом), но и растением-хозяином. Поэтому большинство клубеньковых бактерий не фиксирует азот вне растений. Учитывая также тот факт, что удельная (на бактериальную клетку) активность *nif*-генов у ризобий намного выше, чем у свободноживущих азотфиксаторов, появляется возможность получить рекомбинантные штаммы бактерий с измененной регуляцией экспрессии гена *nifA*, позволяющей им фиксировать азот *ex planta*, что существенно расширит границы применения клубеньковых бактерий в качестве биоудобрений.

Целью данной работы было создание штаммов клубеньковых бактерий, способных к фиксации азота в свободноживущем состоянии. Нами был создан ряд конструкций, содержащих ген *nifA* под управлением различных промоторов. За основу были взяты плазмиды *pJN105* (промотор *ParaBAD*) и *pJB658* (промотор *Pm*). Для того чтобы удостовериться, что промотор работает в штаммах ризобий нами параллельно были созданы такие же конструкции, где вместо целевого гена был вставлен репортерный ген зеленого флуоресцентного белка. При трансформации данными конструкциями ризобий образовывались зелено-окрашенные клоны бактерий, что доказывает функциональность промоторов в анализируемых бактериях. Полученные после трансформации конструкциями *pJNNifA* и *pJB658NifA* *R.leguminosarum* были испытаны на их способность к фиксации азота в свободноживущем состоянии. По нашим данным, ризобии способны к незначительной фиксации азота в свободноживущем состоянии. При искусственной индукции генов нитрогеназного комплекса наблюдается повышение азотфиксирующей активности примерно в 2,5 раза. Инкубирование клеток с индукцией генов нитрогеназного комплекса в бескислородной среде приводит к увеличению нитрогеназной активности в 2-3,5 раза по сравнению с диким типом. Таким образом, с помощью искусственной регуляции азотфиксирующую активность ризобии можно поднять только до определенного уровня, дальше начинается ингибирование нитрогеназы кислородом.

Работа поддержана грантом РФФИ № 26 16-34-0027816 и грантом УМНИК №9476ГУ2/2015 от 28.12.2015

ЗНАКОМСТВО УЧЕНИКОВ МЛАДШИХ КЛАССОВ С МИРОМ МИКРООРГАНИЗМОВ

Демьянова А.В.¹, Зверев А.А.¹, Казакова С.А.¹, Натапов В.А.¹, Никонова Д.О.¹, Хабибулина Р.Н.¹

¹МБОУ СОШ №3, Пушино, Россия
ramila66@bk.ru

Из большого количества источников информации мы знаем, что в окружающей нас среде присутствует огромное множество микроорганизмов: бактерий, одноклеточных грибов и прочее. Поскольку размер их очень мал, увидеть микроорганизмы невооруженным глазом невозможно. В научных и аналитических лабораториях для обнаружения и идентификации различных микроорганизмов используют специальное оборудование и методики. В условиях младшей школы затруднительно провести анализ отдельных клеток микроорганизмов, однако можно размножить клетки на питательной среде до количеств, позволяющих увидеть колонии без специальных средств. Целью нашей работы было познакомиться с микроорганизмами окружающей среды

(увидеть невидимое). В связи с целью были поставлены задачи визуализировать микроорганизмы, находящиеся в воздухе, на руках экспериментаторов и на предметах. Для достижения поставленной цели нами были использованы чашки Петри, содержащие стерильную среду LB, любезно предоставленные сотрудниками одной из лабораторий ФИБХ РАН. Для визуализации микроорганизмов воздуха, стерильные чашки были раскрыты в течение 30 сек. в помещениях класса, столовой и уборных комнат. Для изучения микроорганизмов, находящихся на руках, ученики класса дотрагивались до стерильной среды пальцами рук до и после мытья. Для визуализации микроорганизмов на предметах быта были использованы предварительно простерилизованные 2-х рублевые монеты. Чашки Петри инкубировали при комнатной температуре в течение недели, после чего проводился визуальный анализ выросших колоний микроорганизмов и сравнение с контрольными чашками. В результате проделанной работы ученики 3-го Б класса обнаружили присутствие бактерий и микроскопических грибов в окружающей среде, а так же самостоятельно убедились в необходимости тщательного мытья рук.

Авторы выражают благодарность всем одноклассникам- ученикам 3-го Б класса МБОУ СОШ №3, принимавшим посильное участие в выполнении работы.

ХАРАКТЕРИСТИКА ПОВЕРХНОСТНЫХ ГЛИКОПОЛИМЕРОВ ФЛОКУЛИРУЮЩИХ КУЛЬТУР БАКТЕРИЙ *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* Sp7 И Sp245

Евстигнеева С.С.¹, Федоненко Ю.П.^{1,2}, Коннова С.А.^{1,2}

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

Stels20295@yandex.ru

Одними из наиболее изученных представителей ризобактерий, стимулирующих рост и развитие растений, являются ассоциативные дiazотрофы рода *Azospirillum*. При ряде стрессовых условий азоспириллы формируют макроскопические скопления клеток – флоккулы. Образование флоккул, являясь защитным механизмом, повышает выживаемость и распространение бактерий в почве, а, следовательно, увеличивает эффективность колонизации растений, что определяет возможность их практического использования в составе биоудобрений. В процессе флокуляции принимают участие полярный жгутик и протеины внешней мембраны, в том числе лектины. Предполагают, что полисахариды поверхности бактериальной клетки – капсульные полисахариды (КПС) и липополисахариды (ЛПС) – также задействованы в данном процессе.

Цель работы: охарактеризовать состав КПС и ЛПС типового Sp7 и эндофитного Sp245 штаммов *A. brasilense*, продуцируемых бактериями при росте в жидкой питательной среде в условиях, способствующих флокуляции.

Бактерии выращивали в питательных средах с малатом натрия или фруктозой и NH_4Cl или KNO_3 в качестве источников углерода (C) и азота (N) соответственно. Для индукции флокуляции снижали содержание в среде источника азота от исходного соотношения C:N = 3:1 до 40:1 и 96:1 по аналогии с Sadasivan & Neugebauer (1987). Количественную оценку флокуляции бактериальных культур проводили в динамике роста по методу Madi & Henis (1989).

Максимальное флоккулообразование у бактерий *A. brasilense* Sp7 наблюдалось в среде с фруктозой и KNO_3 и C:N = 96:1 к 48 ч и достигало 67.3±6.3%. В случае эндофитного штамма наибольшая флокуляция (81.8±2.0%) была выявлена к 120 ч при культивировании в малатной среде с NH_4Cl и C:N = 40:1. Очевидно, что способность к образованию флоккул исследуемыми штаммами зависит от стратегии колонизации корневой системы растений, т.е. формирования экто- либо эндосимбиоза. Азоспириллы культивировали в средах, оптимальных для флокуляции каждого штамма, в течение указанного времени. Бактерии осаждали центрифугированием, с их поверхности смывали 0.15 M NaCl капсулу, а клетки высушивали ацетоном и использовали для экстракции ЛПС горячим водным фенолом. Анализ химического состава гликополимеров показал существенное возрастание доли глюкозы (Glc) в моносахаридном составе КПС и ЛПС обоих штаммов по сравнению с гликанами не флокулирующих культур. Увеличение содержания Glc в КПС ранее было обнаружено Del Gallo & Haegi (1990) для *A. brasilense* Cd и *A. lipoferum* Col5 при выращивании в течение 72 ч, а также Конновой с соавт. (2003) для *A. brasilense* Sp7(S) при росте в среде с глюконатом калия на протяжении 120 ч.

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСА МИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА МИКРОБОЦЕНОЗ РИЗОСФЕРЫ ГОРОХА

Еговцева А.Ю.¹, Мельничук Т.Н.¹

¹ФГБУН Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма, Симферополь, Россия
eaui82@mail.ru

Микробоценоз ризосферы является сложной системой, включающей в себя разнообразные микроорганизмы, которые взаимодействуют на уровне экологических и трофических связей, играют главную роль в разложении растительных остатков и круговороте питательных веществ, поддержании структуры почвы, биологической азотфиксации, уменьшении числа фитопатогенов и других изменениях свойств почв, влияющих на развитие растений. Интродукция в ризосферу растений эффективных штаммов бактерий разной функциональной активности, путем применения микробных препаратов, способна активизировать микробиологические процессы, направленные на повышение продуктивности сельскохозяйственных культур.

Целью нашей работы было установить влияние комплекса микробных препаратов (Ризобифит, Фосфоентерин, Биополлицид) на микробоценоз чернозема южного ризосферы гороха сорта Девиз в фазу цветения в условиях Степи Крыма.

Для анализа проводили отбор почвы ризосферы в фазу цветения. Определяли количество колониеобразующих единиц микроорганизмов основных эколого- трофических групп, используя общепринятые методы в микробиологии.

Обработку полученных результатов проводили статистическими методами с использованием компьютерной программы Excel 2016.

Микробиологический анализ ризосферы показал, что инокуляция семян комплексом микробных препаратов способствовала увеличению численности микроорганизмов различных эколого-трофических групп. Количество микроорганизмов, трансформирующих преимущественно соединения органического и минерального азота, превышало контроль соответственно на 51 и 78 %, а олиготрофов в 2,7 раза. Свободноживущие азотфиксирующие бактерии рода *Azotobacter* являются биоиндикаторами обеспеченности почв органическим веществом, а также фосфором и калием. В условиях полевого опыта общая численность аэробных азотфиксаторов превышала контроль на 78%, количество азотобактера так же возрастало. Под воздействием инокуляции отмечено увеличение количества актиномицетов почти в два раза, тогда как численность микромицетов и целлюлозолитиков снижалась на 23 и 33% соответственно.

Таким образом, установлено, что в условиях 2016 года, применение комплекса микробных препаратов способствовало увеличению численности микроорганизмов большинства эколого-трофических групп, которые являются агрономически полезными и принимают участие в трансформации азота в ризосфере, усиливают ферментативные процессы, снижают развитие патогенной микробиоты и, следовательно, способствуют улучшению состояния почвы.

ВЫЖИВАНИЕ НЕСПОРООБРАЗУЮЩИХ АКТИНОБАКТЕРИЙ И ИХ РОЛЬ В ОЧИСТКЕ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ ОТ ТОКСИЧНЫХ ПОЛЛЮТАНТОВ

Егозарьян Н.С.^{1,2}, Борзова О.В.^{1,3}, Поливцева В.Н.¹, Емельянова Е.В.¹,
Сузина Н.Е.¹, Головлева Л.А.¹, Соляникова И.П.¹

¹ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, Пушкино, Россия;

²ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; ³ФГБОУ ВО
Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия

oksana.borzova@inbox.ru

Актинобактерии - грамположительные бактерии, часть из которых не образует спор и мицелия, типичные представители микрофлоры почв и вод. Среди них встречаются штаммы, способные к разложению различных соединений, являющихся загрязнителями окружающей среды, такими как (хлор)фенолы, (хлор)бифенилы, полициклические ароматические соединения, нефть.

Целью данной работы было изучение особенностей роста и переживания неблагоприятных условий актинобактериями различных родов и их способности осуществлять разложение соединений, относящихся к основным классам загрязнителей.

В результате проведенных исследований показана способность бактерий родов *Rhodococcus*, *Gordonia*, *Arthrobacter*, *Microbacterium* переживать неблагоприятные условия в виде воздействия токсичных для клеток соединений (хлорфенолы), пониженной температуры, высушивания, длительного голодания. Показано, что общей стратегией выживания было образование в неблагоприятных условиях переживающих форм, представленных цистоподобными покоящимися клетками (ЦПК). Их характерные признаки: резко выраженная компактизация нуклеоидов, увеличение толщины оболочек и, в некоторых

случаях, появление дополнительных внешних покровов. Образование ЦПК происходило как при голодании клеток в результате истощения субстрата, так и в условиях, когда добавленное в качестве единственного источника углерода соединение не подвергалось разложению. ЦПК не проявляли метаболическую активность: их дыхание находилось на минимальном уровне, активность ферментов биодegradации отсутствовала. ЦПК были способны длительное время сохранять жизнеспособность. При попадании ЦПК в благоприятные условия наблюдался их быстрый переход к вегетативному росту. Прорастающие клетки можно было индуцировать целевым соединением. При этом до 20 раз повышалось дыхание клеток, и происходила индукция ферментов деградации. Например, после состояния покоя клетки *G. polyisoprenivorans* 135 были способны разлагать бензоат, фенол. Клетки штамма *R. opacus* 1CP, иммобилизованные на поликапроамидное волокно, разлагали фенол в концентрации до 1,5 г/л. Хранение иммобилизованных клеток в течение 6-9 мес не приводило к их гибели. Клетки 1CP, выращенные на богатой среде, после состояния покоя и индукции разлагали фенол, 4-хлорфенол, 2,4,6-трихлорфенол.

Показано, что почвенные бактерии, не относящиеся к активным деструкторам, разлагали некоторые хлорфенолы и снижали уровень загрязнения нефтью, подтверждая важное для окружающей среды значение почвенной микрофлоры в ликвидации загрязнений в невысокой концентрации.

Работа поддержана грантом РНФ №14-14-00368.

БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЕ *LISTERIA MONOCYTOGENES* С МОРСКИМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ РОДА *PSEUDOMONAS*

Еськова А. И.¹, Богатыренко Е. А.², Емельянова Т. И.²

¹ФГБНУ Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.П.Сомова, Владивосток, Россия; ²ФГАОУ ВО Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия
alenkaesya@gmail.ru

Привнесение патогенных *L.monocytogenes* в морскую среду может быть связано с паводковыми и грунтовыми водами [4], с загрязнением вод канализационными стоками [1,3]. Контакт листерий с гидробионтами, может представлять опасность, как для обитателей моря, так и для человека, употребляющего в пищу зараженных морских животных [2]. Согласно литературным источникам, бактерии рода *Listeria* обнаружены в различных гидробионтах: в свежей рыбе, крабах, креветках и омарах [5,6,7]. Но, морская среда не является благоприятной для существования патогенных бактерий, поэтому одним из механизмов адаптации патогенных бактерий к факторам окружающей среды можно отнести их возможность выживания в биопленках.

Цель работы – изучить способность *Listeria monocytogenes* формировать биопленки с морскими микроорганизмами, выделенными из пищеварительного тракта мидии Грея (*Grenomytilus grayanus*), обитающих в Японском море.

В работе использовали 11 штаммов *L. monocytogenes*, из коллекции НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова, а также 20 штаммов морских бактерий. Для определения таксономической принадлежности полученных микроорганизмов проводилось изучение их культуральных и физиолого-биохимических свойств с помощью классических микробиологических методов.

Для изучения биопленкообразования использовали модифицированный метод Christensen G.D. et al.(1985). Замеры ОП проводили в 96-луночных планшетах на планшетном ридере (LABSYSTEMS iEMS Reader MF, BioRad), при $\lambda=540\text{nm}$.

Определена способность штаммов *L. monocytogenes* к биопленкообразованию в монокультуре и в ассоциации с морскими бактериями при комнатной температуре. Всего было проведено 220 вариантов опыта. На основании полученных результатов, к микроорганизмам с высокими биопленкообразующими свойствами отнесены штаммы морских бактерий: M11 и M-P9 (идентифицированы как представители рода *Pseudomonas*). Оба штамма образовали биопленки со штаммом *L. monocytogenes* 3835/6№316. По результатам исследования, значения показателей оптической плотности, у штамма M-P9 -1,014, а у штамма M11- 0,860 (значение ОП контроля (среда без бактерий – 0,05). Таким образом, показано, что образование биопленки с сапротрофными микроорганизмами, в частности с бактериями рода *Pseudomonas*, способствует сохранению *L. monocytogenes*, что может представлять большую опасность для человека.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (Соглашение № 14-50-00034).

1. Зуев В.С. Сапрофитизм патогенных бактерий // Ветеринарная патология. – 2004. – № 4. – С. 11-16.
2. Мамонтов Л.М., Авдеев В.В., Марков А.В. 2001. Мониторинг микробных сообществ водных экосистем // Гигиена и санитария. № 2. С. 33-35
3. Онищенко Г.Г. Влияние состояния окружающей среды на здоровье населения. Нерешенные проблемы и задачи // Гигиена и санитария, 2003. — 31.-С. 3-7.

4. Терехова В.Е., Бузолева Л.С. Выживаемость и адаптивная изменчивость штаммов *Listeria monocytogenes* в морской и речной воде // Ветеринарная патология. – 2004. – № 4. – С. 31-35.
5. Hassan Momtaz, Shole Yadollahi Molecular characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from fresh seafood samples in Iran // Diagnostic Pathology, 2013. P.1-6.
6. Phenotypic and molecular characterization of *Listeria monocytogenes* strains isolated from a marine environment in Morocco. Bou-m'handi N., Jacquet C., E. Marrakchi A, Martin P. Foodborne PathogDis, 2007 Winter; 4(4):409-17
7. Zarabadi MP, Paquet-Mercier F, Charette SJ, Greener J. Hydrodynamic Effects on Biofilms at the Biointerface Using a Microfluidic Electrochemical Cell: Case Study of *Pseudomonas* sp. Langmuir. 2017

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ КОЛИФОРМНЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ НЕБОЛЬШИХ ВОДОЕМОВ ГОРОДА РЯЗАНИ

Ефремова Е.С.¹, Зацаринная Е.А.¹

¹ФГБОУ ВО Рязанский государственный университет имени С. А. Есенина, Рязань, Россия
efremova.elena-efremova@yandex.ru

В крупных городах небольшие водоемы выполняют значимую рекреационную и хозяйственную функцию, и служат местами отдыха населения, рыбной ловли, и, иногда, источником воды для технических целей. Большой теоретический и практический научный интерес представляет оценка состояния этих водоемов, поскольку именно эта категория водных объектов четко отражает узлокальные процессы, происходящие на непосредственно примыкающей к ним территории.

Цель исследования – оценить устойчивость к антимикробным препаратам колиформных бактерий, населяющих небольшие водоемы.

Отбор проб воды производили из 12 прудов города Рязани. Для каждого створа была сформирована выборка из 25 изолятов общих колиформных бактерий. Всего выделено 300 изолятов. Определение чувствительности к антибактериальным препаратам проводили диско-диффузным методом в соответствии с требованиями МУК 4.2.1980 – 04 в отношении 19 антимикробных препаратов.

Общие колиформные (ОКБ) и термотолерантные колиформные (ТКБ) бактерии были обнаружены во всех исследованных водных объектах. Только в 5 прудах качество вод соответствовало нормативам СанПин 2.1.5.980-00: пруды в пос. Соколовка и Никуличи, у ст. Лесок, дер. Хамбушево и Дядьково. Численность микроорганизмов в прудах, очевидно, отражает степень антропогенного воздействия. Так, водоемы, находящиеся внутри микрорайонов и часто посещаемые людьми (кормление диких уток, рыб, отдых на берегу) имеют численность ОКБ в пределах 8600-26300 КОЕ/100 мл, ТКБ – 3300-5400 КОЕ/100 мл, а практически не используемые для рекреации – 100-1000 КОЕ/100 мл и 30-240 КОЕ/100 мл, соответственно. Промежуточное положение занимают пруды расположенные рядом с хозяйственными объектами (гаражные комплексы, свалки промышленных и бытовых отходов). Здесь численность данной группы микроорганизмов составляет, соответственно, 1700-2200 КОЕ/100 мл и 50-430 КОЕ/100 мл. В подавляющем большинстве прудов выделенные изоляты обладали множественной лекарственной устойчивостью. Самым эффективным препаратом среди всех групп АМП, *in vitro* подавляющим рост исследуемых ОКБ, был представитель группы фторхинолонов – ципрофлоксацин. Малое количество устойчивых вариантов обнаружено и к ко-тримоксазолу (триметоприму-сульфаметоксазолу)

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Рязанской области в рамках научного проекта № 16-44-620157 "р_а".

ДИНАМИКА РОСТА БИНАРНЫХ И МОНОВИДОВЫХ БИОПЛЕНОК НИТРИЛУТИЛИЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ

Зорина А. С.¹, Максимова Ю. Г.¹

¹ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия
freizet0@gmail.com

Практически все известные виды бактерий обладают способностью прикрепляться к различным поверхностям и образовывать биопленки. Хотя биопленки некоторых видов микроорганизмов могут быть вредными, другие биопленки дают большие преимущества при их использовании, например, в технологиях очистки сточных вод, отходящих газов и почв.

Объектом исследования являлись перспективные для биокатализа и биологической очистки штаммы *Rhodococcus ruber* gt 1 и *Alcfligenes faecalis* 2, обладающие высокой нитрилгидратазной и амидазной активностью соответственно.

В лунки полистерольного плоскодонного 96-луночного планшета вносили синтетическую минеральную среду и инокулировали суспензией нитрилутилизующих бактерий. После 1-7 суток инкубации в термостате при 30°C планктонные клетки удаляли из лунок декантацией, отмывали биопленку 200 мкл калий-фосфатного буфера и определяли биопленкообразование по методу окраски кристаллическим фиолетовым, массивность полимерного матрикса методом окраски флюоресцентным красителем konA-тетраметилпроламином, энергетический статус клеток биопленок биолюминесцентным методом.

Результаты исследований показали, что матрикс биопленки *Al. faecalis* 2 накапливался к 4 суткам (17755 усл. ед. свечения) и далее снижался до 5648. Матрикс смешанной биопленки имел максимальный объем на 1 сутки (24233) и постепенно снижался в течение 5 суток до 15581; на 6 сутки это значение увеличивалось до 17755 и затем снова уменьшалось.

Максимальное биопленкообразование *Al. faecalis* 2 наблюдали на 2 сутки (ОП₅₄₀ 2,05) и далее оптическая плотность постепенно снижалась до значения 0,26. Биопленкообразование смешанной культуры также было максимальным на 2 сутки - 1,37, снижалось в течение 5 суток, на 6 сутки снова возрастало и к 7 суткам имело значение, равное 0,56.

Энергетический статус биопленки *Al. faecalis* 2 и биопленки смешанной культуры достигал максимума на 2 сутки инкубации ($1,35 \cdot 10^{-14}$ мкмоль АТФ в лунке и $1,25 \cdot 10^{-14}$ мкмоль АТФ в лунке соответственно). Далее количество АТФ в биопленке *Al. faecalis* 2 снижалось в течение всех 7 суток, а в биопленке смешанной культуры снижалось в течение 4 суток, а на 5 сутки снова возрастало до $1,20 \cdot 10^{-14}$ мкмоль АТФ в лунке.

Таким образом, комплексная оценка динамики роста показала, что в бинарной биопленке *Al. faecalis* 2 выступает в качестве первичного колонизатора, а *R. ruber* gt 1 - микроорганизма-спутника, что, возможно, связано с различными скоростями роста этих бактерий в суспензии и лучшей адгезивной способностью алкалигенесов.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ АУКСОТРОФНЫХ ШТАММОВ СРЕДИ ОБЩИХ КОЛИФОРМНЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ Г. РЯЗАНИ.

Калчугина В.Д.¹, Зацаринная Е.А.¹

¹ФГБОУ ВО Рязанский государственный университет имени С. А. Есенина, Рязань, Россия
lera.kalchugina@yandex.ru

В последнее время значительный интерес вызывает изучение особенностей распределения бактериальных штаммов, не способных самостоятельно синтезировать вещества, необходимые им для роста и развития, и нуждающихся в определенных факторах роста (ауксотрофов). Особое место среди объектов окружающей среды, населенных этими бактериями, занимают поверхностные водные объекты крупных городов, которые испытывают на себе весь комплекс природных и антропогенных воздействий. Выделение ауксотрофов из этих, зачастую небогатых питательными веществами сред, позволяет оценивать их способность к выживанию, что в конечном итоге способствует пониманию механизмов формирования сообществ микроорганизмов в условиях трансформации природной среды человеком.

Для выделения общих колиформных бактерий (ОКБ) в июне-июле 2016 г. был произведен отбор проб воды из 27 поверхностных водных объектов г. Рязани (31 створ). Всего было выделено 775 штаммов колиформных бактерий, по 25 изолятов на каждый створ. Ауксотрофные варианты ОКБ определялись по неспособности к росту на минимальном агаре (по Clowes, Hayes, 1968). В 9 водных объектах не было обнаружено культур, нуждающихся в добавлении факторов роста. Наиболее часто ауксотрофные варианты встречались в реках Лыбедь (32%) и Солотча (28%), в реках Старица, Листвянка, Дунайчик, а также пруду в с. Дядьково число ауксотрофных вариантов составляло по 20%. Минимальная встречаемость (4%) была обнаружена в реках Ока и Листвянка (в месте предшествующем точке сброса сточных вод), а также в прудах поселков Хамбушево, Никуличи, Шлаковый и в оз. Трубеж. В целом ауксотрофные варианты составили 66 штаммов (8,5% от числа всех выделенных ОКБ).

ANCYLOBACTER PLANTIPHILUS SP. NOV - НОВЫЙ ВИД АЭРОБНЫХ МЕТИЛОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ, АССОЦИИРОВАННЫХ С РАСТЕНИЯМИ

Каратаева Т. А.^{1,2}, Федоров Д.Н.¹

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

²ФГБОУ ВО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия
karat1989@yandex.ru

Естественными продуктами метаболизма растений являются C₁-соединения, что позволяет метилотрофам, использующим одноуглеродные соединения в качестве источников углерода и энергии,

успешно конкурировать с другими микроорганизмами в филосфере и ризосфере растений. Среди метилотрофов, ассоциированных с растениями, наиболее часто встречаются розовоокрашенные бактерии рода *Methylobacterium*, при этом представители других родов выявляются реже и их разнообразие недостаточно изучено.

Цель исследования - физиолого-биохимическая и таксономическая характеристика новых штаммов бесцветных аэробных метилотрофных бактерий, ассоциированных с растениями.

Из ризосферы клевера среднего (*Trifolium medium* L) и моркови дикой (*Daucus carota* L) были выделены штаммы TriM08 и Dau2, соответственно. Методами полифазной таксономии, включающими в себя фазово-контрастную микроскопию, MALDI-TOF MS, секвенирование генов 16S рПНК изоляты отнесены к роду *Ancylobacter*. Геномный фингерпринт-анализ выявил, что изоляты TriM08 и Dau2 являются штаммами одного вида.

Изучаемые штаммы являются мезофильными нейтрофильными бактериями с оптимумами роста при 29°C и pH = 7,0 -7,5. По типу питания являются факультативными метилотрофами, использующими наряду с C1-соединениями широкий спектр полиуглеродных субстратов. Рост ингибируется 1% хлоридом натрия. В отличие от TriM08, изолят Dau2 оказался устойчивым к ампициллину и пенициллину.

Исследуемые штаммы синтезируют фитогормоны – ауксины (до 8 мкг/мл), а также способны солюбилизовать нерастворимый ортофосфат кальция.

Результаты проведенных исследований в совокупности с данными об уровне сходства нуклеотидных последовательностей генов 16S рПНК среди представителей рода *Ancylobacter* (максимальное - 98,8% с *A. defluvii* VKM B-2789⁹) позволяют идентифицировать штаммы TriM08 и Dau2 как представителей нового вида рода *Ancylobacter*.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №16-04-00381-а.

ИЗУЧЕНИЕ НЕКУЛЬТИВИРУЕМЫХ БАКТЕРИЙ ГЛУБИННОЙ ПОРОДЫ МЕРГЕЛЯ (ВЕРХНЕКАМСКОЕ МЕСТОРОЖДЕНИЕ, ПЕРМСКИЙ КРАЙ)

Карташова Ю.А.¹, Аликина И.Н.¹, Пьянкова А.А.², Плотникова Е.Г.^{1,2}

¹ФГБОУ ВО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия;

²ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

kartash-yulia@yandex.ru

Верхнекамское месторождение солей (ВКМ) является одним из крупнейших по запасам руды в мире. В настоящее время компания ПАО «Уралкалий» разрабатывает новый Усть-Яйвинский рудник (Усольский район, Пермский край), на котором ведутся комплексные изыскательные работы (в том числе, биологические). Исследование микробного разнообразия в образцах солевых пород, отобранных с разной глубины (33-411 м), первоначально проводилось методами прямого высева и накопительного культивирования на разных богатых и селективных средах. Однако чистых культур микроорганизмов из исследуемых образцов выделить не удалось.

Цель настоящей работы – изучение некультивируемых форм бактерий в глубинной породе мергеля ВКМ.

Для исследования взят образец породы мергеля (глубина 70.5 м) на территории Усть-Яйвинского рудника, предоставленный сотрудниками ФГБУН Горного института УрО РАН. Из накопительной культуры, полученной при культивировании данного образца на жидкой среде JCM №168 «*Halobacteria medium*» (200 г/л NaCl), при помощи набора реактивов Fast DNA spin kit for soil («MP Biomedicals», Франция) была выделена тотальная ДНК, которая далее использовалась в качестве матрицы для ПЦР. С целью наработки ПЦР-продукта для клонирования проводили амплификацию генов 16S рПНК с универсальными бактериальными праймерами (27F и 1492R). ПЦР-фрагменты 16S рПНК-генов клонировали в клетках *E. coli* JM109 в составе вектора pTZ57R. Для трансформации компетентных клеток *E. coli* JM109 использовали набор реактивов Thermo Scientific InsTAclone PCR Cloning Kit («Thermo Scientific», Литва).

В результате клонирования было получено 86 рекомбинантных клонов, с ДНК-матрицы которых проводили амплификацию вставки с использованием универсального набора праймеров M13 F/R («Евроген», Россия). По результатам анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ-анализ) полученных ампликонов с использованием рестриктазы *HhaI* исследуемые клоны были подразделены на 16 групп. В 2 рестрикционных группах было обнаружено наибольшее количество клонов (16.34 и 14.62 % от общего числа), также выявлено 6 групп, представленных 1 клоном (0.86 %), в остальных группах количество клонов составляло от 2.58 до 7.74%. Планируется определение нуклеотидных последовательностей исследуемых фрагментов гена 16S рПНК представителей каждой геномной группы.

На данном этапе исследований показано, что в глубинной породе мергеля Верхнекамского месторождения солей присутствуют некультивируемые бактерии различных таксономических единиц.

РАЗЛОЖЕНИЕ ГИДРОКСИ-ХЛОРБИФЕНИЛА ШТАММАМИ-ДЕСТРУКТОРАМИ *RHODOCOCCUS WRATISLAVIENSIS* KT112-7 И *RHODOCOCCUS RUBER* P25

Кириянова Т.Д.¹, Егорова Д.О.²

¹ФГБОУ ВО Пермский национальный исследовательский политехнический университет, Пермь, Россия; ²ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия
kitadi2101@gmail.com

В связи со сложной экологической обстановкой, а также ратификацией Стокгольмской конвенции Россией (27.06.2011), в настоящее время остро стоит вопрос разложения полихлорированных бифенилов (ПХБ) как в природных объектах, так и в местах захоронения. Исследования нескольких последних десятилетий показали, что в природе возможна трансформация ПХБ ферментативными системами бактерий, растений и животных. При этом полное разложение достигается только в случае бактериальной деструкции. При трансформации ПХБ растениями в окружающую среду выделяются гидроксилированные производные ПХБ, обладающие высокой токсичностью для окружающей среды. В связи с этим актуально изучение потенциала бактерий для разложения гидрокси-ПХБ.

Цель работы – изучить возможность деструкции гидроксилированного ПХБ101 штаммами рода *Rhodococcus*: *R. wratislaviensis* KT112-7 и *R. ruber* P25.

Бактериальную деструкцию гидрокси-ПХБ101 проводили в условиях эксперимента с отмытыми клетками. Бактериальную культуру вносили до конечной плотности ОП600=2.0, гидрокси-ПХБ101 вносили в виде раствора до конечной концентрации 1%. Деструкцию проводили в стеклянных флаконах с тефлоновыми крышками, в минеральной среде К1 при +28°C и аэрировании на круговой качалке 160 об./мин. Пробы отбирали через 24ч и 96ч инкубации. Анализ проводили методами ВЭЖХ, спектрофотометрии и ГХ-МСД.

Анализ культуральной жидкости показал, что штаммы *R. wratislaviensis* KT112-7 и *R. ruber* P25 осуществляют деструкцию гидрокси-ПХБ101. Установлено, что штамм *R. ruber* P25 разлагает 42,8% субстрата за 4 суток, тогда как для штамма *R. wratislaviensis* KT112-7 данный показатель составил 19,5%. Трансформация гидрокси-ПХБ101 у обоих штаммов протекает с выделением ионов хлора в среду, а также изменением профиля ВЭЖХ-хроматограммы. Полученные результаты позволяют предположить, что штаммы *R. wratislaviensis* KT112-7 и *R. ruber* P25 осуществляют деструкцию гидрокси-ПХБ101 до нетоксичных соединений.

СВОЙСТВА ЧИСТОЙ И НАКОПИТЕЛЬНЫХ КУЛЬТУР РАЗЛИЧНЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЫ

Козлов А.В.

ФГБОУ ВО Нижегородский государственный педагогический университет им. Козьмы Минина, Нижний Новгород, Россия
a_v_kozlov@mail.ru

Изучены общие и биохимические свойства 7-суточной накопительной культуры литотрофных и органотрофных фосфатредуцирующих бактерий, а также чистой почвенной культуры *Bacillus mucilaginosus* в сравнении с ее эталонным штаммом В-2609 (Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов, ФГУП «ГосНИИгенетика»).

Бактериальные комплексы выделяли из дерново-подзолистой легкосуглинистой почвы Нижегородской области общепринятыми методами культивирования на жидких вариантах селективных питательных сред (среда Муромцева, среда Менкиной, среда Няниковой-Виноградова и L-среда для эталонного штамма *B. mucilaginosus*).

По истечении 7 суток в суспензии определяли кислотность потенциометрическим методом, биомассу клеток регидратационным методом, численность живых клеток люминесцентной микроскопией с акридином оранжевым, а также активность оксидоредуктазных и гидролазных ферментов традиционными биохимическими способами.

Установлено, что накопительные культуры фосфатредуцирующих лито- и органотрофов, а также чистая культура *B. mucilaginosus*, выделенная из почвы, обладали среднекислой и примерной одинаковой реакцией среды, рН здесь варьировало от 4,20 до 4,89 ед. рН. При этом кислотность 7-суточной бактериальной суспензии эталонного штамма В-2609 лежала в щелочном диапазоне и колебалась в среднем значении 8,55 ед. рН.

Численность живых бактериальных клеток и их биомасса были наибольшими в культуре силикатных бактерий (в среднем до $1304,7 \times 10^{10}$ клеток/1 мл) и органотрофных фосфатредуцентов (в среднем до $1096,6 \times$

10¹⁰ клеток/1 мл); остальные бактериальные комплексы характеризовались более низкой численностью живых клеток.

Среди ферментативной активности бактериальных комплексов отличались высокими значениями активность полифенолоксидазных, пероксидазных и каталазных ферментов. Активность фосфатазных, протеазных, инвертазных и целлюлазных ферментов за 7 суток эксперимента находилась примерно на одном, среднем уровне.

ИССЛЕДОВАНИЕ СИМБИОТИЧЕСКИХ АССОЦИАЦИЙ МЕЖДУ ПАРАМЕЦИЯМИ И БАКТЕРИЯМИ

Коротаев А.В., Бенкен К.А., Сабанеева Е.В.

¹ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия
alvlkorotaev@gmail.com

Инфузории часто образуют симбиотические ассоциации с внутриклеточными бактериями (эндосимбионтами). Подобные системы являются удобными моделями для изучения взаимоотношений «эндосимбионт – хозяин», механизмов формирования этих ассоциаций, а также возможного механизма горизонтального переноса генов. Исследована популяция инфузорий рода *Paramecium*, формирующих двойные и тройные симбиозы с бактериями. В работе использованы микроскопические (световая, атомно-силовая, конфокальная лазерная сканирующая и электронная микроскопия) и молекулярные (флуоресцентная гибридизация *in situ* с олигонуклеотидными зондами, специфичными к фрагментам последовательности 16S рРНК) методы исследования. Видовой состав популяции (*P. nephridiatum* и *P. calkinsi*) был предварительно определен по морфологическим признакам. В клонах парамеций в различных сочетаниях выявлено четыре различных цитоплазматических и один внутриядерный эндосимбионт. Флуоресцентная гибридизация *in situ* с группоспецифичными олигонуклеотидными зондами показала, что все симбионты принадлежат к группе *Alpha-proteobacteria*. В цитоплазме некоторых *P. calkinsi* обнаружены извитые неподвижные палочки, распознающиеся зондом, специфичным к роду *Holospora*, включавшему до настоящего времени исключительно внутриядерных эндосимбионтов парамеций. Кроме того, в цитоплазме нескольких клонов *P. nephridiatum* обнаружен неподвижный симбионт веретеновидной формы с характерной светопреломляющей структурой в центре клетки, напоминающий описанный ранее лишь на морфологическом уровне вид *Pseudolyticum multiflagellatum*. Гибридизация *in situ* этих эндосимбионтов с зондом, специфичным к семейству “*Candidatus* Midichloriaceae”, дала положительный сигнал. Наиболее распространенными в популяции цитоплазматическими эндосимбионтами являются подвижные короткие палочковидные бактерии, выявляющиеся зондом, специфичным к виду “*Candidatus* Trichorickettsia mobilis”. Трихориккеттсии встречаются в цитоплазме обоих видов парамеций, причем наряду с ними в цитоплазме могут присутствовать и другие бактерии. В везикулах цитоплазмы клона *P. nephridiatum* обнаружен эндосимбионт вибриоидной формы, групповая принадлежность которого пока не определена. Единственный внутриядерный симбионт, предположительно, относится к виду *Holospora curvata*.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 04-06410) с использованием оборудования Ресурсного Центра микроскопии и микроанализа.

РОЛЬ ГЕНОВ ПОЛИМЕРАЗНОГО КОМПЛЕКСА В ФОРМИРОВАНИИ ФЕНОТИПА РЕАССОРТАНТОВ, ПОДГОТОВЛЕННЫХ НА ОСНОВЕ РЕЗЕРВНОГО ДОНОРА АТТЕНУАЦИИ ГРИППОЗНОЙ ВАКЦИНЫ В/ЛЕНИНГРАД/14/17/55

Крутикова Е. В.¹, Федорова Е. А.¹, Киселева И. В.¹, Большунова Е. А.²

¹ФГБНУ Институт экспериментальной медицины РАН, Санкт-Петербург, Россия; ²ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет), Санкт-Петербург, Россия
krutikova.iem@mail.ru

Введение. Живая гриппозная вакцина (ЖГВ) много лет успешно применяется для профилактики гриппа. Для вакцинации детей младшего возраста необходима разработка вакцины с повышенными характеристиками безопасности. Резервный донор аттенуации ЖГВ В/Ленинград/14/17/55 (В14) рассматривается как перспективный кандидат для подготовки вакцины, удовлетворяющей данным требованиям, в связи с увеличенным количеством уникальных мутаций, связанных с холодовой адаптацией и его ареактогенностью для самых маленьких детей. Анализ реассортантов на основе данного штамма позволит

оценить влияние отдельных генов и их комбинаций на аттенуацию в условиях взаимодействия с генами эпидемических вирусов. Целью данной работы была оценка влияния различных комбинаций генов холодоадаптированного донора аттенуации ЖГВ В14 на проявление температурочувствительного (*ts*) фенотипа реассортантов, подготовленных на его основе. В задачи исследования входила подготовка реассортантов на основе *ts* донора В14 и температуроустойчивых эпидемических вирусов гриппа В, анализ состава генома полученных реассортантов и оценка их фенотипа (способности к репликации за пределами температурного оптимума).

Материалы и методы. Вирусы гриппа В14, В/Indiana/25/2015, В/Massachusetts/02/2012, В/Lee/40 были получены в музее отдела вирусологии ФГБНУ «ИЭМ». Накопление, получение реассортантов, определение титра вирусов производили в развивающихся куриных эмбрионах. Способность к репликации за пределами температурного оптимума определяли при температурах 25°C и 37°C. Анализ происхождения генов реассортантов проводился методом пиросеквенирования с помощью системы генетического анализа PyroMark Q24, а также методом секвенирования по Сэнглеру с помощью капиллярного секвенатора 3130x Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

Результаты. Были получены реассортанты на основе вирусов В/Indiana/25/2015, В/Massachusetts/02/2012, В/Lee/40 и донора аттенуации В14 с различными комбинациями донорских и «диких» генов. Всего было получено более 150 реассортантов. Анализ их способности к росту при различных температурах показал, что из проанализированных реассортантов 61% обладал *ts* фенотипом. Реассортанты, унаследовавшие от донора аттенуации гены, кодирующие белки полимеразного комплекса РВ1, РВ2 и РА, проявляли температурочувствительный фенотип вне зависимости от происхождения других генов.

Выводы. Ведущая роль в формировании *ts* фенотипа реассортантов на основе резервного донора аттенуации ЖГВ В14 принадлежит генам, кодирующим белки полимеразного комплекса.

ХАРАКТЕРИСТИКА КРИСТАЛЛОГЕННЫХ ИЗОЛЯТОВ *BACILLUS THURINGIENSIS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ НАСЕКОМЫХ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ КРЫМА

Крыжко А. В., Кузнецова Л. Н.

ФГБУН Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма, Симферополь, Россия
solanum@ukr.net

Одним из наиболее эффективных и распространенных в мире бактериальных средств борьбы с насекомыми являются микробные препараты на основе *B. thuringiensis* - спорообразующей бактерии, способной формировать при споруляции параспоральные кристаллические включения белковой природы, которые обуславливают, главным образом, их инсектицидную активность. Повышенный интерес к микробным инсектицидам стимулирует интенсивный поиск, изучение свойств и отбор штаммов *B. thuringiensis*, перспективных для борьбы с вредителями растений. Данная работа выполнена в рамках проводимых исследований по выделению из насекомых природных популяций Крыма энтомопатогенных штаммов *B. thuringiensis*, их идентификации и определения спектра действия против распространенных листогрызущих вредителей овощных, плодово-ягодных и декоративных культур.

Первичный отбор 12 изолятов проводили по энтомоцидной активности против листогрызущих насекомых Lepidoptera – гусениц американской белой бабочки, кольчатого шелкопряда, плодовой моли Coleoptera – личинок колорадского жука. Как эталонные штаммы использовали штаммы *B. thuringiensis* Z-52 и 0371 из коллекции лаборатории энтомопатогенных микроорганизмов ФГБУН Научно-исследовательского института сельского хозяйства Крыма.

Установлено, что из всех исследуемых изолятов наиболее энтомопатогенным является изолят 0273, который проявлял высокую активность против представителей Lepidoptera, проявляющуюся после обработки корма в гибели гусениц в течение 7-ми суток до 95,7- 100%.

Для идентификации изолята 0293 изучены его морфологические, физиолого-биохимические свойства и способность к продуцированию термостабильного экзотоксина. По результатам исследований изолят охарактеризован как штамм энтомопатогенной бактерии *B. thuringiensis* 0293 Н₃, не продуцирующий экзотоксин.

Для культивирования штамма 0293 подобрана питательная среда на основе дрожжевого автолизата и пшеничной муки. В условиях лаборатории на технологической качалке исследованы параметры развития культуры, позволяющие характеризовать отобранный штамм как технологичный. Конечный титр свободных жизнеспособных спор в жидкой культуре составляет 2,5-3,2 млн. в 1 мл.

Таким образом, высокоактивный технологичный энтомопатогенный штамм *B. thuringiensis* 0293 Н₃ является перспективным как продуцент для разработки биопрепарата для борьбы с листогрызущими насекомыми.

МИКРОБИОМ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ НА ФОНЕ ВК-ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ

Куприянова Е.А., Маланин С.Ю.

ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
fewrandomletters@gmail.com

Ежегодно в мире выполняется 100 тысяч трансплантаций органов и до 26 тысяч из них приходится на трансплантации почек. Реципиенты почечного трансплантата длительное время получают высокие дозы иммуносупрессантов, что повышает риск развития оппортунистических, в особенности вирусных, инфекций и может приводить к существенным изменениям микробиоты мочевыводящих путей. Эти изменения по сей день остаются малоизученными, оставляя открытым вопрос о связи уровня колонизации мочевыводящих путей с иммуносупрессивным режимом и наличием аллотрансплантата. Также прежде не было изучено влияние полиомавируса ВК и вызываемой им ВК-ассоциированной нефропатии на микробиом.

В связи с этим, цель нашей работы - установить бактериальный состав мочевыводящих путей у пациентов после трансплантации почки и выявить его взаимосвязь с ВК-вирусной инфекцией.

Нами было проведено исследование образцов мочи, полученных от пациентов, перенесших операцию по пересадке почки в Республиканской клинической больнице (РКБ) г. Казани. Для определения количества вирусной ДНК в моче пациентов был использован метод ПЦР в реальном времени. Исследовалось наличие ВК вируса в моче у группы пациентов через 6 месяцев после пересадки. Для анализа микробиома были выбраны образцы мочи четырех пациентов, двое из которых не имели вирусной ДНК в исследуемых образцах, двое – характеризовались наличием ВК вирусной инфекции. Идентификация бактериального состава осуществлялась с помощью секвенирования V3 участка гена 16S рРНК.

Таксономический анализ показал, что в общей сложности в моче четырех пациентов были обнаружены представители трех типов бактерий: *Actinobacteria*, *Firmicutes* и *Proteobacteria*. Индивидуальный анализ выявил значительное доминирование одного из бактериальных семейств в каждом образце. В случае пациента с наивысшим титром ВК-вируса подавляющее большинство бактерий (96%) составляли грамположительные бактерии семейства *Streptococcaceae*, в то время как у трех других пациентов доминировали грамотрицательные бактерии семейства *Enterobacteriaceae*. Анализ биоразнообразия во всех образцах с помощью индекса Шеннона показал, что биоразнообразие уменьшается у пациентов с ВК-вирусной инфекцией и резко падает с увеличением вирусной нагрузки. Таким образом, можно сделать предположение о взаимосвязи между бактериальным биоразнообразием, составом микробного сообщества и ВК-вирусной нагрузкой в моче, и, следовательно, о потенциальном влиянии воспалительного процесса, происходящего в почках при развитии ВК-вирусной инфекции, на микробиом мочевыводящих путей.

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОВИРУСНОЙ АКТИВНОСТИ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПЕПТИДОВ В ОТНОШЕНИИ РЕСПИРАТОРНЫХ ВИРУСОВ.

Купцова М. М., Шиловский И. П., Сундукова М. С.

ФГБУ ГНЦ Институт иммунологии ФМБА России, Москва, Россия
rita.kupsova@ya.ru

Введение: Острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) - самая распространённая в мире группа заболеваний, включающая грипп, парагрипп, респираторно-синтициальную вирусную инфекцию (РСВ). Природные противовирусные пептиды являются неотъемлемой частью врожденного иммунитета. Искусственно синтезированные пептиды являются более дешевыми аналогами природных, поэтому целью данного исследования - изучение противовирусных свойств синтетических пептидов в отношении РСВ-инфекции.

Материалы и методы: Синтезировано 16 пептидов твердофазным методом. Цитотоксичность пептидов оценивали в МТТ-тесте на культуре клеток Hela. Пептиды испытывали на модели РСВ-инфекции клеток МА-104. Для этого растворы пептидов инкубировали с вирусом РСВ в течение часа и титровали на монослое клеток МА-104. Через 5-6 сут. оценивали цитопатическое действие методом световой микроскопии.

Результаты: Исследование противовирусных свойств показало, что 4 из 16-ти пептидов обладают выраженным противовирусным действием в отношении вируса РСВ. Также, наибольшей противовирусной активностью обладают пептиды NC-737, AS-543, NC-785, KO-1, которые приводят к снижению титра РСВ в 9, 11, 13, 25 раз, соответственно.

Заключение: Были синтезированы пептиды, которые понижают титр РСВ в экспериментах *in vitro* более чем в 10 раз. Созданные пептиды являются перспективными для проведения дальнейших исследований *in vivo*.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ АММОНИЕВЫХ СОЛЕЙ ФУНКЦИОНАЛЬНО ЗАМЕЩЕННЫХ α -АМИНОФОСФОНАТОВ

Куфелкина А.А.^{1,2}, Азмуханова.Р.Р.¹, Гибадуллина Э.М.¹, Бурилов А.Р.¹, Кулик Н.В.¹,
Волошина А.Д.¹, Зобов В.В.^{1,3}

¹ФГБУН Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН, Казань, Россия;
²ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Казань, Россия; ³ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
akufelkina@mail.ru

Одним из наиболее важных направлений в фармакологии является поиск новых высокоэффективных и безопасных лекарственных веществ. Трудности лечения и профилактики инфекционных заболеваний, обусловленных разнообразием биологических форм возбудителей, постоянным возникновением мультирезистентных форм, появлением новых видов опасных патогенов, определяют актуальность проблемы создания новых противомикробных средств.

Функционально замещенные α -аминофосфорильные соединения - структурные аналоги аминокислот - привлекают большое внимание исследователей в области химиотерапии благодаря своей потенциальной каталитической активности. Среди них найдены ингибиторы различных ферментов, лекарственные средства, обладающие антибактериальной, противовирусной и другими видами фармакологической активности.

Нами исследованы антимикробная, гемолитическая активности и цитотоксичность в отношении клеток млекопитающих впервые синтезированных аммониевых солей функционально замещенных α -аминофосфонатов.

Методом серийных разведений в жидких питательных средах определяли свойства исследуемых соединений по отношению к ряду грамположительных и грамотрицательных бактерий и некоторых культур грибов.

Показано, что исследованные соединения проявляют селективное действие в отношении грамположительных бактерий (*Staphylococcus aureus* 209P и *Bacillus cereus* 8035). Минимальные ингибирующие концентрации соединений лидеров составили 0,49-1,95 мг/л. В отношении грамотрицательных бактерий наблюдалась низкая активность, по сравнению с известными фармацевтическими препаратами. Противогрибковая активность наиболее активного соединения проявлялась в концентрации 7,8 мг/л.

Гемолитическая активность аммониевых солей функционально замещенных α -аминофосфонатов изучали по стандартной методике, исследование цитотоксичности проводили с использованием многофункциональной системы Cytell Cell Imaging по стандартным протоколам.

Наши исследования показали, что аммониевые соли функционально замещенных α -аминофосфонатов в концентрациях, угнетающих рост тест-микроорганизмов, не проявляют токсического действия в отношении эритроцитов крови и культуры нормальных клеток печени человека (Chang liver).

Исходя из полученных данных, исследованные соединения могут рассматриваться в качестве новых потенциальных антимикробных агентов для лечения бактериальных и грибковых инфекций человека и животных.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СИСТЕМЫ RTCA XCELLIGENCE ДЛЯ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЦИТОПАТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ

Малоголовкин А.С., Бурмакина Г.С.

ГНУ ВНИИ ветеринарной вирусологии и микробиологии Россельхозакадемии, пос. Вольгинский,
Владимирская обл., Россия
Malogolovkin@inbox.ru

Африканская чума свиней (АЧС) – вирусная остро-протекающая геморрагическая лихорадка домашних и диких свиней с летальностью достигающей 100%. Вирус африканской чумы свиней является сложноорганизованным ДНК-содержащим вирусом, единственным представителем семейства *Asfarviridae*.

Различные штаммы вируса АЧС характеризуются дискретной цитолитической активностью. Однако использование традиционных методов оценки действия вируса на клетки не позволяет оценить кинетику развития цитопатического эффекта (ЦПЭ) и других вирусопосредованных изменений клеточных культур.

Система многопараметрического анализа клеточных культур RTCA xCELLigence System предназначена для исследования жизнеспособности клеток и потенциально может быть использована для изучения кинетики клеточных изменений под действием вируса АЧС.

Целью данной работы являлось сравнение репликации различных штаммов вируса АЧС и кинетики развития ЦПЭ в культуре клеток COS-1 с использованием системы xCELLigence.

В данном исследовании использовали три аттенуированных штамма вируса АЧС: KK-262, DswCongoFranceCD2v/lectin и CongoDeltaCD2v. Рост, пролиферацию, адгезию и апоптоз клеток COS-1

оценивали с помощью непрерывного измерения электрического сопротивления в образце, находящемся на поверхности электрода, который встроен в реакционный модуль системы RTCA-DP xCELLigence (ACEA Biosciences).

Исследования кинетики и особенностей репликации трех штаммов вируса АЧС продемонстрировали, что штаммы KK-262 и DswCongoFranceCD2v/lectin реплицируются в культуре клеток COS-1 без развития цитопатического эффекта. Об этом свидетельствовало значение клеточного индекса (CI), которое повышалось в течение 48 часов после инфекции, а потом оставалось постоянным. В то время как для культуры клеток COS-1, инфицированной штаммом CongoDeltaCD2v в фазе роста, значение CI снижалось через 4 часа после инфекции, постепенно падая до нуля, указывая, что вирус индуцирует апоптоз инфицированных клеток. Данные анализа коррелировали с результатами визуального определения ЦПЭ с помощью микроскопа.

Таким образом, в ходе проведенных исследований показано, что система RTCA xCELLigence пригодна для измерения ЦПЭ, вызванного действием вируса АЧС и может быть использована для проверки вирусстатического и/или вирулицидного действия противовирусных препаратов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФ 16-16-00090.

ИЗУЧЕНИЕ БИОДЕСТРУКТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА КОЛЛЕКЦИОННЫХ КУЛЬТУР БАКТЕРИЙ ПОСЛЕ ЛИОФИЛИЗИРОВАННОГО ХРАНЕНИЯ

Мамонтова Ю. А., Карасёва Э. В.

ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

yulya.mamontova.95@mail.ru

В настоящее время всё более актуальной становится проблема длительного хранения промышленных штаммов микроорганизмов с сохранением их биотехнологического потенциала. Для нефтеокисляющих бактерий, широко используемых в процессах биоремедиации, это, прежде всего, способность к окислению сырой нефти, нефтепродуктов и отдельных углеводородов. На исследование было взято 49 штаммов бактерий из коллекции кафедры генетики, микробиологии и биотехнологии Кубанского государственного университета, ранее выделенных сотрудниками кафедры преимущественно из нефтезагрязнённых грунтов, почв, нефтешламов и хранившихся в лиофилизированном состоянии в течение 11-15 лет. Лيوфилизация проводилась из замороженного состояния под вакуумом с использованием криопротектора. Все исследованные культуры относились к различным таксономическим рангам и были представлены родами *Rodococcus*, *Micrococcus*, *Nocardioideis*, *Gordonia*, *Dietzia*, *Pseudomonas*. Установлено, что все культуры, несмотря на столь длительное хранение, сохранили свою жизнеспособность, а также исходную морфологию. Для 23 штаммов из общего числа ранее не определялась углеводородокисляющая активность, впервые была проведена оценка их нефтеокисляющего потенциала. Одиннадцать из них оказались способны к окислению сырой нефти с разной степенью активности. У 26 штаммов из 49 была подтверждена нефтеокисляющая активность и способность к окислению нефтепродуктов, в том числе мазута. У двух штаммов, с ранее выраженной углеводородокисляющей активностью, последняя снизилась, но сохранилась на средних значениях. Из всех изученных культур наибольшую способность к разложению нефти проявили 6 штаммов, относящихся к видам *Rodococcus erythropolis*, *Micrococcus luteus*, *Nocardioideis sp.* Также было установлено, что 80% коллекционных культур имеют широкий спектр потребляемых углеводов (C_7 - C_{17}), из которых наиболее часто используются: декан, ундекан, тридекан и тетрадекан. Изученные свойства бактериальных штаммов позволяют рассматривать многих из них в качестве перспективных биотехнологических объектов.

ВЛИЯНИЕ PH СРЕДЫ НА ОБРАЗОВАНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА БАКТЕРИЯМИ РАЗНЫХ СИСТЕМАТИЧЕСКИХ ГРУПП

Марукевич В.В., Чернявская М.И., Новиков А.Г., Гайдук П.И., Титок М.А.

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

marukevich.vv@gmail.com

Экологически безопасный синтез наночастиц металлов живыми организмами создает перспективу создания биоцидов нового поколения, являющихся альтернативой антибиотикам, устойчивость к которым широко распространена среди патогенных микроорганизмов. Образование наночастиц металлов с участием разных организмов (растения, грибы, бактерии) обусловлено их способностью продуцировать метаболиты, восстанавливающие положительно заряженные ионы до нейтральных атомов, агрегация которых приводит к возникновению наноструктур, интенсивно поглощающих и рассеивающих свет при длине волны 380—410 нм. Эффективность продукции химически активных соединений клетками живых организмов, безусловно, связана

с активностью их метаболизма, который определяется особенностями генетической организации и условиями внешней среды.

Целью настоящей работы являлось изучение влияния pH среды на способность бактерий разных систематических групп синтезировать наночастицы серебра.

Среди 38 исследованных штаммов бактерий было выявлено 13 штаммов бактерий разных систематических групп, способных к внеклеточному синтезу наночастиц серебра с различными оптическими характеристиками. В частности, бактерии *B. flexus* 6-3 и *A. radioresistens* L5A-16 обеспечивали образование наночастиц серебра с кубической кристаллической решеткой размером 1—40 нм и 1—200 нм соответственно. Наночастицы, образуемые бактериями *Deinococcus* sp., A2-6 размером 9—60 нм, имели гексагональную кристаллическую решетку (установлено с использованием просвечивающей электронной микроскопии и просвечивающей электронной дифракции).

Установлено, что исследованные бактерии росли в полноценной среде при разных значениях pH среды (изучали при значениях pH от 5 до 11 с интервалом равным 1). Например, *A. radioresistens* L5A-16 рос в диапазоне pH от 5,0 до 10,0, *B. flexus* 6-3 – от 6,0 до 10,0, *Deinococcus* sp. A2-6 – от 6,0 до 8,0. При этом наиболее эффективное образование наночастиц фиксировали при исходном значении pH среды равном 8,0 для *A. radioresistens* L5A-16 и *Deinococcus* sp. A2-6, тогда как бактерии *B. flexus* 6-3 обеспечивали синтез наночастиц с одинаковой эффективностью при начальных значениях pH среды от 6,0 до 9,0. Следует отметить, что образование наночастиц серебра бактериями *B. flexus* 6-3 фиксировали при их культивировании в средах разного состава (в частности, в среде М9 с сахарозой при начальных значениях pH 7,0—8,0).

ТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО-ЭКСПРЕССИРУЮЩИХСЯ ГЕНОВ ВИРУС-ЗАРАЖЕННЫХ КЛЕТОК *BACILLUS ALTITUDINIS*.

Миндубаева Л.Н., Шах Махмуд Р.З.

ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
lyajsan.mindubaeva@ya.ru

Бактериофагом (фагом) является вирус, который завершает свой цикл репликации в живых бактериях. Цикл репликации фага относится к периоду от проникновения фага в клетку - хозяина к выпуску потомства вирусных частиц. На разных этапах репликации, фаги экспрессируют различные генные продукты, чтобы направлять клеточные ферментативные механизмы на воспроизводство вирусных компонентов.

На первом этапе работы были выделены и определены видовые принадлежности 9 штаммов бактерий рода *Bacillus* из трех типов почв Альметьевского района республики Татарстан (поле, лес и чернозем). Установлено, что выделенные штаммы принадлежат 7 видам рода *Bacillus*. Видовую принадлежность определяли на масс-спектрометре Bruker MALDI Biotyper. Так же были получены вирусы к 4 видам бактерий из рода *Bacillus* (*B. pumilus*, *B. altitudinis*, *B. megaterium*, *B. subtilis*).

Для дальнейшего исследования был выбран вид *B. altitudinis*, который секретирует рибонуклеазу, аналог с биназы *B. pumilus*. Биназа известна своим противовирусным эффектом. Геном бактерии секвенирован и имеет высокое сходство по своим характеристикам с типовым штаммом *B. altitudinis*.

При изучении динамики образования фаговых частиц было показано, что после адсорбции, скрытого периода и периода созревания, выход вирусных частиц наблюдается на 15 минуте заражения и продолжается в течение 35 минут, полный лизис всех бактериальных клеток приходится на 50 минуту. Заражение проводили при MOI=10 (множественность инфекции).

Изоляция РНК проводилась с использованием коммерческого кита RNA isolation RNeasy mini Kit (Qiagen). Качественная и количественная оценка полученной РНК бактерии осуществлялась на приборе BioAnalyzer 2100 (Agilent Technologies, США). Для приготовления библиотек для высокопроизводительного секвенирования использовались образцы тотальной РНК или обеднённой рРНК. Секвенирование и биоинформатическая первичная обработка данных была проведена в Междисциплинарном центре протеомных исследований КФУ.

Проведенный нами последующий анализ полученных транскрипционных данных показал, что из 3785 генов повышенный уровень экспрессии был у 105 генов, а 38 характеризовались пониженной регуляцией.

Дальнейшее изучение показало, что снижена экспрессия 8 структурных белков, затронут фактор элонгации, снижена экспрессия оксидоредуктаз, также ферментов, участвующих в метаболизме азотсодержащих соединений, таких как лизин, дезокситимидин.

Фаговая инфекция увеличивает синтез стрессовых белков, компонентов мембраны, в том числе пор, затронуты биосинтетические пути клетки, поддерживающие ее окислительно-восстановительный потенциал.

РАННЯЯ ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА ТИТРА *E. COLI* И КОЛИ-ФАГОВ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО МИКРОБИОЦЕНОЗА ГУСЯТ

Москаленко Е.А.¹, Авдиенко В.В.¹, Осепчук Д.В.¹, Зимин А.А.², Скобликов Н.Э.¹

¹ФГБНУ Северо-Кавказский научно-исследовательский институт животноводства, Краснодар; ²ФГБНУ
Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино, Россия
elalmo@yandex.ru

Исследована динамика содержания штаммов *E. coli* (коли-титра) и колифагов (бактериофагов *E. coli*) нормофлоры 10 гусят в возрасте от 3 до 47 дней. Пробы отбирались индивидуально у каждой птицы, 12-кратно с интервалом 3-6 дней. Всего было отобрано и исследовано 120 проб. После отбора пробы взвешивались, ресуспендировались в буферном растворе. Из супернатанта делали серию 100-кратных разведений, из которых производили высеивание на культуры лабораторных штаммов *E. coli* В и BL 21 методом агаровых слоёв; также производили высеивание на селективную среду Эндо, посев инкубировался; производился подсчёт выросших колоний и образовавшихся бляшек; рассчитывался коли-титр и титр коли-фагов.

Отмечены два возрастных периода, характеризующиеся снижением высеваемости штаммов *E. coli*: в возрасте 9-19 дней они выделялись лишь у 6 птиц, а в возрасте 30 дней – лишь у 3 птиц. Бактериофаги выделялись в доступном для детекции титре на культуре *E. coli* BL 21 лишь в 45 пробах: в возрасте 3-9 дней у 6-8 птиц, в возрасте 12, 30 и 33 дней всего у 1 птицы, в возрасте 37 и 40 дней – у двух птиц, в возрасте 44 дней – у 5 птиц. Наибольшие показатели содержания колифагов отмечены в возрасте 6 дней (подъём на два порядка за три дня), после чего отмечалось падение до нулевых значений к возрасту 12 дней.

В результате исследования получены новые данные о динамике коли-титра и титра коли-фагов у гусят первых 47 дней жизни, полезные для общего понимания становления нормофлоры птиц в онтогенезе, и для определения оптимальных периодов для применения ветеринарных препаратов и кормовых добавок.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-44-230855-п_а.

ИССЛЕДОВАНИЕ РЕАКЦИИ МЕТАНОБРАЗУЮЩИХ АРХЕЙ НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС

Ошуркова В.И.¹, Левко О.В.², Щербакова В.А.¹

¹ ФГБНУ Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино, Россия; ²
ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия
vicyle4ka@gmail.com

Метаногенные археи – это строго анаэробные микроорганизмы, рост которых возможен только при полном отсутствии кислорода и низком окислительно-восстановительном потенциале среды. Однако, некоторые метаногены, обладая ферментами антиокислительной защиты, способны выживать в присутствии низких концентраций кислорода и сохранять свою активность в аэробных микронизмах. В последнее время были получены многочисленные данные по наличию в клетках метаногенов каталазы и супероксиддисмутазы. Отсутствие каталазной активности у ряда анаэробных микроорганизмов оставляет открытым вопрос, является ли это следствием отсутствия гена или же экспрессии соответствующего гена только при определенных условиях.

Как известно, для представителей рода *Methanosarcina* характерно присутствие в клетках каталазы. Ранее нами в геномах *Methanobacterium veterum* МК-4^T и *M. arcticum* M2^T были также обнаружены последовательности генов, кодирующие этот фермент. Для экспериментального подтверждения устойчивости метаногенных архей к окислительному стрессу было проведено исследование влияния перекиси водорода на выживаемость и метаногенез штаммов из различных источников: *Methanosarcina mazei* S-6^T ВКМ В-1636^T и *M. bryantii* МОН^T ВКМ В-1629^T, выделенных из анаэробного биореактора, а также *Methanosarcina sp.* JL01, ВКМ В-2370^T *M. veterum* МК-4^T ВКМ В-2440^T и *M. arcticum* M2^T ВКМ В-2371^T, выделенных из многолетнемерзлых отложений Арктики.

Было установлено, что среди представителей рода *Methanosarcina* более устойчив к действию окислителя *M. mazei* штамм S-6^T, поскольку данный штамм сохранял жизнеспособность при концентрациях H₂O₂ в среде до 1 мМ, в отличие от *Methanosarcina sp.* JL01, допустимая концентрация пероксида водорода для которого составила 0,5 мМ. Среди водородопотребляющих метаногенов более жизнеспособными оказались штаммы *M. arcticum* M2^T и *M. bryantii* МОН^T.

Полученные результаты показали, что происхождение исследованных метаногенных архей не влияло на их отклик к окислительному стрессу.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ДЕТЕРМИНАНТ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ ДЕГРАДАЦИЮ НЕФТИ БАКТЕРИЯМИ RHODOCOCCLUS PYRIDINIVORANS 5AP

Охремчук А.Э.¹, Чернявская М.И.¹, Дитченко М.В.¹, Валентович Л.Н.², Титок М.А.¹

¹Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь; ²ГНУ Институт микробиологии
НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь
okhrem4ukartur@yandex.ru

Попадание нефти и продуктов ее переработки в окружающую среду приводит к нарушениям биоценозов, поскольку в состав данных соединений входит широкий спектр углеводородов и других органических и неорганических субстратов, многие из которых токсичны, мутагенны и канцерогенны для живых организмов. Для очистки окружающей среды от данных загрязнителей природного и антропогенного происхождения весьма перспективным является использование бактерий-деструкторов. Изучение вклада отдельных генетических систем, обеспечивающих микроорганизмам деградацию нефти, позволит направленно повышать их биодegradационный потенциал.

Целью работы явился молекулярно-генетический анализ отдельных генетических детерминант, определяющих способность бактерий штамма *Rhodococcus pyridinivorans* 5Ap деградировать нефть.

Для изучения вклада отдельных генетических детерминант в процесс утилизации нефти бактериями *Rhodococcus pyridinivorans* 5Ap был использован метод направленного мутагенеза. В результате гомологичной рекомбинации были нарушены детерминанты, определяющие синтез большой субъединицы нафталиндиоксигеназы и алкан-1-монооксигеназы, а также отобран вариант штамма, спонтанно утративший способность утилизировать нафталин. Установлено, что эффективность деградации нефти при вышеуказанных нарушениях снижалась на 65 %, 96 % и 95 % соответственно.

Установлено, что гены, обеспечивающие катаболизм нафталина у бактерий *Rhodococcus pyridinivorans* 5Ap, локализованы в составе плазмиды, способной передаваться путем конъюгации в изогенной системе скрещиваний с частотой 10^{-6} . Анализ полногеномного секвенирования (Illumina MiSeq, http://www.bio.bsu.by/microbio/rhodococcus_genome.html) позволил выявить гены, определяющие «верхний» и «нижний» пути деградации нафталина в составе фрагментов плазмидного происхождения. При этом среди генов «нижнего» пути были идентифицированы детерминанты, кодирующие катехол-2,3-диоксигеназу и гентизат-1,2-диоксигеназу, что определяет возможность бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap утилизировать нафталин через катехол и/или гентизат.

ВЛИЯНИЕ ГИПЕРПРОДУКЦИИ ПРОТЕАЗЫ HTRA НА БЕЛКОВЫЙ ПРОФИЛЬ КЛЕТОК БИОПЛЕНКИ BACILLUS SUBTILIS

Павлова А. С., Чернова Л. С., Шарафутдинов И. С., Каюмов А. Р.

ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
AnBio96@yandex.ru

HtrA – это белок теплового шока, относящийся к семейству сериновых протеаз. Он осуществляет качественный белковый контроль, удаляя поврежденные белки путем их деградации, и таким образом защищает клетки от последствий различных стрессов. У многих штаммов бактерий белок HtrA является фактором патогенности: из-за нехватки функций данной протеазы, они способны частично или полностью терять свою вирулентность. Например, у *Streptococcus mutans* протеаза HtrA необходима для биогенеза внеклеточных белков, развития генетической компетентности и образования биопленки для выживания в стрессовых условиях. Целью данной работы являлось установить роль протеиназы HtrA в образовании биопленки *Bacillus subtilis*.

С помощью дифференциального флюоресцентного окрашивания мертвых и живых клеток (акридиновый оранжевый, пропидий йодид) был проведен мониторинг выживаемости клеток *B. subtilis* в условиях температурного стресса. Было установлено, что при температуре выше 60 °C жизнеспособность клеток бацилл с гиперпродукцией белка повышалась в 6 раз по сравнению с контрольным штаммом. Данные также были подтверждены методом Drop Plate анализа, с последующим подсчетом КОЕ. Кроме того, клетки подвергали температурному воздействию в течение одного часа, после чего высевали на агаризованную питательную среду. В результате, выживаемость у клеток штамма с повышенным синтезом протеазы HtrA при температуре 60 °C была на 2 порядка выше, чем у исходного штамма. Предполагается, что повышенный синтез HtrA может влиять на протеом организма, в том числе и клеток, находящихся в составе биопленки. Проверку проводили с помощью 2D электрофореза и MALDI-TOF спектрометрии, которые также показали различия в протеомах рекомбинантного штамма и штамма дикого типа. Таким образом, показано, что

повышенный синтез протеазы HtrA способствует повышению жизнеспособности клеток *B. subtilis* в условиях повышенной температуры, а также приводит к изменению протеомного профиля клеток, находящихся в составе биопленки.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ-15-14-00046.

ОСОБЕННОСТИ СОСТАВА ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* SP245, ВЫРАЩЕННЫХ В ПРИСУТСТВИИ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ РАСТЕНИЙ

Петрунина А. А.¹, Каневский М. В.^{1, 2}, Коннова С. А.^{1, 2}

¹ФГБОУ ВПО Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия; ²ФГБУН Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, Россия
matvejaknev@mail.ru

Важную роль в процессах формирования симбиотических отношений растений и микроорганизмов играют представленные на поверхности бактерий гликополимеры. Показано, что изменение состава и структуры липополисахаридов (ЛПС) симбиотических ризобий под влиянием флавоноидов, выделяемых растением, является необходимым условием успешного формирования клубеньков [1]. Ранее было показано, что под действием флавоноидов на поверхности *A. lipoferum* Sp59b синтезируется богатый рамнозой полисахарид [2]. Поэтому нами было предпринято изучение влияния флавоноидов и галловой кислоты на состав и структуру ЛПС *A. brasilense* Sp245, моносахаридное звено которого, как показано нами ранее, представлено пентарамнаном [3], тем более, что активность флавоноидов в отношении ассоциативных микроорганизмов до сих пор остаётся малоисследованной.

Анализ динамики роста *A. brasilense* Sp245 показал, что выращивание бактерий в присутствии ранее установленной «эффективной» концентрации кверцетина, рутина, а также галловой кислоты (37.5 мкг/мл) не приводило к изменению скорости нарастания биомассы бактериальной культуры. Исследование бактериальной суспензии методом электрооптического (ЭО) анализа показало, что происходит снижение величины ЭО эффекта, которое говорит о возможных изменениях состава и структуры представленных на поверхности полимеров.

Выявлено, что культивирование бактерий в присутствии галловой кислоты, кверцетина и рутина приводило к возрастанию гетерогенности мембранного пула ЛПС. Присутствие в среде культивирования галловой кислоты приводило к возрастанию низкомолекулярных фракций ЛПС, в то время как под действием кверцетина появлялись фракции ЛПС с большей степенью полимеризации углеводной цепи.

В образцах ЛПС бактерий, выращенных в присутствии галловой кислоты и кверцетина, наблюдается снижение количества углеводов в 1.5 и 4 раза соответственно. Исследования состава жирных кислот в ЛПС опытных и интактных микроорганизмов показали, что во всех опытных образцах наблюдалось увеличение доли непредельных и снижение доли гидроксикислот. Изменений моносахаридного состава ЛПС под влиянием фенольных соединений растений выявлено не было.

Таким образом, для *A. brasilense* Sp245 установлено, что изменения состава ЛПС под действием фенольных соединений растений заключается в изменении макромолекулярной организации гликополимеров поверхности, а также изменении состава и соотношения жирных кислот и относительной доли углеводов.

1. Broughton et al., (2006) *J. Bacteriol.* 88: 3654-3663.
2. Каневский и др. (2014) *Микробиология.* 83(1): 143-151.
3. Fedonenko et al., (2002) *Carbohydr. Res.* 337: 869-872.

СПОСОБНОСТЬ К БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЮ КЛИНИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ БАКТЕРИЙ, АССОЦИИРОВАННЫХ С БАКТЕРИЕМИЕЙ

Пиядина А.Ю.^{1,2,3}, Сухина М.А.¹, Блинкова Л.П.³

¹ФГБУ Государственный научный центр колопроктологии им. А.Н. Рыжих Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия; ²ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия; ³ФГБУ "Научно-исследовательский Институт Вакцин и Сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия
denovobios@mail.ru

Известно, что большинство бактерий существует не в планктонной форме, а в виде специфически организованных сообществ - биопленок (Biofilms), что приводит к неэффективности антибиотикотерапии, так как многие лекарственные препараты не способны проникать внутрь биопленки и оказывать нужный эффект. В связи с этим, в настоящее время ведутся активные разнонаправленные исследования бактериальных биопленок, способов ингибирования образования биопленок или их разрушения.

Цель исследования. Оценка способности к биопленкообразованию клинически значимых микроорганизмов, ассоциированных с бактериемией.

Материалы и методы. Для изучения способности формировать биопленки использовали следующие клинические культуры: *E. coli*, *E. coli* (hem+), *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*. Из 24-х часовой культуры готовили клеточную суспензию мутности 1 McF. Затем, в чашку Петри помещали два стерильных покровных стекла, на каждое из которых наносили 1,5 мл клеточной взвеси и оставили на 2 ч при комнатной температуре для адгезии бактерий на стеклянном носителе. Через 2 ч инкубации в чашку Петри вносили голодный бульон и культивировали биопленки в термостате 4 и 24 ч при t=37,0 °C. Далее, проводили подготовку стекла с образовавшейся биопленкой для микроскопирования (промывали 90% спиртом и окрашивали Альциановым синим). В качестве контролей выступали референтные штаммы микроорганизмов: *S. aureus* ATCC 29213, *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853.

Результаты. Оценка биопленкообразования проводилась по 5-ти бальной шкале. Через 4 ч у всех исследуемых культур степень образования биопленки была приблизительно на одном уровне, что соответствует – 1 уровню, за исключением *K. pneumoniae*, у которой степень образования пленки была на 3 уровне и *E. coli*, у которой способность к образованию биопленки – ниже 1 уровня. Через 24 ч у *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae* степень биопленкообразования достигла 3 и 4 уровня, соответственно, а у *S. aureus* – 2 уровня. Стоит отметить, что пленкообразование у *E. coli* не превышало 1 уровня, в то время, как у *E. coli*, продуцирующей гемолизина, отмечено на 3 уровне.

Выводы. Наиболее активно продуцировали биопленки *K. Pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *E. coli* (hem+), самый низкий уровень зафиксирован у *E. coli*, которая не продуцирует гемолизина. Также, показано, что способность к формированию биопленки у *E. coli* и *E. coli* (hem+) разительно отличается.

ШТАММЫ-ДЕСТРУКТОРЫ БИФЕНИЛА РОДА PSEUDOMONAS, ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ ТЕХНОГЕННОЗАГРЯЗНЁННЫХ ПОЧВ Г. ПЕРМИ

Плотникова Е.Г.², Воронина А.О.¹

¹ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия; ²ФГБОУ ВО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия
voroninaao@gmail.com

Территория завода ОАО «Пермский завод смазок и смазочно-охлаждающих жидкостей» длительное время загрязнялась (хлор)ароматическими соединениями, в том числе полихлорированными бифенилами (ПХБ). ПХБ - высокотоксичные ароматические соединения, исключительно устойчивые к физико-химическим воздействиям. Известно, что микроорганизмы могут разлагать стойкие органические загрязнители (в частности ПХБ) и играют важную роль в процессах биоремедиации окружающей среды. Первый этап деструкции ПХБ, гидроксилирование ароматического кольца, осуществляет бифенил 2,3-диоксигеназа. Ген *bphA1* (кодирует α-субъединицу бифенил 2,3-диоксигеназы) является важным маркером при исследовании биодеградационного потенциала бактерий.

Цель работы – выделение и характеристика бактерий-деструкторов бифенила из образцов загрязнённых почв, отобранных на территории производства ОАО «Пермский завод смазок и смазочно-охлаждающих жидкостей» (г. Пермь).

С использованием образцов загрязнённых почв методом накопительного культивирования на среде К1 с бифенилом получена ассоциация микроорганизмов. Методом ПЦР проведено исследование тотальной ДНК, выделенной из накопительной культуры (НК), и выявлено наличие *bphA1*-генов. Из исследуемой НК было выделено 3 аэробных бактериальных штамма (VRP2-2, VRP2-6 и VRP2-8), способных использовать в качестве ростового субстрата бифенил. На основе анализа гена 16S рНК штаммы отнесены к роду *Pseudomonas* (99-100% сходства с типовыми штаммами *Pseudomonas taiwanensis* BCRC 17751^T и *Pseudomonas alcaligenes* NBRC 14159^T). Генетическое сходство/различие исследуемых штаммов определяли методом BOX-ПЦР. Штаммы VRP2-6 и VRP2-8 характеризовались наличием сходных BOX-профилей, но отличающихся от фингерпринта штамма VRP2-2. Методом ПЦР со специфичными праймерами установлено присутствие у этих штаммов генов, кодирующих α -субъединицы бифенил 2,3-диоксигеназы (*bphA1*). Анализ исследуемых генов *bphA1* показал наличие гомологии (97%) с аналогичными генами активных деструкторов ПХБ рода *Pseudomonas*.

Таким образом, на данном этапе работы выделены новые активные штаммы бактерий-деструкторов бифенила, подробное исследование которых будет продолжено.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Программой УрО РАН «Молекулярная и клеточная биология», проект №15-4-4-13.

НОВЫЕ АСКОМИЦЕТЫ, ПРОДУЦИРУЮЩИЕ АЛКАЛОФИЛЬНЫЕ ЛАККАЗЫ

**Подъяблонская Е. В.¹, Ренфельд Ж. В.², Мясоедова Н. М.¹, Самойлова А. С.¹, Черных А. М.¹,
Коломыцева М. П.¹, Головлева Л. А.¹**

¹ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, Пушкино, Россия;

²ФГБОУ ВО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия

il1ssa57@gmail.com

Лакказы (КФ 1.10.3.2, *пара*-дифенол: кислород оксидоредуктазы) – высоко востребованные ферменты в ряде отраслей биотехнологии. Поэтому поиск новых высокоэффективных микроорганизмов, способных продуцировать лакказы с необходимыми свойствами является актуальным. Рост интереса к практическому использованию лакказ сопровождается интенсивным изучением условий, позволяющих повышать продукцию этих ферментов.

В настоящей работе проведен поиск продуцентов лакказ среди 40 штаммов аскомицетов, выделенных из различных природных источников обитания: древесных и травянистых растений, почвы, экстремальных биотопов. Были отобраны 3 перспективных штамма, являющихся продуцентами лакказ, наиболее активных в нейтрально-щелочных условиях: *Myrothecium roridum* F-3565, *Myrothecium verrucaria* F-3851, *Cladosporium herbarium* F-2290. Скрининг проводился в ходе роста на агаризованной среде и погруженного культивирования с использованием различных природных источников углерода и энергии (размолотые семена зерновых культур и свеженатертый картофель).

Оптимизированы условия погруженного культивирования наиболее активных штаммов с целью повышения лакказной активности. Показано, что наилучшими субстратами, повышающими выход лакказной активности, являются свеженатертый картофель в концентрации 150 г/л для *M. verrucaria* F-3851 и горох в концентрации 80 г/л для *M. roridum* F-3565.

Исследованы pH-оптимум и субстратная избирательность лакказ, продуцируемых отобранными грибами. Культуральные жидкости всех исследованных штаммов были наиболее активны с АБТК в кислой области pH, что согласуется с литературными данными для большинства известных лакказ и связано с природой АБТК. Так же были протестированы соединения фенольной структуры в качестве субстратов: 2,6-диметоксифенол, синргалдазин, феруловая кислота, *n*-кумаровый и кониферилловый спирты. Культуральная жидкость гриба *C. herbarium* F-2290 была активна при pH 6.0, а культуральные жидкости штаммов *M. roridum* F-3565 и *M. verrucaria* F-3851 в нейтрально-щелочной области (6.5-7.0 и 8.0-9.0 соответственно). Высокая лакказная активность культуральной жидкости штаммов *M. roridum* F-3565 и *M. verrucaria* F-3851 в отношении большинства протестированных фенольных соединений в нейтрально-щелочных условиях pH является перспективным для использования лакказ этих грибных культур в различных клеточных биотехнологиях.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ (Соглашение № 14.616.21.0001, RFMEFI61614X0001).

ДИНАМИКА ПОСТРАДИАЦИОННОГО ВОССТАНОВЛЕНИЯ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА В СЛОЖНОЙ МНОГОКОМПОНЕНТНОЙ СИСТЕМЕ ПИЩЕВОГО ПРОДУКТА В ПРОЦЕССЕ ХРАНЕНИЯ

Полякова И.В.¹, Кобялко В.О.¹, Козьмин Г.В.¹, Лыков И.Н.²

¹ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, Обнинск, Россия;

²ФГБОУ ВО Калужский государственный университет им. К.Э. Циолковского, Калуга, Россия
irinaamchenkina@mail.ru

Продукция (рыбные пресервы) была подвергнута облучению на электронном ускорителе (5 МэВ) в диапазоне доз от 1,5 до 6 кГр с мощностями доз 83,3 и 250 Гр/с. Необлученная продукция служила контролем.

Во время хранения количество и соотношение микроорганизмов в продукции в разные сроки после облучения определялась несколькими факторами: параметрами радиационного воздействия и реакцией на него обнаруженных в продукции групп микроорганизмов. Для показателя общей микробной обсемененности зависимость от дозы и мощности дозы была наиболее выражена в первые сутки после облучения. Количество дрожжей достигало минимальных значений (<10 КОЕ/г) уже при дозе воздействия 1,5 кГр. В итоге было достигнуто соответствие показателей микробиологической безопасности рыбных пресервов санитарно-гигиеническим требованиям.

Через 95 суток хранения было показано, что микробиологическая загрязненность продукта обусловлена дрожжами, количество которых определяло уровень показателя КМАФАнМ образцов всех вариантов режимов облучения. При этом только для электронного облучения в дозе 6 кГр с мощностью 83,3 Гр/с показатель количества дрожжей соответствовал нормативу (<10² КОЕ/г).

Дальнейшее хранение облученной продукции вплоть до 185 суток продемонстрировало отсутствие порчи продукта для всех режимов радиационной обработки в дозах более 3 кГр. При этом показатель КМАФАнМ не превышал уровня нормативных значений, достигая величины 2-4*10⁴ КОЕ/г, и определялся количеством дрожжевых грибов, которое к этому времени достигло величины 10⁴ КОЕ/г во всех облученных образцах.

Необходимо отметить, что морфологический анализ дрожжевых колоний, высеянных из облученных образцов, продемонстрировал задержку прорастания и уменьшение их размера, которое регистрировали как сразу после воздействия, так и в процессе хранения продукта. Вероятно, ионизирующее излучение вызывало диссоциацию микроорганизмов. В ходе таких процессов изменяются не только морфологические, но и биохимические свойства микробных клеток. Это связано с уменьшением количества копий плазмид, замедлением скорости редупликации, изменением процессов метаболизма, за счет изменения состава выделяемых ферментов. В результате происходит уменьшение диаметра колоний и изменение их консистенции, поскольку сообщество не имеет возможности нормально развиваться.

Такие модификационные изменения могут восстановиться в последующих поколениях при пассажах на средах с углеводами и ростовыми факторами, но в условиях ограниченного питательного ресурса замкнутой системы рыбных пресервов наблюдаемый эффект становится пролонгированным. Этот факт может объяснять отсутствие порчи продукта при регистрируемом высоком уровне содержания дрожжей в облученных образцах во время хранения. Выполненные ранее исследования показали, что облученные дрожжевые клетки обладают сниженной метаболической активностью. Обнаруженное изменение состава и уменьшение выброса экзометаболитов в среду обитания способствует торможению процессов порчи, что обеспечивает увеличение сроков безопасного хранения продукта.

ИССЛЕДОВАНИЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ВИРУСОВ ВИНОГРАДА НА ТЕРРИТОРИИ КРЫМА

Поротикова Е.В.¹, Дмитренко Ю.Д.¹, Рисованная В.И.², Волков Я.А.²,

Володин В.А.², Гориславец С.М.², Странишевская Е.П.², Камионская А.М.¹, Виноградова С.В.¹

¹ФГУ ФИЦ Фундаментальные основы биотехнологии РАН, Москва, Россия; ²ФГБУН Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «МАГАРАЧ» РАН, Ялта, Россия

svetlana.vinogradova@biengi.ac.ru

Виноград (*Vitis vinifera* L.) является одной из многолетних культур, которая имеет ценное сельскохозяйственное значение в южных районах России. В результате длительного срока эксплуатации насаждений, растения накапливают большое количество патогенных организмов. На сегодняшний день известно более 60 вирусов, поражающих виноград. Около 10 из них наносит серьезный ущерб, который заключается в сокращении количества и качества урожая, сокращении продуктивного периода виноградника и необходимости его раскорчевки, а также в невозможности использовать зараженную лозу для получения

посадочного материала. Наиболее распространенными в регионах возделывания винограда являются вирусы крапчатости (GFkV), скручивания листьев винограда (GLRaV-1, 2, 3), короткоузлия (GFLV), комплекса бороздчатости древесины винограда (GRSPaV, GVA, GVB).

Пораженные растения имеют различные симптомы: покраснение и скручивание листовой пластины, межжилковый хлороз, посветление жилок, горошение ягод.

Данные о распространении вирусов винограда на территории России отсутствуют, поэтому целью нашей работы было изучение распространения наиболее известных вирусов винограда в одном из основных регионов российского виноградарства – в Крыму.

Обследования проводили в 2 этапа 2014-2015 гг.: в начале вегетации и осенью, перед сбором урожая, в связи с неравномерным распространением симптомов вирусов в течение всего сезона. Для лабораторной диагностики из отобранных образцов выделяли суммарную РНК и проводили реакцию обратной транскрипции. Полимеразную цепную реакцию проводили со специфическими праймерами, а в качестве матрицы брали синтезированную на предыдущем этапе кДНК. Визуализацию ПЦР-продуктов проводили методом электрофореза в 1% агарозном геле. Полученные фрагменты экстрагировали из геля, очищали и секвенировали.

В результате обследования 15 коммерческих виноградников было отобрано 792 образца листьев винограда с симптомами вирусной инфекции. GRSPaV обнаружен в 5,56% пораженных образцах, GVA – 3,41%, GFLV – 2,15%, GLRaV-1 – 1,77%, GLRaV-3 – 1,64%, поражение GFkV составило 13,13% от общего количества проанализированных образцов. Кроме того, были обнаружены образцы со смешанной инфекцией двух, трех, четырех вирусов.

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

ИЗУЧЕНИЕ ЛИТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА *LYSOBACTER CAPSICI* ВКМБ-2533

Протас К.Г.^{1,2}, Кудрякова И.В.¹, Васильева Н.В.¹

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

²ФГБОУ ВО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия
k.protas2015@gmail.com

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

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

Данная работа является началом изучения литического потенциала *L. capsici* ВКМБ-2533. Установлено, что этот штамм продуцирует в культуральную жидкость биологически активные соединения. Литическое действие препарата культуральной жидкости *L. capsici* было исследовано методом спот-теста на живых условно-патогенных штаммах грамположительных, грамотрицательных бактерий и мицеллярных грибах. Литический эффект был обнаружен по отношению к грамположительным бактериям *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium flavum* и *Bacillus cereus* и грибам *Fusarium sporotrichiella*, *Fusarium solani* и *Sclerotinia sclerotiorum*.

Комплекс микробиологических и биохимических экспериментов позволили выявить оптимальную питательную среду и оптимальные условия для культивирования *L. capsici* и продукции литических агентов. Для выявления вероятных агентов белковой природы проведён сравнительный электрофоретический анализ белков культуральной жидкости. Установлено, что с увеличением времени культивирования в культуральной жидкости появляется ряд белков с молекулярной массой преимущественно до 40 кДа, что сопряжено с повышением литической активности. Возможно, это связано с присутствием бактериолитических ферментов.

Для выделения литических белков была разработана многостадийная схема очистки, включающая фракционирование белков культуральной жидкости *L. capsici* сульфатом аммония, ионообменную хроматографию и гель-фильтрацию. В результате были выделены два белка с молекулярной массой 24,5 и 26,6 кДа в электрофоретические гомогенном виде и проявляющих литическую активность на автоклавированных клетках *S. aureus* 209P.

Дальнейшие исследования будут направлены на характеристику выделенных белков и поиск других литических агентов *L. capsici*.

ПРОТЕОГЕНОМНОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ ШТАММА УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩЕЙ БАКТЕРИИ *TSUKAMURELLA TYROSINOSOLVENS* PS2

Романова В.А., Григорьева Т.В., Лайков А.В.¹

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

avonamora-94@mail.ru

Проблема нефтяного загрязнения окружающей среды остается актуальной проблемой, несмотря на значительное количество научных и прикладных работ, проводимых по данной тематике. Среди способов очистки, используемых для утилизации нефтяных загрязнений и биоремедиации окружающей среды, особое место занимают биологические методы с применением углеводородокисляющих бактерий. В настоящий момент секвенирование нового поколения и исследование протеомного профиля становятся все более актуальными методами среди исследований бактериальных штаммов. Из твердых химических отходов нами был выделен бактериальный изолят, способный использовать алканы в качестве единственного источника углерода и энергии. По гену 16S рПНК изолят идентифицирован как *Tsukamurella tyrosinosolvens* PS2.

Нами была расшифрована нуклеотидная последовательность полного генома *T. tyrosinosolvens* PS2 размером 4.8406 Мб (Illumina, MiSeq). В геноме исследуемого штамма обнаружены гены системы первичной атаки алкановой цепи: алкан-1-монооксигеназа, рубредоксин и рубредоксин-редуктаза. Также обнаружены гены пути бета-окисления жирных кислот, алкоголь- и альдегид-дегидрогеназ, что дает возможность штамму осуществлять полное окисление алканов до ацетил-КоА.

На основе аннотированного генома был проведен протеомный анализ белкового профиля штамма бактерии *T. tyrosinosolvens* PS2 в разных условиях культивирования (сахароза, глюкоза, гексадекан) с помощью 2D DIGE-электрофореза и последующей идентификацией белков при помощи методов масс-спектрометрии (MALDI-TOF) и хромато-масс-спектрометрии (maXis Impact). Данные, полученные при помощи MALDI-TOF и LC/MS анализов, позволили сделать вывод, что между условиями культивирования существует разница в количестве уникальных белков, и количестве белков, общих для разных питательных сред. Так, на средах с сахарозой и глюкозой общих белков экспрессировалось больше, по сравнению с парами сахар-гексадекан, что отражает значительные изменения в белковом профиле при переходе на метаболизм углеводов. Так же, на средах, содержащих сахарозу и глюкозу, обнаружены все белки гликолиза, в отличие от среды с гексадеканом, на котором среди уникальных преобладали белки, ответственные за метаболизм жирных кислот.

Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют о том, что штамм бактерии *T. tyrosinosolvens* PS2 представляет интерес как для использования в области биотехнологии, так и для дальнейших исследований особенностей метаболизма и регуляции клеточных процессов, позволяющих повысить эффективность его применения.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ПОЛИМИКРОБНЫХ БИОПЛЕНК В УСЛОВИЯХ АНТИБИОТИКОТЕРАПИИ

Рыжикова М.Н.¹, Тризна Е.Ю.¹, Курбангалиева А.Р.¹, Каюмов А.Р.¹

¹ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

mariarimgol@mail.ru

Изучение полимикробных биопленок началось совсем недавно. Раньше изучались только мономикробные биопленки, в которых не учитывалась взаимосвязь различных микроорганизмов. Такая взаимосвязь способствует к устойчивости этих бактерий к антибиотикам, что, в конечном счете, может привести к хроническим заболеваниям. Действие антибиотиков, используемых в настоящее время, обладает низкой эффективностью против полимикробных биопленок. Поэтому актуальной проблемой является поиск новых препаратов, подавляющих рост и образование биопленок. Показано, что использования производных фуранонов приводит к ингибированию генов образования биопленок. Нами ранее показано, что фуранон Ф105 эффективно подавляет образование биопленок в клетках стафилококков.

Целью работы было проанализировать жизнеспособность бактерий в условиях антибактериальной терапии ванкомицином и гентамицином, а также установить возможность выживания стафилококка за счет нахождения в биопленке псевдомонады.

Ранее в нашей лаборатории была получена модель полимикробной биоплёнки, в состав которой входили клетки *S.aureus* и *P.aeruginosa*. Также для фуранона Ф105 была установлена минимальная подавляющая концентрация (МПК) и минимальная биопленку подавляющая концентрация (МБПК) для *S. aureus*. Они составили 0.5 мкг/мл и 2.5 мкг/мл соответственно. В составе полимикробной биопленки, включающей *S. aureus* и *P. aeruginosa*, при концентрации 10 мкг/мл образовывалась биопленка, в составе которой все бактерии оставались жизнеспособными, что свидетельствует о том, что в составе полимикробных биопленок повышается жизнеспособность бактерий. Также мы определили повышение эффективности антибиотика против бактерий в присутствии фуранона Ф105. Клетки бактерий выращивали в среде ВМ в присутствии фуранона в течение 2 суток при температуре 37°C без качания. Затем вносили антибиотик (ванкомицин и гентамицин) до указанных концентраций и инкубировали в течение суток. После оценивали жизнеспособность клеток в культуральной жидкости и в составе биопленок методом флюоресцентной микроскопии и Drop plate анализа. Анализ показал, что эффективность антибиотиков в присутствии фуранона Ф105 увеличивалась в 2 и более раз. Дальнейшие исследования будут направлены на поиск причин данных взаимоотношений.

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

СТРУКТУРНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА *nodA* У ПРИРОДНЫХ ШТАММОВ *SINORHIZOBIUM MELILOTI*

Саксаганская А.С.¹, Мунтян В.С.¹, Румянцева М.Л.¹

¹ ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии
Россельхозакадемии, Санкт-Петербург, Россия
allasaksaganskaya@mail.ru

Для формирования симбиоза между бобовыми растениями и клубеньковыми бактериями (ризобиями) необходим взаимный обмен молекулярными сигналами. Со стороны ризобий таковым является Nod-фактор, синтез которого детерминирован *nod* генами. Среди последних рассматривают как «общие» (*nodA*, *nodB* и *nodC*), встречающиеся у всех видов клубеньковых бактерий, так и «видоспецифичные» *nod* гены, характерные для каждого вида ризобий. Ген *nodA* детерминирует присоединение остатка определенного типа жирной кислоты к остоу Nod-фактора, что обуславливает специфичность Nod-факторов по отношению к определенному виду растения-хозяина.

Нами изучен структурный полиморфизм гена *nodA* у 181 природного штамма *S. meliloti* методом ПЦР-RFLP. Штаммы были выделены из клубеньков растений-хозяев трех родов: *Medicago*, *Melilotus*, *Trigonella*. Соотношение изолятов составило 118:50:13.

Всего выявлено 5 RFLP-типов (аллелей) гена *nodA*, из которых аллели, имевшие структурные изменения (дивергентные аллели) встречались с частотами от 0.22 до 0.02, а типовая аллель «aa», характерная для тест-штамма Rm1021, – с частотой 0.56. Симбионты люцерны и донника содержали по 3, а ризобии пажитника – 2 дивергентные аллели гена *nodA*. Частоты встречаемости типовых и дивергентных аллелей у симбионтов донника были сходными (0.48 и 0.52, соответственно), а у симбионтов люцерны и пажитника – сходные доли дивергентных аллелей не превысили 0.4. Выявлено по одному дивергентному аллелю специфичному соответственно для симбионтов люцерны и донника, а также аллель, достоверно чаще встречавшаяся у симбионтов донника ($\chi^2=8.78$, $P=0.003$). Определена дивергентная аллель, которая встречалась только у симбионтов пажитника. Анализ уровня гетерогенности гена *nodA* показал сходно высокие значения индекса Нея (среднее значение $N=0.78$) у симбионтов всех трех родов растений-хозяев, и более высокие значения индекса Шеннона у ризобий люцерны и донника, чем у ризобии пажитника ($H=1.04$, 1.03 и 0.86 , соответственно).

Таким образом, показано высокое структурное разнообразие гена *nodA*, участвующего в синтезе Nod-фактора, у штаммов *S. meliloti* в генцентрах их растений-хозяев и впервые выявлена взаимосвязь структурного полиморфизма с хозяйской специфичностью у клубеньковых бактерий люцерны.

Работа поддержана грантом РФФИ 15-04-09295а.

МОДУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ, МЕТАБОЛИЗМА ИОНОВ ЖЕЛЕЗА И ОБЩЕГО СТРЕССОВОГО ОТВЕТА У БАКТЕРИЙ *ESCHERICHIA COLI* В СОСТАВЕ БИОПЛЕНОК ПРИ ДЕЙСТВИИ ЭКСТРАКТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Самойлова З.Ю.¹, Смирнова Г.В.¹, Октябрьский О.Н.¹

¹ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия
samzu@mail.ru

Изучено влияние экстрактов лекарственных растений на экспрессию генов *katG*, *iucC*, *rpoS* и *katE* в клетках *Escherichia coli* в составе биопленок. Ген *katG* кодирует каталазу-гидропероксидазу НРІ, ответственную за адаптацию к пероксидному стрессу. Ген *iucC* кодирует элемент системы транспорта железа, индуцируемый при дефиците внутриклеточного железа. Ген *rpoS* кодирует глобальный регулятор перехода клеток в стационарную фазу роста, а подконтрольный ему ген *katE* – каталазу НРІІ, которая индуцируется в стационарной фазе.

Бактериальные биопленки выращивали в течение 22 ч при 37°C в лунках полистироловых 96-луночных планшетов, содержащих питательную среду с добавлением казеиновых кислот и глюкозы. Биопленки дважды отмывали физиологическим раствором и ресуспендировали в свежей питательной среде с добавлением различных доз экстрактов лекарственных растений (0,83 и 6,64 мг сухого вещества/мл). Далее с помощью планшетного спектрофотометра Biograd X-Mark в течение 3 часов отслеживали изменение экспрессии указанных генов в клетках в составе биопленок по методике, модифицированной для определения активности бета-галактозидазы в планшетах.

В начале культивирования в отсутствие экстрактов растений величина активности бета-галактозидазы составила 119 ± 11 , 143 ± 13 , 636 ± 36 и 3829 ± 383 единиц Миллера в слияниях *katG::lacZ*, *iucC::lacZ*, *rpoS::lacZ* и *katE::lacZ*, соответственно. В течение 3 ч инкубации в отсутствие экстрактов величина экспрессии *katG::lacZ* существенно не менялась. Величина экспрессии *iucC::lacZ* снижалась приблизительно на 30% через 2 часа. Экспрессия слияния *rpoS::lacZ* через час возрастала вдвое, а к концу культивирования превышала исходный уровень лишь на 17 %. Экспрессия *katE::lacZ* имела 2 пика - в начале и через 2 часа после начала культивирования). В присутствие испытываемых экстрактов лекарственных растений отмечалось подавление экспрессии генных слияний. Максимальные эффекты обнаружены в присутствие экстрактов зеленого, черного чая, толокнянки и брусники. Выявлена отрицательная связь между уровнем экспрессии *rpoS::lacZ* и интенсивностью процессов биопленкообразования в присутствие экстрактов растений. Также обнаружена обратная связь между величиной экспрессии генных слияний в присутствие экстрактов растений и содержанием в них полифенолов.

Исследование выполнено при поддержке грантом РФФИ № 16-04-00762 и программой УрО РАН № 15-4-4-16.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ БЕЛКОВ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ КОНЬЮГАТИВНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ

Саргалиева Г.М.¹, Владимирова А.А.², Гуменко Р.С.², Акимова Е.С.², Баймиев Ан.Х.²

¹ФБГОУ ВПО Башкирский государственный университет, Уфа, Россия; ²ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Уфа, Россия
sargalieva94@mail.ru

Клубеньковые бактерии (ризобии) - граммотрицательные микроорганизмы, обладающие свойством фиксировать атмосферный азот в симбиозе с бобовыми растениями. Симбиотические гены (*sym*-гены) являются неотъемлемой составляющей геномов клубеньковых бактерий, способных к образованию эффективных клубеньков. Именно наличие данных генов дает возможность относить те или иные виды бактерий к группе клубеньковых.

Sym-гены включают в себя ответственные за фиксацию азота *nif*-гены, которые кодируют синтез и регуляцию фермента нитрогеназы; *nod*-гены, кодирующие синтез Nod-факторов (НФ), отвечающих за инициацию и специфичность образуемого симбиоза; а также *fix*-гены, которые также необходимы для азотфиксации, часто сцепленные с *nif*-генами, но не гомологичные с ними. На сегодняшний день проведено

большое количество работ, свидетельствующих о высокой мобильности *sum*-генов и подверженности их горизонтальному переносу (ГПГ). Доказано, что данный процесс является неотъемлемой частью эволюции бобово-ризобияльных взаимоотношений.

Наиболее частым механизмом ГПГ симбиотических генов у клубеньковых бактерий является конъюгация. Наиболее удобным методом исследования конъюгативной активности бактерий является использование маркерных генов флуоресцентных белков. Поэтому целью нашей работы стало получение маркированных штаммов клубеньковых бактерий рода *Rhizobium* и исследование конъюгативной активности между ними. В настоящее время наиболее удобными и эффективными прижизненными маркерами являются гены флуоресцирующих белков.

Объектами исследования в данной работе служили бактерии, выделенные из клубеньков дикорастущих бобовых растений умеренного климата, относящихся к роду *R. leguminosarum* bv. *viciae*. Методом электропорации были получены рекомбинантные варианты взятых в анализ штаммов, несущие генно-инженерные конструкции с репортерными генами флуоресцентных белков TurboGFP и TurboRFP. Векторные конструкции были созданы на основе плазмиды *pJN105*, и содержат *mob* участки, благодаря которым активно могут быть включены в конъюгативный процесс. После совместного культивирования на жидкой и твердой питательных средах штаммов, маркированных зеленым флуоресцентным белком, и штаммов с красным флуоресцентным белком, методом проточной флуориметрии, были обнаружены штаммы, содержащие оба маркерных белка, что говорит о конъюгативном взаимодействии между штаммами, несущими разные маркерные гены. Использование данного подхода может служить удобным способом исследования конъюгативной активности между штаммами клубеньковых бактерий.

Работа поддержана грантом РФФИ № 26 16-34-0027816

НОВЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОДЕГРАДАЦИИ БЕЛОГО ФОСФОРА

Сахапов И. Ф.², Миндубаев А. З.¹, Волошина А. Д.¹, Валидов Ш. З.², Бабынин Э. В.²,
Яхваров Д. Г.^{1,2}

¹ФГБУН Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН, Казань, Россия; ²ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
mindubaev-az@yandex.ru

Одной из серьезнейших проблем, с которой мы до сих пор сталкивались, производя посевы микроорганизмов в среды с белым фосфором, было отсутствие эффективного метода стерилизации. Был предложен метод стерилизации P_4 в мягких условиях, без применения высоких температур. Для этого навеска ксенобиотика должна погружаться на 15 минут в липофильный органический растворитель (мы использовали ацетон). В контрольных средах рост отсутствовал спустя 117 дней, они остались прозрачными без опалесценции и взвесей. Это указывает на то, что стерилизация навесок P_4 ацетоном эффективна.

Посев аспергилла в среду, содержащую сразу два источника фосфора – классическая смесь гидрофосфата и дигидрофосфата, и белый фосфор, вызывает большой интерес. Культура *Aspergillus niger* AM1 выращивалась в чашках Петри на агаризованной среде. При этом посев производился не в трех, а в четырех вариантах: модифицированная среда Придхем-Готтлиба без источников фосфора, с фосфатом, с 0.2% белого фосфора и, четвертый вариант – с 0.2% P_4 и с фосфатом (в той же концентрации, что во втором варианте). Все четыре варианта посева произведены в трех повторах. На 12 сутки после посева *A. niger* AM1 в четыре варианта среды, наблюдалась следующая картина. В средах без источников фосфора рост практически не наблюдается. В средах с фосфатом аспергилл хорошо растет и спороносит, однако культура не чистая, помимо аспергилла присутствуют колонии других микроорганизмов. В средах с 0.2% белого фосфора колонии аспергилла имеют пониженную фертильность. Очень интересный результат показал четвертый вариант посева – с белым фосфором и фосфатом. Колонии растут очень хорошо, даже более развитые, чем в среде с фосфатом, причем в двух случаях из трех выросла чистая культура (в одном появилась кремовая колония неизвестного вида). То есть медленный рост аспергилла в среде с белым фосфором объясняется не токсичностью последнего для данного штамма, а исключительно его труднодоступностью как источника фосфора! P_4 , судя по всему, нетоксичен для данного гриба.

Очень большой интерес представляет исследование генотоксичности – возможного источника мутаций. Белый фосфор в концентрации 62.5 мкг/мл является слабым мутагеном. P_4 в концентрации 1000 мкг/мл убивает культуру за 9 часов эксперимента. Т.е., общая токсичность белого фосфора намного превосходит его генотоксичность.

Данные результаты получены нами впервые в мире.

КУЛЬТИВИРУЕМАЯ АЭРОБНАЯ МИКРОБИОТА КИШЕЧНОГО ТРАКТА ГУСЕЙ

Синельникова Ю. С.¹, Присяжная Н. В.², Стародумова И. П.^{2,3}, Смыслова Ю. Д.³,
Дорофеева Л.В.²

¹ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия; ²ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино, Россия; ³ФГБОУ ВО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия

tennoko@rambler.ru

Изучение компонентов микробиома кишечного тракта сельскохозяйственных животных представляет интерес в связи с решением ряда научных и практических задач, в их числе – оценка и оптимизация состава микробиома, создание и применение новых пребиотиков и пробиотиков, выявление представителей новых таксонов микроорганизмов и их свойств, в том числе, перспективных для использования в биотехнологии.

В настоящей работе были изучены обработанные ультрафиолетом образцы экскрементов гусей пород Линда и Крупная серая, разводимых в фермерских хозяйствах Краснодарского края. В питании птиц использована комбинированная система кормления (в рационе присутствуют комбинированные зерновые и естественные сочные корма – зеленая трава).

Более 90% бактерий, выросших на чашках в аэробных условиях, формировали полупрозрачные, непигментированные или с различным желтоватым оттенком колонии. Для предварительной идентификации выделенных штаммов использовали метод МАЛДИ масс-спектрометрии – относительно новый эффективный метод, используемый в таксономии микроорганизмов, в том числе, для их идентификации на уровне вида и выявления близкородственных культур, а также метод анализа 16S рРНК генов.

Из исследованных 387 культур 26,3% были определены до рода и вида. Значительная часть штаммов относилась к *E. coli*. Другие культуры были идентифицированы как представители родов протеобактерий (*Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Brevundimonas*), фирмикут (*Enterococcus*, *Exiguobacterium*, *Staphylococcus*, *Vagococcus*) и актинобактерий (*Arthrobacter*, *Brachybacterium*, *Brevibacterium*, *Cellulosimicrobium*, *Corynebacterium*, *Curtobacterium*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Oerskovia*, *Pseudoclavibacter*, *Rhodococcus*, *Rothia*). Среди изученных штаммов обнаружены потенциальные представители новых видов, представители родов, включающих в настоящее время только несколько видов (например, *Cellulosimicrobium*), штаммы с целлюлолитической активностью.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-34-01048 мол_а.

ИЗУЧЕНИЕ РЕВЕРСИИ САЛЬМОНЕЛЛ ИЗ НЕКУЛЬТИВИРУЕМОГО СОСТОЯНИЯ В АКТИВНОЕ

Скорлупкина Н.Н.^{1,2}, Сходова С. А.¹, Блинкова Л.П.¹, Чистякова Д.А.¹, Пахомов Ю.Д.¹

¹ФГБНУ Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия;

²ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

nadezhdaskor@yandex.ru

Патогенные микроорганизмы могут переживать неблагоприятные условия среды в некультивируемом состоянии (НС). Клетки в таком состоянии метаболически малоактивны и характеризуются неспособностью расти на стандартных микробиологических средах. Микроорганизмы в НС могут присутствовать в таких объектах, как почва, водопроводная вода, продукты питания, клинические образцы и др. Изучение реверсии бактерий в активное состояние поможет понять ее механизмы и будет способствовать возможности обнаружения патогенных бактерий в окружающей среде.

Для эксперимента использовали штамм *Salmonella enterica Typhimurium* 79 (условно-патогенный микроорганизм, Gr-), находившийся в НС 1 год в морской воде. Как факторы пробуждения испытывали – инулин, порошок топинамбура, витамины С и РР, аминокептид-кровезаменитель. Клетки исследовали с помощью методов микробиологии, микроскопии (световая, люминесцентная, электронная), проточной цитометрии, оптической плотности. Данные обрабатывали с использованием параметрических критериев статистики.

Показано, что сальмонеллы достоверно реверсировали в активное состояние при наличии в среде 1% инулина через 24 ч (37% клеток в НС против контроля без факторов 90%), 1% порошка топинамбура через 48 ч (7% клеток в НС против контроля 81%) и 0,01% витамина РР через 48ч (13% клеток в НС по сравнению с контролем 82%). При других концентрациях и остальных факторах не обнаружен достоверный выход из НС. Для эффективных факторов изучали изменение размера и гранулярности клеток в динамике реверсии в активное состояние. При помощи электронной микроскопии оценили размер и форму клеток сальмонелл, находящихся в НС, по сравнению с клетками в активном состоянии.

Сальмонеллы при содержании 1% топинамбура, инулина или 0,01% витамина PP достоверно ускоряли выход из НС, при других концентрациях такого влияния не отмечено. Вероятно, малые концентрации вещества недостаточны, чтобы произвести реверсию, а при больших дозах, возможно, проявляется подавляющее действие. При инкубации с разными концентрациями аминокислоты также не наблюдали позитивного эффекта выхода из НС в вегетативное состояние. Возможно, микроорганизм не чувствителен к данным агентам в НС, либо концентрации веществ были не оптимальны. Показано изменение размеров клеток в популяции в процессе реверсии в активное состояние, а также оценены нативные размеры сальмонелл в НС.

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ШТАММЫ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИЙ

Смирнова И.И.¹

¹ФГБУН Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма, Симферополь, Россия
irina_smirnova86@bk.ru

Одним из перспективных путей повышения урожайности сельскохозяйственных культур, получения высококачественной продукции и при этом сохранения почвенного плодородия является предпосевная инокуляция семян микробными препаратами, в том числе на основе азотфиксирующих микроорганизмов (дiazотрофов). Несмотря на накопленный мировой научный опыт, проблема формирования эффективной системы «почва-микроорганизм-растение» остается актуальной и сегодня. Среди свободноживущих diaзотрофов, формирующих ассоциативный симбиоз с небобовыми растениями, особое место занимают бактерии рода *Azotobacter*.

В коллекции полезных микроорганизмов отдела сельскохозяйственной микробиологии ФГБУН «НИИСХ Крыма» имеется широкий спектр штаммов клубеньковых бактерий. В последние годы коллекция пополнилась ассоциативными с растениями ризобактериями разных систематических групп, а свободноживущие diaзотрофы представлены штаммом *Azotobacter vinelandii* 10702.

Цель исследований – поиск и выделение штаммов азотфиксирующих бактерий рода *Azotobacter* и их первичная оценка эффективности.

Из образцов почвы с разной антропогенной нагрузкой выделены 12 штаммов diaзотрофных бактерий. По морфологическим и биохимическим характеристикам 5 штаммов идентифицированы как *Azotobacter* sp., а два из них имели флуоресцирующий пигмент, аналогично референтному *A. vinelandii* 10702.

Битотест на семенах пшеницы выявил стимулирующее действие 3 нововыделенных штаммов *Azotobacter* на посевные качества семян пшеницы озимой сорта Станичная. Установлено их положительное влияние на рост и развитие растений. Длина корней у инокулированных растений увеличивалась на 25,8-38,4%, высота растений на 4,3-7,2% соответственно в сравнении с контролем.

Штамм *Azotobacter* sp. 3 стимулировал рост корней и надземной части растений сорго сорта Днепровский 38, длина и высота которых соответственно превышала контроль в 2,6 и 2,1 раза. Фитомасса растений сорго в вариантах с инокуляцией семян *Azotobacter* sp. 2, *Azotobacter* sp. 3 и *A. vinelandii* 10702 превышала контроль в 1,6, 6,0 и 3,3 раза соответственно.

Таким образом, из почв с разной антропогенной нагрузкой выделены штаммы азотфиксирующих бактерий рода *Azotobacter*, стимулирующих рост и развитие растений пшеницы и сорго. Штаммы являются перспективными для разработки микробных препаратов на их основе.

ИЗУЧЕНИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ГЕНОВ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ КОНВЕРСИЮ АРОМАТИЧЕСКИХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ

Стариков С.Н.¹, Саетова К.У.², Дмитриев М.Н.²

¹ФГБУН Уфимский Институт биологии РАН, Уфа, Россия; ²ФГБОУ ВО Башкирский государственный педагогический университет им. М.Акумуллы, Уфа, Россия
Senik0406@gmail.com

Известно, что наиболее важным в изучении генетики процессов деградации ксенобиотиков является получение сравнительных характеристик генов, контролирующих ферменты первичной атаки, делающей доступным синтетическое соединение для дальнейшей конверсии. В этом контексте поиск и сравнительное изучение генов диоксигеназ, контролирующих начальные этапы расщепления ароматического кольца у прокариот, вызывает особый интерес.

Целью настоящей работы являлось сравнение генов диоксигеназ протеобактерий-деструкторов ароматических производных.

Объектами исследования являлись природные штаммы-деструкторы родов *Pseudomonas* и *Xanthomonas* коллекции микроорганизмов УИБ РАН: ИБ-Р1, ИБ-Р2, ИБ-Р3, ИБ-Р4, ИБ-Р15, ИБ-Х1. Скрининг генов проводили с праймерами, разработанными для консервативных регионов гена *xylE1*: F 5'-CCGCCGACCTGATC(A/T)(C/G)CATG-3' и R 5'-TCAGGTCA(G/T)CACGGTCA(G/T)GA-3'. Ожидаемый размер ПЦР-продукта составлял 242 п.н. В реакционную смесь вносили: 67 mM Tris-HCl (pH 8.3), 17 mM (NH₄)₂SO₄, 0.001% Tween 20, 2.5 mM MgCl₂, 25 п./моль каждого праймера, 2 mM dNTP- 1.0 мкл и 1.25 единиц Taq – полимеразы (Sigma), ДНК матрицу – 1 мкл; H₂O- до 10 мкл. Накопление ПЦР-продуктов проводили в амплификаторе TC 2720 (Applied biosystems, США) в следующем режиме: 1) 95°C-2:00, 2) 94°C -00:45, 3) 64°C – 00:30, 4) 72°C -1:00, 5) 30 циклов 2 - 3 – 4 этапов, 6) 72 °C -5:00, 7) конец программы.

В настоящей работе с применением набора оригинальных праймеров (B. Hendrickx et al., 2006) проведена ПЦР-детекция катаболического гена *xylE1*, кодирующего катехол 2,3-диоксигеназу. По результатам ПЦР-анализа можно сделать вывод об отсутствии гомологов гена *xylE1* штамма *Pseudomonas putida* mt-2 (Paw1) (Burlage et al., 1989) в геномах природных деструкторов родов *Pseudomonas* и *Xanthomonas*, выделенных из загрязненных почв разных мест и глубин экотопов Уфимского промузла. Полученные данные свидетельствуют в пользу того, что конверсию ароматических соединений у вновь выделенных изолятов контролируют другие генетические системы.

ФИЛОГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ АКТИНОБАКТЕРИЙ РОДА *RATHAYIBACTER*

**Стародумова И. П.^{1,2}, Тарлачков С. В.^{1,3}, Присяжная Н. В.¹, Дорофеева Л. В.¹, Арискина Е. В.¹,
Василенко О. В.¹**

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

²ФГБОУ ВО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия; ³ФГБУН Филиал института биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пушкино, Россия
iri-starodumova@yandex.ru

Актинобактерии рода *Rathayibacter* Zgurskaya et al. 1993 (сем. *Microbacteriaceae*) – аэробные, неспорообразующие, неправильные палочки с преобладающим менахиномом MX-10 в дыхательной цепочке и пептидогликаном Б-типа. Род включает 6 валидно описанных видов, большинство из которых имеют высокий уровень сходства фенотипических признаков и генов 16S рРНК (до 99.5%). Виды *Rathayibacter* (*rathayi*, *iranicus*, *tritici*, *toxicus*) известны как фитопатогены (вызывают гуммоз злаков), переносятся на растения галлообразующими нематодами рода *Anguina*. *R. toxicus* образует сильный токсин (гликолипид), являющийся причиной гибели травоядных животных. Все вышесказанное определяет актуальность таксономического исследования этой группы бактерий с применением современных подходов и развития эффективных методов идентификации близких видов.

Из хозяйских растений (пижмы, проломника и горчака), атипичных для известных видов *Rathayibacter*, выделены новые изоляты, которые имеют высокое сходство с известными видами этого рода по генам 16S рРНК (до 99.7%), но отличаются от них по компонентам МАЛДИ масс-спектров, составу сахаров клеточной стенки и ряду физиолого-биохимических признаков.

Филогеномный анализ 17 актинобактерий рода *Rathayibacter* (представителей описанных видов, а также новых штаммов) показал, что геномы имеют высокое сходство значений средней идентичности нуклеотидов (ANI 75.7–100%) и формируют отдельный филогеномный кластер в пределах семейства *Microbacteriaceae*. Значения ANI между геномами известных видов *Rathayibacter* – от 75.9 до 92.0%. В этот диапазон попадают значения ANI, определенные между новыми изолятами из пижмы и проломника (штаммы ВКМ Ас-2596 и ВКМ Ас-2121) между собой (83.2%) и с типовыми штаммами известных видов (76.7–84.1% и 76.8–85.3%). Штамм ВКМ Ас-2630 (из горчака) наиболее близок к типовому штамму *R. caricis* DSM 15933^T (ANI 94.0%). Этот показатель выше уровня сходства между известными видами *Rathayibacter*, но не превышает порогового значения сходства (95–96%) между штаммами, относимыми к одному виду (Richter & Rossello-Mora, 2009).

Результаты ДНК-ДНК гибридизации *in silico* показали, что сходство штаммов ВКМ Ас-2596, ВКМ Ас-2121 и ВКМ Ас-2630 между собой и с известными видами ниже 70% – границы разграничения видов.

Таким образом, на основе показателей ANI и ДНК-ДНК гибридизации *in silico* получены доказательства принадлежности штаммов, имеющих высокий уровень сходства с известными видами по генам 16S рРНК (до 99.7%), к новым видам.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-34-01048 мол_а.

УСИЛЕНИЕ РОСТА БАКТЕРИЙ-НИТРИФИКАТОРОВ В ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ С ПОМОЩЬЮ ПЕРЕГНИВШЕГО РОГОЛИСТНИКА

Суханова К.Д.¹, Денисенко Т.Е.¹

¹ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия
wwrongway@gmail.com

Микроорганизмы распространены повсеместно и играют огромную роль в жизни всей планеты в целом. В первую очередь стоит отметить значение бактерий в геохимических круговоротах.

Азот является одной из составляющих жизни, но в то же время представляет угрозу в виде аммония и нитритов. В основе его круговорота лежит деятельность некоторых видов бактерий, которые подвергают соединения азота превращениям в несколько стадий. Для нас интерес представляют процессы аммонификации и нитрификации, в ходе которых образуются и утилизируются токсичные формы азота, упомянутые выше. Данный цикл был рассмотрен на примере водных экосистем, в качестве модели был выбран аквариум.

Источником аммонийного азота в аквариуме являются бактерии аммонифицирующего звена азотного цикла и сами рыбы. Источником нитритного азота являются только бактерии, преимущественно нитрификаторы. Необходимость наблюдений за данными соединениями в воде объясняется их токсикологией.

В настоящее время считается, что важнейшую роль в процессе окисления нитритов до относительно безопасных нитратов играют бактерии рода *Nitrospira*.

В случае нарушения биологического равновесия, которое может быть вызвано залповой посадкой рыбы, перекормом, гибелью животных, необходимо провести ряд мероприятий, которые сведут к минимуму токсическое действие опасных соединений и предупредят катастрофический рост их концентраций в воде.

Один из возможных методов нормализации азотного цикла был исследован в данной работе. Предполагалось, что в системах с перегнившим роголистником (*Ceratophyllum L.*) состояние нормализуется быстрее за счет более активного роста микрофлоры, чем без него, а показатели аммонийного и нитритного азота вернутся к норме. Мертвое растение использовалось как субстрат для перифитонной микрофлоры, а также для питания нитрификаторов. Для сравнения был использован бактериальный препарат одной известной фирмы на рынке аквариумистики.

Опираясь на результаты проведенных экспериментов можно отметить, что в системах с перегнившим роголистником стабилизация азотного цикла и установление нормальной микрофлоры проходили быстрее, чем в пустых системах, а концентрации токсичных соединений в ходе всего эксперимента достигали меньших значений и слабо отличались от системы с бактериальным препаратом.

При дальнейшем, более детальном, изучении данной проблематики стоит рассмотреть возможность использования перегнившего роголистника как вполне эффективное средство в случаях нарушения биологического равновесия.

ВЛИЯНИЕ МОЧЕВИНЫ НА ПОДВИЖНОСТЬ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ *MORGANELLA MORGANII*

Тошева З.С.¹, Марданова А.М.¹

¹ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Казань, Россия
tosheva_zarina@mail.ru

Грамотрицательные бактерии *Morganella morganii* являются оппортунистическими патогенами, вызывающими катетер-ассоциированные инфекции мочевых путей (ИМП). Важным фактором для колонизации различных поверхностей является подвижность. В литературе мало данных о способности *M. morganii* к подвижности в жидкой среде и влиянию на неё различных факторов.

Цель работы: изучение влияния на подвижность клинических изолятов *M. morganii* температуры и мочевины. Объектом исследования были два штамма, выделенные от больных с ИМП: негемолитический штамм *M. morganii* 1 и штамм *M. morganii* 190 с высокой гемолитической активностью. Гемолитическую активность исследовали по гемолизу эритроцитов (2%) человека. Подвижность исследовали на полужидкой среде LBA, содержащей 0.33% агара, при температуре 30 и 37 °C и оценивали по диаметру колонии. Исследовали влияние на подвижность мочевины (20 мг/мл).

Результаты. Было показано, что оба штамма способны к подвижности в жидкой среде. Однако подвижность бактерий по-разному зависит от температуры культивирования. *M. morganii* 1 способна к

выраженной подвижности при обеих температурах: на 7 час роста диаметр колонии достигал $50,0 \pm 0,3$ мм. Гемолитический штамм *M. morganii* 190 проявлял способность к плавательной подвижности только при 30 °C: диаметр колонии на 7 час достигал $45,0 \pm 0,4$ мм. При 37 °C наблюдалось сильное ингибирование подвижности: диаметр колонии не превышал $13,0 \pm 0,3$ мм. Установлено, что скорость передвижения бактерий изменяется в процессе роста. Максимальная скорость миграции колонии *M. morganii* 1 при 30 °C достигала 15 мм/час, а при 37°C 16 мм/час на 4-7 час культивирования. Внесение в среду мочевины ингибирует подвижность обоих шт. *M. morganii*. Интересно отметить, что в присутствии в среде мочевины бактерии обоих штаммов двигаются при 30 °C активнее, чем при 37 °C. Диаметр колоний *M. morganii* 1 и 190 на среде с мочевиной на 7 час при 30 °C составлял $17,0 \pm 0,3$ мм и $14,0 \pm 0,2$ мм соответственно. Таким образом, мочевина ингибирует подвижность штаммов на 66-72%. При температуре 37 °C диаметр колоний обоих штаммов не превышал $4,00 \pm 0,11$ мм, что свидетельствует о полном ингибировании подвижности.

Таким образом, установлено, что штаммы *M. morganii* вариабельны по подвижности так же, как и по гемолитическим свойствам. Подвижность некоторых штаммов *M. morganii* может ингибироваться при 37°C, что описано для таких энтеробактерий как *Yersinia pestis* и *Serratia marcescens*. Мочевина подавляет подвижность бактерий и полностью ее ингибирует при 37 °C, что может быть важно при колонизации мочевых путей и урологических катетеров.

САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ НЕКОТОРЫХ МАЛЫХ РЕК ГОРОДА РЯЗАНИ

Трунякова А. С.¹, Круглова А. П.¹

¹ФГБОУ ВО Рязанский государственный университет имени С. А. Есенина, Рязань, Россия
Sasha_trunyakova@mail.ru

В современных крупных и промышленно развитых городах центра Европейской части России, одним из наиболее актуальных направлений природопользования служит разработка способов сохранения природных систем внутри антропогенной среды. Разработка подобных мероприятий невозможна без соответствующей оценки текущего состояния этих систем.

С целью оценки санитарно-микробиологического состояния водных объектов на территории г. Рязани в июне-июле 2016 года был произведен отбор проб из следующих водотоков: р. Плетенка, р. Павловка, р. Трубеж и р. Лыбедь. Эти реки образуют единую систему и считаются одними из основных каналов стока различных загрязнителей в р. Ока в пределах г. Рязани. Данные водотоки были исследованы по следующим микробиологическим показателям: общее микробное число (ОМЧ) аллохтонных ($t_{\text{инкубации}}=37^\circ\text{C}$) и автохтонных ($t_{\text{инкубации}}=21^\circ\text{C}$) микроорганизмов, индекс МАФАНМ (отношение автохтонной микрофлоры к аллохтонной), а также содержание общих колиформных (ОКБ) и термотолерантных колиформных бактерий (ТКБ) в 100 мл.

По результатам исследования было обнаружено преобладание аллохтонных (37°C) микроорганизмов над автохтонными (21°C) в пробах из р. Трубеж, что говорит о практически полном отсутствии процессов самоочищения (МАФАНМ<1), тогда как в р. Плетенка и р. Лыбедь процессы самоочищения идут хорошо (МАФАНМ>4), а численность автохтонной микрофлоры в разы больше аллохтонной. Что касается численности ОКБ и ТКБ, то ни один из исследуемых водотоков не соответствовал гигиеническим требованиям, согласно которым численность ОКБ должна составлять не более 1000 КОЕ/100 мл, а ТКБ – не более 100 КОЕ/100мл. Минимальная численность ОКБ была выявлена в пробах из р. Плетенка и составляла 1873 КОЕ/100 мл, а максимальная – в р. Лыбедь (12050 КОЕ/100 мл). Численность ТКБ во всех водотоках оказалась на порядок ниже. Самое большое число ТКБ также зарегистрировано в р. Лыбедь (2845 КОЕ/100 мл), тогда как наименьшее – в р. Плетенка (874 КОЕ/100 мл). Такую высокую численность колиформов можно объяснить сбросом ливневых и коммунально-бытовых стоков в р. Лыбедь, из чего следует, что ситуация в водах данной реки является критической. Чего нельзя сказать о Плетенке, по микробиологическому показателю эту реку можно считать достаточно чистой.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Рязанской области в рамках научного проекта № 16-44-620157.

О ВОЗМОЖНОЙ СВЯЗИ ЭКСПОРТА ГЛУТАТИОНА С ИМПОРТОМ α -КЕТОГЛУТАРАТА В РАСТУЩИХ КУЛЬТУРАХ *ESCHERICHIA COLI*

Тюленев А.В.¹, Смирнова Г.В.¹, Октябрьский О.Н.¹

¹ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия
Leksey333@yandex.ru

В процессе аэробного метаболизма бактерии *Escherichia coli* аккумулируют в среде продукты неполного окисления глюкозы, в том числе органические кислоты (сукцинат, малат, α -кетоглутарат и ацетат). При исчерпании глюкозы, как источника углерода и энергии, бактерии способны метаболизировать эти кислоты, используя специализированные транспортные системы. С другой стороны, известно, что многие бактерии, в том числе *E. coli*, экспортируют в среду трипептид глутатион (GSH). Глутатион является мощным антиоксидантом и основным редокс-буфером, участвующим в регуляции метаболизма клеток. К настоящему времени обнаружено, что у *E. coli* в экспорте GSH участвует транспортер CydDC, однако мутанты *cydDC*, с нефункциональным транспортером, все еще аккумулируют внеклеточный глутатион. Это указывает на существование других транспортных систем, участвующих в экспорте GSH. У эукариот выявлена связь между импортом дикарбоновых кислот и экспортом глутатиона через dic-транспортеры, локализованные на митохондриальной мембране. Цель данного исследования заключалась в проверке связи между входом органических кислот и экспортом GSH у бактерий *E. coli*.

Объект исследования: бактерии *E. coli* BW25113(wt) и мутанты JW2571 ($\Delta kgtP$) и JW5189 ($\Delta dauA$). Бактерии выращивали на среде M9 с глюкозой при 37°C в колбах на орбитальном шейкере (150 об/мин). Органические кислоты (сукцинат, малат, α -кетоглутарат и ацетат) вносили в среду в количестве 1 мМ в середине логарифмической фазы роста (ОП₆₀₀=0,4). Количество экстраклеточного глутатиона определяли циклическим методом Титца.

Внесение сукцината, малата или ацетата не приводило к усилению экспорта глутатиона из клеток родительского штамма и обоих мутантов, в то время как добавление α -кетоглутарата вызывало быстрое увеличение уровня наружного GSH в 2 раза по сравнению с контрольным экспериментом. У мутантов, лишенных транспортной системы α -кетоглутарата (*KgtP*), уровень глутатиона оставался неизменным после добавления в среду этой дикарбоновой кислоты. Интересно, что мутация по универсальному транспортеру органических кислот *DauA*, не влияла на экспорт GSH в ответ на добавление α -кетоглутарата.

Ранее нами установлено, что транспортер CydDC не участвует в экспорте глутатиона в экспоненциальной фазе роста. В этих условиях GSH транспортируется из клеток не идентифицированным переносчиком. Полученные результаты указывают на возможную связь между импортом α -кетоглутарата и экспортом глутатиона из клеток *E. coli* с участием транспортера *KgtP* в экспоненциальной фазе роста.

Исследования поддержаны грантами РФФИ № 16-04-00762 и КП УрО РАН № 15-4-4-16.

ОКИСЛЕНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОГО СУЛЬФИТ-ИОНА У БАКТЕРИЙ *ESCHERICHIA COLI*, МУТАНТНЫХ ПО КОМПОНЕНТАМ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ

Ушаков В.Ю.^{1,2}, Смирнова Г.В.², Октябрьский О.Н.²

¹ФГБОУ ВО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия; ²ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия
ushakovvad@yandex.ru

Окислительный стресс является одним из частых нарушений метаболизма бактериальной клетки. Он может развиваться как напрямую, при нарушении работы дыхательной цепи и неполном восстановлении кислорода, так и косвенно, сопровождая другие стрессы (температурный, осмотический, действие антибиотиков и др.). Для нейтрализации активных форм кислорода (АФК) в клетке существует ферментативная защита (пероксидазы, каталазы) и низкомолекулярные соединения (глутатион, токоферолы, убихиноны). Существует предположение, что сульфит ($S_0_3^{2-}$), являющийся промежуточным метаболитом в синтезе L-цистеина и проявляющий хорошие восстановительные свойства, может вносить определенный вклад в защиту бактерий от АФК. Клетки *E. coli*, мутантные по генам антиоксидантной защиты, поддерживают разные уровни внеклеточного сульфита при нормальном росте: минимальная концентрация была обнаружена в среде культивирования бактерий родительского типа (1.06 μ M), максимальные у штаммов, мутантных по каталазе HPI KatG (1.6 μ M), супероксиддисмутазе SodA (2.5 μ M), белку-регулятору SoxS (2.27 μ M) и у двойного мутанта *sodCgshA* (2.4 μ M), лишенного периплазматической супероксиддисмутазы и глутатиона. Для исследования динамики внеклеточного $S_0_3^{2-}$ в условиях окислительного стресса, аэробно растущие клетки

обрабатывали генератором супероксида менадионом (0.1 mM). Наблюдалось достоверное увеличение концентрации S_3^{2-} в первые 15 минут после обработки оксидантом у клеток, мутантных по генам *soxS*, *sodA*, *sodCgshA*, *katG* (каталаза-пероксидаза НРІ). У бактерий родительского типа в тех же условиях уровень сульфит-иона не изменялся. Нами была измерена степень окисления сульфита в первые 15 минут после добавления менадиона в среду культивирования (отношение концентрации S_3^{2-} в контрольном образце к опытному). Степень окисления S_3^{2-} уменьшалась в ряду мутантных штаммов *E. coli*: *katG – sodCgshA – soxS – sodC – sodA – wt*. Работа поддержана грантом РФФИ № 16-04-00762 и программой УрО РАН №15-4-4-16.

ДИАПАЗОН ДЕЙСТВИЯ МИКОЦИНОВ *WICKERHAMOMYCES ANOMALUS* СРЕДИ АСКОМИЦЕТНЫХ ДРОЖЖЕВЫХ ГРИБОВ

Фарофонова В.В.^{1,2}, Томашевская М.А.²

¹ФГБОУ ВО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия; ²ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино, Россия
CrazyTide@yandex.ru

Дрожжи *Wickerhamomyces anomalus* (Hansen) Kurtzman *et al.* привлекают в последние годы пристальное внимание своей антагонистической активностью, благодаря чему их предложено использовать для биотипирования, подавления патогенных и портящих пищевые продукты грибов. К настоящему времени очевидно высокое разнообразие антифунгальных соединений, секретируемых этим видом. Так, согласно внутривидовой и внутривидовой антагонистической активности культуры его распадаются на три группы с подгруппами (Голубев, 2015).

В данной работе на чувствительность к внеклеточным соединениям, образуемым представителями этих групп, нами обследованы аскомицетные дрожжи (главным образом, типовые штаммы и типовые виды) разных семейств, порядков и классов. Установлено, что к их антифунгальным агентам (микоцинам) нечувствительны виды, принадлежащие классам *Schizosaccharomycetes* и *Taphrinomycetes* (подтип *Taphrinomycotina*), а также виды семейств *Dipodascaceae*, *Lipomycetaceae* и *Phaffomycetaceae* класса *Saccharomycetes* (подтип *Saccharomycotina*). Лишь единичные чувствительные виды (как правило, слабо) присутствуют в семействах *Debaryomycetaceae* и *Saccharomycopsidaceae*. Чувствительные виды найдены в восьми семействах *Saccharomycetes*, но относительные их количества в них весьма разнятся. В частности, примерно треть видов чувствительна в семействах *Saccharomycetaceae* и *Saccharomycodaceae*, и около половины видов - в семействах *Metschnikowiaceae*, *Pichiaceae* и *Trichomonascaceae*. Чувствительны к микоцинам *W. anomalus* все обследованные типовые штаммы типовых видов родов *Barnettozyma*, *Cyberlindnera*, *Starmera* и *Wickerhamomyces* (*Wickerhamomycetaceae*).

Наиболее широки спектры действия микоцинов, синтезируемых представителями группы III. Судя по различиям в спектрах действия отдельных микоциногенных штаммов, как выявленные группы, так и подгруппы *W. anomalus* в этом отношении гетерогенны, и возможность экстраполяции сведений, основанных на изучении единичных частично охарактеризованных микоцинах, на продуцируемые другими культурами данного вида, по-видимому, весьма ограничена.

Голубев В.И., 2015. Внутривидовая и внутривидовая антагонистическая активность *Wickerhamomyces anomalus*. Микробиология 84, N 2, 212-215

ИЗУЧЕНИЕ АНТИФУНГАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ПРОБИОТИКА СУБТИЛИС-Ж

Франк Я.В.¹, Колоколова Н.Н.¹

¹ФГАОУ ВО Тюменский государственный университет, Тюмень, Россия
yana.frank94@mail.ru

Защита растений от болезней является актуальной проблемой повышения урожайности сельскохозяйственных культур. Среди методов и средств защиты растений преобладающим остается химический. Несмотря на свою эффективность, химический метод имеет ряд недостатков – нарушение биологического равновесия в природе, накопление остаточных количеств химических средств защиты в сельскохозяйственной продукции и прогрессирующей к ним устойчивости патогенных организмов. Эффективный биопрепарат снижает не только нагрузку химических удобрений в растениеводстве, но и сводит к минимуму загрязнение чрезмерного использования последних.

Объект исследования – пробиотик Субтилис-Ж ветеринарного назначения на основе бактерий *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis*, предоставленный сотрудниками НИИ пробиотиков (г. Москва).

Оценку влияния пробиотика Субтилис-Ж на прорастание семян яровой мягкой пшеницы сорта Иргина в условиях искусственного инфекционного фона проводили с использованием вегетационного метода.

Лабораторный эксперимент включал 4 варианта: контроль – семена, выдержанные в стерильной воде; опыт 1 – семена, выдержанные в суспензии *Fusarium avenaceum* с добавлением пробиотика Субтилис-Ж; опыт 2 – семена, выдержанные в биопрепарате Субтилис-Ж; опыт 3 – семена, выдержанные в суспензии *Fusarium avenaceum*. Время обработки семян – 2 часа. Определение морфометрических параметров проведено на 10-суточных проростках.

Нами был проведен корреляционный анализ изученных параметров средних значений по всем вариантам эксперимента. Наличие сильных прямых связей между морфометрическими параметрами проростков пшеницы может быть обусловлено неблагоприятным воздействием фитопатогенного гриба *Fusarium avenaceum* на корневую систему проростков, влекущее за собой уменьшение длины побегов и снижение биомассы. Обратные корреляционные связи были отмечены, в основном, между такими признаками, как число корней и длина корневой системы, длина корневой системы и сырая масса побега. Это может быть связано с воздействием на корневую систему проростков бактерий рода *Bacillus* в опытных вариантах и отсутствием микроорганизмов в контрольном варианте.

Под влиянием пробиотика Субтилис-Ж отмечалось достоверное повышение лабораторной всхожести семян, по сравнению с контролем, как при его непосредственном воздействии, так и на искусственном инфекционном фоне с фитопатогенным грибом.

Обработка семян пробиотиком Субтилис-Ж в условиях искусственного инфекционного фона привела к повышению адаптивных свойств проростков, способствуя увеличению числа корней, длины корневой системы и побегов, сырой массы побегов.

АНАЛИЗ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ 4-ХЛОР-5-БЕНЗИЛИЗОКСАЗОЛА и 1,1-ДИХЛОРБЕНЗИЛЦИКЛОПРОПАНА.

Хабаева З. Г.¹, Гаппоева В. С.¹, Газзаева Р. А.¹, Гаглоева А. Р.¹, Тотиков А. А.¹

¹ФГБОУ ВО Северо-Осетинский государственный университет им. К. Л. Хетагурова, Владикавказ, Россия
siktir90@mail.ru

На сегодняшний день в качестве перспективного пути преодоления лекарственной устойчивости микроорганизмов рассматривают поиск и создание новых бактерицидных препаратов. Существенную роль в процессах жизнедеятельности растительных и животных организмов играют гетероциклические соединения. Значительный синтетический потенциал гетероциклов, определяющий их разнообразие, обусловлен возможностью замены гетероатомов и направленным введением в их структуру требуемых функциональных групп.

В процессе синтеза гетероциклических соединений нами были получены хлорсодержащее соединение изоксазолового ряда (4-хлор-5-бензилизоксазол) и как промежуточное соединение – циклический углеводород (1,1-дихлорбензилциклопропан). В настоящей работе для определения направленности и степени выраженности их биологических свойств осуществляли оценку возможной бактериостатической активности. В качестве тест-систем использовали *Staphylococcus aureus*. Определение количества микроорганизмов проводили по методу Коха. Суспензии микроорганизмов высевали на мясопептонный агар (МПА) в чашки Петри с последующим подсчетом выросших колоний. Подсчет количество микроорганизмов в 1 мл исходной суспензии оценивали методом серийных разведений через 48 часов после посева. Подсчитывали количество колоний, выросших при высевах из определенного разведения. Для определения антибиотической активности использовали диско – диффузный метод. Бактерицидные свойства синтезированных препаратов оценивали, определяя зону подавления активности, измеряя диаметр. Концентрация используемых в работе препаратов составляла 0,002 %. В качестве растворителя использовали дистиллированную воду.

Полученные нами данные свидетельствуют о наличии у синтезированных соединений бактерицидного эффекта по отношению к условно-патогенным микроорганизмам – *Staphylococcus aureus*. При этом более выраженный эффект наблюдался у препарата 4-хлор-5-бензилизоксазол, в разведении 1:100 и 1:1000. В этих случаях диаметр зоны роста составил от 14 до 26 мм, что соответствует средней степени действия антибиотика. При использовании препарата 1,1-дихлорбензилциклопропан во всех используемых разведениях вещество показало менее выраженный эффект, однако, зона задержки составила от 12-19 мм.

ВЛИЯНИЕ ВИРУСОВ БАКТЕРИЙ НА ДИНАМИКУ РОСТА КЛЕТОК *BACILLUS ALTITUDINIS* В БОГАТОЙ СРЕДЕ

Хазиева Л. Р.¹, Шах Махмуд Р.¹

¹ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
kalipso.94@mail.ru

Бактериофаги – группа вирусов, паразитирующих в бактериальных клетках. Размножение и выход дочерних популяций вируса из бактерии сопровождается гибелью и разрушением этой бактерии (лизисом). Чтобы установить модельный эксперимент действия вируса на динамику роста бактерии, нами были выбраны природные бактериофаги *B. altitudinis* и бактериальные клетки *B. altitudinis*. Таким образом, целью нашей работы было определение влияния вируса *B. altitudinis* на динамику роста клеток бактерии.

В исследовании, для определения влияния бактериофага *B. altitudinis* на рост бактерий были проведены динамики роста вирусзараженных клеток с разными концентрациями бактерий и бактериофагов. Для определения влияния бактериофага на рост бактерии *B. altitudinis*, были использованы данные динамики роста вирусзараженных клеток *B. altitudinis* с концентрациями МЖИ=100, МЖИ=0,01. Установлено, что при заражении клеток в соотношении МЖИ = 0,01 динамика роста имеет не классический характер. Это характеризуется тем, что в динамике нет стационарной фазы роста. Экспоненциальная фаза роста начинается со 2-ого часа, и продолжается до 8-го часа. В отличие от контроля фаза отмирания роста начинается через 8-м часов после стационарной фазы роста.

Так же установлено, что при заражении клеток бактериофагом в соотношении МЖИ = 100 экспоненциальная фаза роста начинается на 2-ом часу и заканчивается на 10-ом часу. У этой кривой роста, как и при МЖИ = 0,01 нет стационарной фазы. Экспоненциальная фаза роста продолжается дольше, чем при МЖИ = 0,01. На 10-ом часе все клетки резко отмирают до нуля.

Таким образом, можно предположить, что при 100 МЖИ вирусы заражают все бактериальные клетки, не давая им возможность мутировать к вирусам. Бактериофаги убивают абсолютно все клетки в конце экспоненциальной фазы роста. При 0.01 МЖИ, когда в культуральной среде титр вируса меньше чем количество бактериальных клеток, незараженные бактерии успевают мутировать и становятся устойчивыми к вирусам, поэтому часть клеток в культуральной среде не умирают в конце фазы отмирания.

Благодарность: Авторы выражают признательность профессору Ильинской Ольге Николаевне, доценту Вершининой Валентине Ивановне, ассистенту Ульяновой Вере Владимировне за всю стороннюю помощь.

ПОИСК АЦИДОТОЛЕРАНТНЫХ ШТАММОВ РОДА *PROPIONIBACTERIUM* ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ АЦИДОЗА РУБЦОВ КОРОВ

Центроев З.М.¹, Рыжманова Я.В.², Автух А.Н.², Щербакова В.А.²

¹ФГБОУ ВО Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия; ²ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино, Россия
zelim.tsentroev@mail.ru

Ацидоз рубца крупного рогатого скота (КРС) является актуальной современной проблемой высокопродуктивного молочного хозяйства. Основными причинами ацидоза являются чрезмерная измельченность и высокая влажность кормов, а также усиленное силосное кормление с повышенным содержанием в кормовом рационе высококрахмалистых концентратов. Все это вызывает изменение состава микрофлоры в рубце и быстрое накопление лактата, приводящее к снижению кислотности содержимого рубца до pH 5.0 и ниже. Эффективные меры борьбы с лактатным ацидозом до настоящего времени не разработаны. Решением проблемы может стать введение в кормовые смеси жвачных животных микроорганизмов, утилизирующих лактат и стабилизирующих кислотность содержимого рубца.

Наиболее перспективным подходом для борьбы с ацидозом коров может стать введение в кормовые смеси бактерий рода *Propionibacterium*. Помимо поддержания нормальных значений pH рубца, пропионовокислые бактерии образуют в качестве конечного продукта витамины группы В, бифидогенные факторы, полипептиды, обладающие антимикробными и антимутагенными свойствами, а также пропионат и ацетат, необходимые для нормальной лактации коров. В ВКМ бактерии рода *Propionibacterium* представлены, в основном, штаммами, использующимися в производстве сыров, с оптимальным ростом при pH 7.0 и температуре 28-30°C. Цель настоящего исследования состояла в поиске штаммов, имеющих высокую скорость роста при значениях pH 5.5-6.0 и температуре 37-40°C, что соответствует условиям рубца КРС при ацидозе.

С помощью ВЭЖХ было оценено потребление лактата штаммами ВКМ Ас-2093 и ВКМ Ас-2094 *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii*. Исследования показали, что штамм ВКМ Ас-2093 через 54 часа культивирования при температуре 37°C и начальном содержании лактата в ростовой среде 15 г/л

полностью утилизировал лактат в диапазоне pH 5.5-7.0. В тех же условиях штамм ВКМ Ас-2094 утилизировал от 11 до 56% лактата, в то время как при оптимальных условиях (30°C и pH 6.5-7.0) также наблюдалась полная утилизация субстрата.

Таким образом, был выбран перспективный штамм *P. freudenreichii* subsp. *shermanii* Ас-2093, эффективно утилизирующий лактат в условиях, соответствующий условиям рубца (37°C, pH 5.5-6.5). В дальнейшем данный штамм может быть использован для профилактики и лечения ацидоза коров.

СКРИНИНГ МИКРООРГАНИЗМОВ – ПРОДУЦЕНТОВ РОСТОСТИМУЛИРУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ

Чайковский В. А.¹

¹ФГБУН Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма, Симферополь, Россия
v_l_a_d_91@mail.ru

Многие микроорганизмы, ассоциированные с растениями, способны синтезировать вещества фитогормональной природы, необходимые им как для собственного развития, так и для установления связей с растениями и другими почвенными микроорганизмами. Образование гормонов – одно из важных свойств ризоферных, эпифитных и симбиотических бактерий, стимулирующих рост растений. В настоящее время одним из перспективных и востребованных направлений в сельскохозяйственной микробиологии является поиск и скрининг штаммов бактерий, обладающих фитостимулирующими свойствами. Такие бактерии можно использовать для индукции морфогенеза растений в культуре *in vitro*.

Целью настоящих исследований являлся поиск и скрининг штаммов микроорганизмов–продуцентов ростостимулирующих веществ для биотехнологии.

В задачи исследований входило: установление ауксиновой, гиббереллиновой и цитокининовой активности культуральной жидкости штаммов бактерий *Enterobacter nimipressuralis* 32-3, *Bacillus amyloliquefaciens* 01-1, *Rhizobium radiobacter* 204 в пяти разведениях методами биотестов; определение количественного и качественного состава фитогормонов в КЖ, синтезируемых штаммами изучаемых бактерий методом иммуноферментного анализа.

Установлено, что наибольшей ауксиновой активностью обладает штамм *Enterobacter nimipressuralis* 32-3; а наибольшей гиббереллиновой активностью – штамм *Rhizobium radiobacter* 204. Выявлено, что ауксиновая активность культуральной жидкости изучаемых штаммов сохраняется в разведениях 1:200–1:2000; гиббереллиновая активность – в разведениях 1:200–1:1000; цитокининовая активность – в разведениях 1:200–1:1000. Методом иммуноферментного анализа установлен достаточно высокий уровень содержания ауксинов до 51,7 нг/мл КЖ и цитокининов до 10,4 нг/мл КЖ. Изученные штаммы микроорганизмов будут использованы в дальнейших исследованиях для индукции морфогенеза мяты в культуре *in vitro*.

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ПОЛОЖЕНИЕ И ФИТОСИМБИОТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НОВЫХ ИЗОЛЯТОВ АЭРОБНЫХ МЕТИЛОТРОФОВ ЮЖНОГО ПОБЕРЕЖЬЯ КРЫМА

Чемодурова А.А.¹, Капаруллина Е.Н.²

¹ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия; ²ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им Г.К. Скрыбина РАН, Пущино, Россия
Chemodurova.Alina@mail.ru

Аэробные метилотрофные бактерии (метилотрофы) используют в качестве источников углерода и энергии различные C₁-соединения (метанол, метиламин, формальдегид, формиат и др.) и выполняют функцию природного биофильтра на пути эмиссии этих соединений в атмосферу. Восстановленные одноуглеродные соединения являются естественными продуктами метаболизма растений, поэтому неудивительно, что метилотрофы постоянно обнаруживаются в их ризосфере, филлосфере и являются фитосимбионтами, поскольку положительно влияют на рост и развитие растений. Аэробные метилотрофные бактерии южного побережья Крыма, характеризующегося субтропическим средиземноморским климатом, практически не исследованы.

Цель работы – определение филогенетического положения и фитосимбиотическая характеристика трех новых метилотрофных изолятов, ассоциированных с растениями южного побережья Крыма.

Из филлосферы растений южного побережья Крыма выделены облигатный метилотрофный штамм 5х (щитовник Виллара - *Dryopteris villarii* L.), ограниченно-факультативный метилотроф Padub (Падуб остролистный - *Ilex aquifolium* L.) и факультативный метилотроф 6х-1 (дуб травolistный, хлебное дерево -

Artocarpus altilis L.). Штаммы Padub и 6х-1 реализуют сериновый путь, тогда как штамм 5х – рибулозомонофосфатный путь C₁-метаболизма. На основании секвенирования генов 16S рРНК штамм 5х имеет 98% сходства с представителями рода *Methylophilus* (*M. methylotrophus* VKM B-1623^T и *M. luteus* VKM B-2548^T), штамм Padub наиболее близок с представителем рода *Methylopila oligotropha* VKM B-2788^T (98,83%), тогда как штамм 6х-1 с родом *Hyphomicrobium* (97,8% с *H. sulfonivorans* ATCC BAA-113^T). Обнаружена способность всех изолятов синтезировать фитогормоны – ауксины (9-15 мкг/мл). Кроме того, новые штаммы метилотрофов солибилизируют нерастворимый Ca₃(PO₄)₂. В опытах по инокуляции клетками новых штаммов стерильных семян салата (*Lactuca sativa* L.) выявлено, что к 10 суткам высота проростков и длина корней колонизованных метилотрофами (опытных) растений превышали показатели контрольных (стерильных).

Таким образом, новые выделенные метилотрофы из филлосферы растений южного побережья Крыма являются фитосимбионтами. Секвенирование генов 16S рРНК позволяет предположить, что эти штаммы метилотрофов являются представителями новых видов родов *Methylophilus*, *Methylopila* и *Hyphomicrobium* и будут являться объектами дальнейших исследований.

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

АНАЛИЗ РАСПРОСТРАНЕНИЯ И СТАБИЛЬНОСТИ ГЕНОМНОГО ОСТРОВА Sme19T У ПРИРОДНЫХ ШТАММОВ *SINORHIZOBIUM MELILOTI*

Черкасова М. Е.¹, Мунтян В. С.¹, Румянцева М. Л.¹

¹ ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии
Россельхозакадемии, Санкт-Петербург, Россия
mariiacherkasova@mail.ru

Хромосомный остров Sme19T, один из трех присутствующих в геноме штамма *Sinorhizobium meliloti* Rm1021, содержит значительное число IS-элементов, а также блок *hsdRSM*-генов, детерминирующих систему рестрикции-модификации I типа CPM-1). Система CPM-1 влияет на процесс переноса чужеродной ДНК, распознавая и модифицируя специфичные нуклеотидные последовательности. Это обеспечивает защиту "хозяйской" ДНК от проникновения "чужеродной" ДНК (фаги, плазмиды). Группа *hsdRSM*-генов в составе острова Sme19T ограничена транспозазами и интегразой, что дает возможность рассматривать её как потенциально мобильный элемент.

Проведен анализ распространения острова Sme19T и наследования *hsd*-генов у 184 природных изолятов *S. meliloti*, выделенных в двух географически удаленных центрах разнообразия люцерны (ПАГ – Приаральский и СКГ – Северо-Кавказский генцентр). Анализ проводили методом ПЦР с использованием специфичных пар праймеров.

Остров Sme19T обнаружен в геномах у 41% природных штаммов из СКГ, и у 33% штаммов из ПАГ. Штаммы, содержавшие остров, имели преимущественно один из трех *hsd* генов. Ген *hsdR* в составе острова выявлен у штаммов из СКГ с частотой 0,56, а у штаммов из ПАГ – в два раза реже (0,25). Кроме того, только в ПАГ выявлены изоляты, имевшие два гена – *hsdRS* (0,08%). Доли штаммов ПАГ и СКГ, содержавшие остров, но не имевшие *hsd* генов встречались в ПАГ в 1,3 раза чаще, чем в СКГ. Штаммы, без острова Sme19T, также были проанализированы на наличие *hsd* генов. Ген *hsdR*, вне острова, был выявлен у изолятов обеих популяций со сходной частотой в (0,35). Так же в группе штаммов, не имевших острова, установлено наличие двух из трех *hsd* генов в геноме. Сочетание генов *hsdSM* встречалось у штаммов из СКГ с частотой 0,77, а генов *hsdRS* – у штаммов из ПАГ с частотой 0,42. Штамм, имевший все три гена *hsdRSM*, обнаружен только в последней популяции.

Сделан вывод, что в природных популяциях клубеньковых бактерий происходят активные внутригеномные перестройки, приводящие как к утрате протяженных последовательностей, так и к транслокации генов из состава геномных островов в структуру хромосомы. Около трети штаммов, не имевших острова Sme19T, содержали ген *hsdR*, продукт которого обладает эндонуклеазной активностью, и утрачивали гены *hsdSM*, отвечающие за защиту сайтов рестрикции собственной ДНК. Наличие в хромосоме различных комбинаций генов *hsd* указывает на то, что гены могут участвовать в рекомбинационных событиях независимо друг от друга.

Работа поддержана грантами РФФИ 15-04-09295a.

АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЛАКТОБАЦИЛЛ В ОТНОШЕНИИ *C.DIFFICILE*, ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ КИШЕЧНОГО БИОТОПА

Чистякова Д.А.¹, Сухина М.А.², Блинкова Л.П.³

¹ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова
Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия; ²ФГБУ Государственный научный центр колопроктологии
имени А.Н. Рыжих Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия; ³ФГБНУ Научно-исследовательский
институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия
mushka1994@list.ru

В настоящее время *C.difficile*-ассоциированная инфекция является актуальной проблемой в медицине, которой уделяется пристальное внимание ученых и профильных врачей. Известно, что бактерии рода *Lactobacillus*, продуцируя бактериоцины обладают антагонистической активностью по отношению к большому числу микроорганизмов. Поэтому скрининг новых штаммов лактобацилл является перспективным направлением для создания эффективных антибактериальных препаратов в отношении *C.difficile*(CD).

Целью исследования явилось изучение и оценка степени выраженности антагонистического влияния лактобактерий на рост *C.difficile*.

Материалы и методы исследования. Работа проведена на базе ФГБУ «ГНЦК им. А.Н. Рыжих» с использованием культур, выделенных из клинического материала пациентов. В качестве материала для исследования были использованы штаммы лактобактерий из кишечного биотопа(6). *Lactobacillus plantarum* 38,("лактобактерин сухой" ФГУ "НПО "Микроген" г. Нижний Новгород); И штаммы CD (16 шт) изолированные от пациентов с CDI. Штаммы идентифицированы до вида. Для поиска штаммов, синтезирующих бактериоцины, применяли авторскую методику двухэтапного культивирования микроорганизма-антагониста и тестируемой культуры в условиях комбинированной системы (Сухина М.А.,2012). Результат оценивали по зоне задержки роста стафилококка: от 25мм до ≥ 40 мм-высокая; 25мм-15мм - средняя; 5-15мм - низкая антагонистическая активность; и ≤ 5 мм антагонизм отсутствует.

Результаты исследования. При исследовании антагонистической активности лактобактерий по отношению к представителям собственной кишечной микрофлоры, были выделены культуры с высокой (14,6%), средней (17,7%) и отсутствием (55,2%) антагонистической активностью. Антагонистически неактивные лактобактерии были не способны подавлять рост CD, в отличие от высокоактивных штаммов. Способность лактобактерий подавлять рост CD была высокой только у *Lactobacillus plantarum* 38 лактобактерии изолированные из кишечника в 43,8% не обладали антагонизмом по отношению к CD. Так же как и контрольный штамм LP-K 4 штамма (66,7%) лактобацилл демонстрировали высокую антагонистическую активность в отношении *C.difficile* 1211a, и лишь 1 штамм(16,7%) - низкую антагонистическую активность.

Выводы. На современном этапе создание новых антибактериальных препаратов не приводит к продолжительным успехам в борьбе с CD. В связи с этим, представляется актуальным использование способности лактобактерий к антагонизму.

МОДЕЛИРОВАНИЕ СИСТЕМЫ ВИДОВОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ БАКТЕРИЙ РОДА *PECTOBACTERIUM* МЕТОДОМ ПЦР

Шавель М.И., Песнякевич А.Г.

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь
marimianka@list.ru

Процесс глобального потепления набирает обороты и все больше воздействует на флору и фауну нашей планеты, оказывает сильное влияние на сельское хозяйство. Сдвиг температурной нормы, увеличение влажности воздуха и количества выпадающих осадков создают благоприятные условия для развития бактериального поражения картофеля - важной сельскохозяйственной культуры, выращиваемой в Беларуси и за рубежом. Наиболее распространенными бактериальными заболеваниями картофеля являются черная ножка и мягкая гниль, вызываемые двумя видами рода *Pectobacterium*.

Сегодня очевидно, что только визуальной оценки повреждений недостаточно для определения причины заболевания. Видовая идентификация путем определения физиолого-биохимических и морфологических свойств является достаточно длительным и, как показывает практика, недостаточно эффективным процессом. Поэтому наше исследование имеет цель создать пары видоспецифических праймеров, а также подобрать условия для их успешной работы в одной реакционной смеси.

В ходе исследования использовалась база данных GenBank. При анализе и сравнении последовательностей (программа Mousse) найдены несколько локусов, которыми *Pectobacterium*

carotovorum (*Pca*) и *Pectobacterium atrosepticum* (*Pat*) отличаются друг от друга. С помощью программы Primer-BLAST смоделированы несколько пар олигонуклеотидов. После проведения виртуальных процессов ПЦР и изучения результатов, отобраны те праймеры, которые не давали продукта с матрицами других видов микроорганизмов. Полученные элементы системы видовой идентификации апробированы на коллекционных штаммах *Pat* SCRI1043 и *Pca* j289 и на штаммах, выделенных сотрудниками БГУ и хорошо охарактеризованных на молекулярной основе *Pca* (3-2, 14a, 2a) и *Pat* (21a, 36a), также были подобраны температурные характеристики этапов процесса. Однако пока не определена общая температура отжига, при которой обе пары праймеров работали бы одинаково эффективно в одной смеси.

Из пораженных образцов, собранных нами и сотрудниками РУП «Институт защиты растений» (Прилуки), в разных регионах территории Беларуси за период с 2008 г. по 2012 г. на более ранних этапах исследования нами были выделены штаммы (26) микроорганизмов. В зависимости от их физиолого-биохимических свойств и проявления свойств патогенности, они были разделены на две группы и идентифицированы как *Pat* (11) и *Pca* (15). Сейчас при использовании данных штаммов и штаммов, выделенных позднее, ведется работа по определению эффективности использования разработанных праймеров и системы в целом для видовой идентификации грамотрицательных пектолитических фитопатогенных бактерий.

ИЗУЧЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ АСКОРБАТА ХИТОЗАНА МЕТОДОМ ПРОСВЕЧИВАЮЩЕЙ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ

Швайко В.Ю.¹, Альзубейди А.Ф.А.¹, Каунова Д.Д.¹, Ксенофонтова О.Ю.¹, Зудина И.В.¹

¹ФГБОУ ВПО Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия; ФГБУН Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Центр коллективного пользования "Симбиоз", Саратов, Россия
nutyizhuk@gmail.com

В последние десятилетия наблюдается снижение эффективности традиционной терапии ряда инфекционных заболеваний, обусловленное ростом числа антибиотикоустойчивых штаммов. Это делает актуальным разработку принципиально новых лекарственных средств, обладающих не только биоцидной активностью, но и способностью к иммуномодуляции и стимуляции процессов саногенеза. В связи с этим особый интерес представляют препараты на основе аскорбата хитозана - соли аминополисахарида хитозана (ХТЗ, 2-амино-2-дезоксид-β-D-глюкан) и аскорбиновой кислоты (АК). Экспериментально доказано, что применение аскорбата ХТЗ при лечении инфицированных ран и воспалительных заболеваний пародонта позволяет в короткие сроки подавить размножение патогенных бактерий, купировать воспаление и стимулировать репаративно-регенеративные процессы.

В настоящей работе было проведено изучение антибактериальной активности водного раствора аскорбата ХТЗ, полученного путем порционного смешения твердой навески ХТЗ (средневязкозная молекулярная масса 32 кДа, степень деацетилирования 70 мольн.%) с 9% водным раствором АК в количестве, обеспечивающем мольное соотношение ХТЗ:АК = 1:0,6. Тестовые культуры *E.coli* 113–13 и *S.aureus* 209Р выращивали в МПБ в присутствии и в отсутствие аскорбата ХТЗ при 37°C в течение 4 часов. После этого бактериальные клетки осаждали центрифугированием и изучали их морфологию на просвечивающем электронном микроскопе Libra 120 (Carl Zeiss, Германия). Ультратонкие срезы готовили на ультрамикротоме ULTRACUT UCT (Reichert, Австрия).

Установлено, что клетки *E.coli* 113–13 и *S.aureus* 209Р, выращенные в МПБ, имели характерные для своего вида размеры и типичную ультраструктуру.

При инкубации *S.aureus* 209Р в МПБ с аскорбатом ХТЗ отмечалось существенное уменьшение средних размеров клеток по сравнению с контролем. У большинства бактерий зона нуклеоида не визуализировалась, содержимое цитоплазмы приобретало глыбчатую структуру с участками неоднородной электронно-оптической плотности. В клеточной стенке выявлялись многочисленные поры, диаметр которых варьировался от 25 до 170 нм.

При культивировании *E.coli* 113–13 в присутствии аскорбата ХТЗ контуры клеточной стенки бактерий были размыты, наружная мембрана отходила от протопласта, зона нуклеоида не просматривалась. Диаметр пор варьировался от 150 до 350 нм.

Таким образом, было установлено, что ингибирование роста бульонных культур *E.coli* 113–13 и *S.aureus* 209Р в присутствии аскорбата ХТЗ происходит за счет его деструктивного воздействия на структуры клеточной стенки.

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ПРОДУКТОВ ФЕРМЕНТАЦИИ ЦЕЛЛЮЛОЗОСОДЕРЖАЩЕГО СЫРЬЯ ДРОЖЖЕ-БАКТЕРИАЛЬНЫМИ АССОЦИАЦИЯМИ

Шокатаева Д.Х.¹, Жабакоева А.Б.¹, Каналбек Г.К.¹, Кули Ж.Т.¹

¹КазНУ им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан
abzhv@mail.ru

Развитие новых способов биоконверсии целлюлозосодержащего сырья в полноценные корма и продукты питания обогащенные белком даёт возможность создания инновационного подхода утилизации растительных отходов агропромышленности. Полученная на отходах дрожжевая биомасса обогащает ферментируемый субстрат незаменимыми аминокислотами, витаминами, органическими кислотами и другими биологическими веществами. Кроме того, дрожжи при попадании в кишечник стимулируют рост собственной микрофлоры организма и выводят патогенные бактерии. Таким образом, целью исследования является создание способа технологической реализации повышения питательной ценности кормов путем ферментации твердых целлюлозосодержащих субстратов дрожже-бактериальными ассоциациями.

В работе использовали штаммы-суперпродуценты белка КБ4 и ПЖ2; 13 штаммов лактобацилл из коллекции кафедры биотехнологии; 10 штаммов тест-организмов, используемых для определения антагонистической активности лактобацилл; негидролизированные растительные субстраты – подсолнечный шрот, отруби, зерновая солома, свеклосахарный жом. Культивирование дрожжей проводили в жидких и на твердых питательных средах. Влажность, кислотность, аминокислотный состав исследуемого материала определяли согласно ГОСТ. Антагонистическую активность лактобактерий определяли методом «лунок». Биосовместимость лактобактерий и дрожжей изучали классическими микробиологическими методами.

В результате испытаны различные растительные субстраты (солома, подсолнечный шрот и свекловичный жом и отруби) в качестве компонента питательных сред для твердофазной ферментации. После определения биомассы и белка в ферментированном дрожжами в твердом субстрате, установлено, что наиболее перспективным является – пшеничные отруби. Сконструированы ассоциации дрожжей и лактобактерий для совместного культивирования на твердых питательных субстратах: №1 – *Lactobacillus acidophilus* AA-1+ *Lactobacillus plantarum* AP-1+ *Pichia guilliermondii* КБ-4; №2 – *Lactobacillus acidophilus* AA-1+ *Lactobacillus plantarum* AP-1+ *Debaryomyces hansenii* ПЖ2; №3 – *Lactobacillus acidophilus* AA-1+ *Lactobacillus plantarum* AP-1+ *Pichia guilliermondii* КБ-4 + *Debaryomyces hansenii* ПЖ2. Разработан способ единовременного аэробно-анаэробного культивирования дрожже-бактериальных ассоциаций. Проведена оценка химической и биологической ценности полученных продуктов кормового назначения. Установлено, что дрожже-бактериальный продукт по содержанию сырого протеина превосходит пшеничные отруби на 60,7% и содержания аминокислоты, в том числе и незаменимых, увеличивается на 18-52%.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДЕСТРУКЦИИ ОРГАНОФОСФОНАТОВ У ПОЧВЕННЫХ БАКТЕРИЙ

Эпиктетов Д. О.¹, Свиридов А. В.¹, Леонтьевский А. А.¹

¹ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино, Россия
hunter_dimok@mail.ru

Гербицид глифосат (ГФ) - наиболее распространенный представитель класса фосфорорганических соединений, обладающий прочной связью углерод-фосфор (С-Р). Дегградация ГФ в природных средах обусловлена действием ферментных систем ряда микроорганизмов-деструкторов фосфонатов. Единственным ферментом, способным расщеплять С-Р связь ГФ и его интермедиатов, таких как АМФК и АцГФ, долгое время считалась С-Р лиаза. Однако в последнее время обсуждается вопрос о возможном участии фермента фосфонатазы в гидролизе продуктов дегградации ГФ у некоторых почвенных бактерий.

Целью настоящей работы стало изучение деструкции ГФ у почвенных бактерий родов *Achromobacter*, *Ochrobactrum* и *Bacillus* и оценка роли фосфонатазы в этом процессе.

Для этого проводился скрининг бактерий-деструкторов ГФ, полученных как из лабораторной коллекции, так и из ВКМ. Из 14 штаммов, способных к росту на данном гербициде, лишь 7 могли использовать его как единственный источник фосфора. При росте на минимальной среде с ГФ указанные штаммы достигали максимальной биомассы (М) 0,55-2,1 г/л. Удельная скорость роста (μ) составляла 0,01-0,13 ч⁻¹; при этом удельная деструкция ГФ (Q) составляла 46-148 мг ГФ/г биомассы. Наиболее эффективно утилизировал ГФ штамм *Achromobacter* sp. Кg19 с М=0,8 г/л, Q=148 мг/г, μ =0,08 ч⁻¹. ВЭЖХ-анализ культуральных сред

изученных штаммов показал, что деструкция ГФ не сопровождается накоплением потенциально токсичных интермедиатов (АМФК); в ряде случаев у *Achromobacter* sp. Kgl6 в среде накапливался физиологически нейтральный АцГФ.

Активность фосфонатазы при росте на средах с ГФ была обнаружена в бесклеточных экстрактах всех исследованных штаммов. Учитывая, что единственным фактором индукции фосфонатазы является недостаток ортофосфата в среде, были проведены эксперименты по оценке удельной активности данного фермента в клетках, культивировавшихся в среде без источника фосфора; в среде с ортофосфатом как источником фосфора; в среде с ГФ. Для всех исследованных штаммов, кроме *Achromobacter* sp. Kgl3 и Kgl6, наибольшая активность фермента наблюдалась при росте на средах с ГФ. Для *B. subtilis* B-912 удельная активность фосфонатазы в голодающей по фосфору культуре ($8,1 \cdot 10^{-3}$ ФЕ/мг белка) была сравнима с активностью в клетках, выращенных на ГФ ($9,3 \cdot 10^{-3}$ ФЕ/мг белка). Однако у штаммов *Achromobacter* sp. Km11, *Ochrobactrum* sp. OK2 и *B. subtilis* B-720 активность фермента в клетках, выращенных на ГФ, превышала таковую в клетках, голодавших по фосфору более чем в 2 раза. Таким образом, можно говорить о зависимости индукции фосфонатазы от присутствия в среде глифосата.

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АССОЦИАТИВНЫХ БАКТЕРИЙ С РАСТЕНИЯМИ РИСА

Якубовская А.И.¹

¹ФГБУН Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма, Симферополь, Россия

yakubovskaya_alla@mail.ru

Плодородие почвы определяет сложный комплекс природных и антропогенных факторов, среди которых важнейшим является жизнедеятельность микроорганизмов. Ассоциативные микроорганизмы обеспечивают растения элементами минерального питания, синтезируют биологически активные вещества, стимулируют рост растений, повышают адаптивный потенциал к стресс-факторам. Для повышения биологического потенциала растения важным является выделение штаммов бактерий, способных формировать с ним эффективные ассоциации.

Целью наших исследований являлось выделение штаммов бактерий, способных колонизировать корни риса и формировать эффективно функционирующие ассоциации с растениями.

В условно-стерильном опыте из апикальной части корней (по принципу элективности), были выделены ассоциативные с растениями риса бактерии родов *Agrobacterium*, *Phyllobacterium*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Bacillus*. Из выделенных нами штаммов 92,3% активно набирали биомассу на глюкозо-аспаргиновой среде, однако зон растворения фосфатов нами не обнаружено. 53,5% способны расти в условиях дефицита азота, их азотфиксирующая активность составляла 22,1-549,7 C_2H_4 нМоль/мл/час.

Штаммы бактерии рода *Bacillus* проявили антифунгальную активность к фитопатогенным микромицетам рода *Fusarium*, что делает их перспективными для биологического контроля фитопатогенов в агроценозах.

Выявлена способность штаммов, ассоциативных с растениями риса, продуцировать фитогормоны ауксиновой природы, в частности индол-3-уксусную кислоту. Стимулирующий эффект штаммов проявляется в повышении всхожести семян на 15,4% - 30,8%. Восемь штаммов стимулировали рост корней пшеницы, а 4 из них положительно влияли на развитие проростков тест-культуры.

Установлено, что штаммы бактерий родов *Agrobacterium*, *Phyllobacterium*, *Flavobacterium* положительно влияли на развитие растений риса и повышали содержание хлорофиллов в листьях.

Таким образом, эпифитная микробиота риса является объектом для выделения бактерий с полезными для растений свойствами. Установлено, что бактерии родов *Agrobacterium*, *Phyllobacterium*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Bacillus* выделенные по принципу ассоциативности, имеют комплекс полезных свойств для роста и развития растений, что позволяет формировать устойчивую эффективную растительно-микробную систему.

СЕКЦИЯ «БИОФИЗИКА И БИОИНФОРМАТИКА»

СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ И МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ КРОВИ ПРИ УМЕРЕННОЙ ГИПОТЕРМИИ КРЫС

Абдуллаев В.Р., Гаджимамаева А.А.

ФГБОУ ВО Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

vagab@mail.ru

В настоящее время умеренная искусственная гипотермия находит широкое применение в медицине с целью снижения обменных процессов, приводящих к повышению устойчивости организма ко многим неблагоприятным факторам. Различные физиологические и биохимические показатели крови наглядно отражают состояние функционирования всего организма. Изучение спектров флуоресценции белков плазмы и мембран эритроцитов крови крыс при умеренной гипотермии может быть одним из адекватных методов выяснения возможных конформационных изменений белков. Анализ спектральных характеристик флуоресценции показал, что умеренная гипотермия 30°C не влияет на интенсивность суммарной ($\lambda_{\text{взб.}} = 280\text{nm}$) и триптофановой ($\lambda_{\text{взб.}} = 295\text{nm}$) флуоресценции белков плазмы крови крыс, в то же время, при гипотермии, интенсивность флуоресценции мембран эритроцитов существенно повышается. При действии умеренной гипотермии 30°C, во вторых производных спектров триптофановой флуоресценции, формируется отрицательный пик на длине волны 350nm, что указывает на увеличение доступности части триптофановых остатков водному окружению в результате нарушения нативной структуры белков плазмы и мембран эритроцитов крови.

Работа выполнена при финансовой поддержке госсзадания №6.61.14.2017/ИТР.

СВЯЗЫВАНИЕ НЕКОНКУРЕНТНОГО ИНГИБИТОРА ТИМИДИНФОСФОРИЛАЗ С НУКЛЕОЗИД-СВЯЗЫВАЮЩИМИ САЙТАМИ ТИМИДИНФОСФОРИЛАЗЫ ИЗ SALMONELLA TYPHIMURIUM ПО РЕЗУЛЬТАТАМ КОМПЬЮТЕРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

Балаев В.В.

ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН, Москва, Россия

vlad_balaev@mail.ru

Пиримидинфосфоорилазы – ферменты, катализирующие реакцию фосфорилиза пиримидинового нуклеозида до соответствующего азотистого основания и фураноза-1-фосфата. Эти ферменты широко используются в качестве биокатализаторов для синтеза многочисленных нуклеозидов для фармацевтической и биотехнологической промышленности (Utagawa, 1999). Понимание механизмов их функционирования необходимо для рационализации их использования. Особенно интересным аспектом для изучения является возможность неконкурентного ингибирования этих ферментов. С целью определения аффинности известного неконкурентного ингибитора тимидинфосфоорилаз KIN59 (5'-О-триптилинозин) к сайтам связывания *SrTP* проведен молекулярный докинг этого лиганда в активный центр (НСС) *SrTP* и в два дополнительных нуклеозид-связывающих сайта (дНСС), обнаруженных при проведенном авторами структурном анализе тимидинфосфоорилазы из *Salmonella typhimurium* (*SrTP*; PDB ID 4YEK, 4YYY, 5EY3) [1, 2]. Значение оценочной функции по данным программы Glide (Schrodinger Suite) для связывания KIN59 в НСС составляет -7.71 ккал/моль, в дНСС1 -5.30 ккал/моль, а в дНСС2 -8.36 ккал/моль. Методом термодинамического интегрирования рассчитаны значения свободной энергии связывания (ΔG_{bind}) KIN59 в НСС и в дНСС2. ΔG_{bind} для KIN59 в дНСС2 оказалась выше, чем для положения в НСС: -6.0 ккал/моль по сравнению с -4.3 ккал/моль. Зависимость потенциала средней силы от расстояния между центрами масс *SrTP* и KIN59 также значительно различались при расчете ΔG_{bind} KIN59 в НСС и в дНСС2. Обнаружено, что прохождение ингибитора KIN59 внутрь кармана между доменами *SrTP* ограничено потенциальной ямой. ΔG_{bind} для связывания KIN59 в ней составляло -6.2 ккал/моль. Таким образом, KIN59 с большей вероятностью связывается с дНСС2.

Работа выполнена за счет базового бюджетного финансирования ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН и при финансовой поддержке гранта президента РФ № МК.9246.2013.3.

Список литературы

1. Balaev, V. V. Structural investigation of the thymidine phosphorylase from *Salmonella typhimurium* in the unliganded state and its complexes with thymidine and uridine // Acta Crystallogr F Struct Biol Commun. □ 2016. □ 72 (3). □ 224-233.

2. Балаев, В. В. Субстратная специфичность пириимидинфосфорилаз семейства NP-II по результатам рентгеноструктурного анализа и молекулярного моделирования // Кристаллография. □ 2016. □ 61 (5). □ 797-808.
- 3.

ЭВОЛЮЦИЯ ГЕНОМОВ BURKHOLDERIA SPP

Бочкарева О.О., Лопатина Е.В.

ФГБУН Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН, Москва, Россия
olga.bochkaryova@gmail.com

Burkholderia – это род грамотрицательных, аэробных бактерий, геномы которых содержат две или три кольцевые хромосомы. В работе были проанализированы полные геномы 129 штаммов *Burkholderia* spp, в том числе патогенных для человека и животных видов *B. mallei*, *B. pseudomallei* и *B. cepacia*. Для молодых патогенов, таких как *B. mallei*, характерно увеличение в геномах численности и разнообразия мобильных элементов по сравнению с предковым видом, что приводит к высокой частоте внутригеномной рекомбинации и, как следствие, большому количеству геномных перестроек. Была выполнена реконструкция истории геномных перестроек, таких как инверсии, транслокации, вставки и делеции, на основе полногеномных выравниваний для близких штаммов и на основе порядка расположения общих генов для восстановления эволюции всего рода. Сопоставление полученных результатов с традиционным филогенетическим анализом позволило различить параллельные инверсии на различных ветках эволюционного дерева по «горячим точкам» и горизонтальные переносы, содержащие инвертированные последовательности. Среди представителей одного вида частоты инверсий коррелируют с частотами замен в последовательностях генов, в то время как корреляция между этими величинами для представителей разных видов отсутствует. Инверсии, расположенные внутри реплихоры, закрепляются значительно реже и имеют меньшую длину, чем инверсии с концами на разных реплихорах. Это наблюдение объясняется отрицательным отбором на первый тип инверсий, поскольку они меняют положение генов относительно лидирующей/запаздывающей цепи. Анализ генов, транслоцированных между хромосомами в ходе эволюции, показал, что в подавляющем большинстве случаев гены переносятся на ту же цепь относительно ориджина репликации. Более того, гены, которые расположены в предковом состоянии на лидирующей цепи, сохраняют свою позицию чаще, чем гены, транслоцирующиеся с запаздывающей. Работа поддержана грантом РФФИ 16-54-21004.

МОДИФИКАЦИЯ ЛИПИДНОГО БИСЛОЯ МЕМБРАН ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ДЕЙСТВИИ АМИЛОИДНЫХ ФИБРИЛЛ ИЗ ЛИЗОЦИМА

Венская Е.И., Скоробогатова А.С.

ГНУ Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь
elv0719@gmail.com

При ряде заболеваний (болезнь Альцгеймера, кардиомиопатии, почечная недостаточность и др.) происходит образование и накопление в органах аномально свернутых белков – амилоидов. Такие заболевания называют амилоидозами. Например, амилоидоз печени, почек, селезенки может быть вызван отложением амилоидных фибрилл из лизоцима. В то же время фибриллы, полученные из лизоцима, подходят для исследований *in vitro*. Выяснение механизмов взаимодействия амилоидных фибрилл из лизоцима с клетками крови может помочь определить механизм повреждающего действия амилоидов на клетки в целом. В данной работе мы оценивали влияние амилоидных фибрилл из лизоцима на состояние липидного бислоя мембран лимфоцитов человека. В работе использовали лимфоциты, полученные из периферической крови доноров, в градиенте плотности гистопака. Амилоидные фибриллы получали из лизоцима куриного яйца. Контроль за процессом образования амилоидов проводили флуоресцентным методом с использованием зонда тиюфлавина Т. Оценку состояния липидного бислоя мембран лимфоцитов осуществляли по параметрам флуоресценции липофильных зондов –1-(4-триметиламмоний-фенил)-6-фенил-1,3,5-гексатриена (ТМА-ДФГ), 2-диметиламино-6-лауроилнафталина (лаурдана) и пирена. Процесс перекисного окисления липидов мембран клеток изучали спектрофотометрическим методом по определению продуктов окисления ТБК. Было обнаружено, что амилоидные фибриллы из лизоцима при воздействии на лимфоциты человека, вызывают увеличение жесткости наружного липидного слоя мембран клеток, что видно по изменению показателей флуоресценции липофильных зондов. Так, после инкубации лимфоцитов в течение 120 мин при 37°C в среде, содержащей амилоидные фибриллы из лизоцима, происходит снижение генерализованной поляризации флуоресценции лаурдана в среднем на 13,75%; поляризации флуоресценции ТМА-ДФГ – на 22,8%, коэффициента эксимеризации пирена на 14,06% по сравнению с контрольными значениями. Кроме того, предварительная инкубация лимфоцитов человека с амилоидными фибриллами приводит к снижению содержания продуктов окисления ТБК в среднем

на 19,7%, что демонстрирует снижение процесса окисления мембранных липидов. Таким образом, амилоидные фибриллы, полученные из лизоцима, воздействуя на лимфоциты человека *in vitro*, вызывают структурные изменения липидного бислоя мембран. Установлено, что при снижении микровязкости наружного слоя липидов увеличивается степень упорядоченности фосфолипидов в мембранах лимфоцитов и замедляются процессы перекисного окисления липидов.

ЕДИНЫЕ ПЕПТИДНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ МОРФОГЕНЕЗА РАСТЕНИЙ И ЖИВОТНЫХ

Воробьева У.М.^{1,2}, Тирас Х.П.^{1,2}, Новиков К.Н.³, Емельяненко В.И.^{1,2,3}

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия; ²ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия; ³МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия
vorobevaum@gmail.com

Молекулярные механизмы биологических процессов едины для всех живых систем. В основе роста и морфогенеза растений и животных лежат универсальные процессы пролиферации и дифференцировки клеток. Общие механизмы регуляции роста и морфогенеза животных и растений на эпигенетическом уровне мало изучены. Это относится и к механизмам пептидной регуляции пролиферации и дифференцировки клеток. Целью исследования является изучение единых механизмов пептидной регуляции процессов роста и морфогенеза растений и животных. Различные биологически активные пептиды животных и человека являются морфогенами, то есть регулируют регенерацию планарий. Поэтому в нашем исследовании в качестве модели морфогенеза была использована регенерация пресноводных плоских червей планарий. В данной работе было исследовано действие пептида растительного происхождения rCLV3 из белка CLV3, который экспрессируется в стеблевой части *Arabidopsis thaliana*, и действует на рост и развитие наземной части растения, его корней. Впервые было исследовано действие пептида в концентрациях 10^{-9} , 10^{-12} М на регенерацию и сверхслабое свечение на одной и той же группе планарий. Для этого контрольных и подопытных планарий сразу после декапитации помещали в люминометр на 72 часа, а затем регистрировали регенерацию через 72, 120, 192, 216 часов. Для оценки динамики роста бластемы у экспериментальной и контрольной групп использовали метод прижизненной компьютерной морфометрии регенерации планарий. Ранее метод хемилюминесценции применялся для регистрации кинетики свечения планарий в процессе регенерации после декапитации. В настоящей работе посттравматический сигнал был получен как разность кинетик свечения группы планарий после добавления пептида rCLV3 и тех же особей без добавления этого пептида. Компьютерный анализ посттравматического сигнала проводился по программе, основанной на методе Маркуардта. Морфометрический контроль позволил говорить о том, что процессы регенерации в экспериментальной и контрольной группах различны. Пептид CLV3 ускоряет регенерацию планарий в 1,46 раза, являясь катализатором процесса регенерации. Пептид CLV3 так же ускоряет выход значения хемилюминесценции к базовому уровню, что свидетельствует о снижении интенсивности продукции АФК. В ходе проделанной работы был изучен процесс влияния пептида растительного происхождения CLV3 на регенерацию планарий, что позволило изучить единые механизмы пептидной регуляции на процесс роста и морфогенеза растений и животных.

МОДИФИКАЦИЯ АЛЬБУМИНА ПОД ДЕЙСТВИЕМ ИНДУЦИРОВАННОГО ОКИСЛЕНИЯ

**Горобец М.Г., Бычкова А.В., Вассерман Л.А., Васильева А.Д., Пронкин П.Г., Плащина И.Г.,
Розенфельд М.А.**

ФБГУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля, Москва, Россия
maria.g.gorobets@gmail.com

Белки, циркулирующие в плазме крови, являются одними из основных мишеней для активных форм кислорода (АФК). Под действием АФК белки подвергаются окислительной модификации, приводящей к нарушению их структуры и функции. Сывороточный альбумин является преобладающим по массе белком плазмы крови (около 60% от общего количества белков). Установлена его способность перехватывать более 70% АФК в плазме крови [1], позволяющая рассматривать альбумин как белковый антиоксидант и как биологический маркер патологического окислительного стресса [2]. Целью данной работы является изучение влияния индуцированного окисления на модификацию химической и пространственной структуры человеческого (ЧСА) и бычьего (БСА) сывороточных альбуминов. Окисленные озоном и нативные образцы сывороточных альбуминов исследовались с применением методов: дифференциальной сканирующей калориметрии, спектрофотометрии, спектрофлуориметрии, динамического светорассеяния, масс-

спектрометрии. Проанализировано изменение физико-химических свойств альбумина при варьируемых количествах окислителя. Показана повышенная склонность к температурной денатурации окисленных форм ЧСА и БСА, находящаяся в зависимости от количества окислителя и времени экспозиции раствора. При окислении также отмечено слабое увеличение температуры денатурации и уменьшение склонности белка к агрегации. Эти эффекты могут быть объяснены в терминах структурной организации молекул. Преобладающее количество окислительных модификаций белков обусловлено вовлечением в свободнорадикальный процесс наиболее легко окисляемых серосодержащих аминокислотных остатков метионина, а также ароматических аминокислотных остатков Туг и Тгр (модифицировано более половины содержащихся в молекуле остатков), что хорошо согласуется с литературными данными [3]. В окислительную модификацию вовлекаются все домены (I, II, III) альбумина. Таким образом, с использованием комплекса физико-химических методов в работе была показана значительная структурная и пространственная модификация белков при использовании концентраций окислителя, сопоставимых с физиологическими.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научных проектов № 16-34-60244 мол_а_дк и № 16-03-00735.

1. Roche M., Rondeau P., Singh N.R., Tarnus E., Bourdon E. // FEBS Lett. 2008. 582. P. 1783-1787.
2. Shacter E., Williams J.A., Lim M., Levine R.L. // Free Radic. Biol. Med. 1994. V. 17. P. 429-437.
3. Berlett B. S., Levine R. L., Stadtman E. // J. Biol. Chem. 1996. V. 271. P. 4177-4182.

УЧАСТИЕ ПОРЫ, ИНДУЦИРУЕМОЙ ЖИРНЫМИ КИСЛОТАМИ И Sr^{2+} (Ca^{2+}), В МЕХАНИЗМЕ ОБРАТИМОГО Sr^{2+} -ИНДУЦИРОВАННОГО ВЫБРОСА ИОНОВ ИЗ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫСЫ В УСЛОВИЯХ ГИПОТОНИИ

Горячева Н.А., Белослудцева Н.В.

ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия
gorjacheva.N.93@rambler.ru

Спонтанные осцилляции ионов в цитоплазме клеток являются общей чертой электровозбудимых и невозбудимых тканей и регулируют целый ряд метаболических процессов. В ткани печени, циклическое изменение цитоплазматической концентрации кальция определяет баланс между процессами потребления АТФ и его синтеза в митохондриях. Ранее было показано, что длительные осцилляции ионных потоков наблюдаются также и в суспензии изолированных митохондрий, обработанных двухвалентными ионами (Ca^{2+} или Sr^{2+}) в присутствии калиевого ионофора валиномицина. Точный молекулярный механизм таких ионных осцилляций в митохондриях и их физиологическая значимость остаются невыясненными. В настоящей работе был исследован механизм выхода ионов, обеспечивающий Sr^{2+} -индуцируемые ионные колебания в митохондриях печени крысы. Нами была воспроизведена модель, позволяющая получить долговременные Sr^{2+} -индуцируемые обратимые изменения нескольких функциональных параметров митохондрий в гипотонической среде. В выбранных условиях, импульсное добавление $SrCl_2$ (45 нмоль/мг) в присутствии валиномицина (5 нг/мг) приводило к возникновению четырех циклов осцилляций митохондриального мембранного потенциала, потоков Sr^{2+} , дыхания и объема матрикса (набухание/сокращение). С помощью флуоресцентного индикатора Amplex Red в системе с пероксидазой, впервые было обнаружено периодическое изменение скорости образования пероксида водорода митохондриями, соответствующее циклическим изменениям скорости митохондриального дыхания в подобранных условиях. Как известно, инкубация митохондрий с ионами Sr^{2+} приводит к активации фосфолипазы A_2 , гидролизу мембранных фосфолипидов и накоплению свободных жирных кислот (СЖК), усиливающимся в условиях гипотонии. В свою очередь, аккумуляция СЖК (в основном, пальмитиновой) может вызывать образование в митохондриях неспецифической липидной поры, способной самопроизвольно закрываться. В работе показано, что добавление ингибиторов Ca^{2+} -зависимой фосфолипазы A_2 (AACOCF₃ и ОВАА) предотвращает развитие всех наблюдаемых осцилляций функциональных параметров митохондрий и выравнивает скорости дыхания и образования пероксида водорода. На основании полученных данных, сделано предположение о том, что в основе механизма обратимого Sr^{2+} -индуцированного выброса ионов из митохондрий в условиях гипотонии лежит образование короткоживущей поры, индуцируемой насыщенными длинноцепочечными жирными кислотами. Предполагается, что такая пора может функционировать как система выброса ионов и вызывать слабое разобщение, приводящее к снижению скорости образования пероксида водорода в митохондриях.

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-04-03081а.

НЕКОТОРЫЕ ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ Ca^{2+} -ЗАВИСИМОЙ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПЕРМЕАБИЛИЗАЦИИ МИТОХОНДРИЙ, ИНДУЦИРОВАННОЙ ПРОДУКТАМИ ω -ОКИСЛЕНИЯ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

Дубинин М.В., Теньков К.С., Старинец В.С., Хорошавина Е.И., Самарцев В.Н.

ФГБОУ ВПО Марийский Государственный Университет, Йошкар-Ола, Россия
dubin1989@gmail.com

Ранее нами было показано, что продукты ω -окисления свободных жирных кислот способны индуцировать кальций-зависимую циклоспорин А-нечувствительную неспецифическую проницаемость внутренней мембраны митохондрий печени крыс. Предполагается, что формирование такой проницаемости обусловлено полиморфными фазовыми переходами, приводящими к перестройке мембраны органелл, формированию небислойных структур и последующему слиянию мембран. В настоящей работе нами впервые установлена тканеспецифичность действия одного из продуктов ω -окисления пальмитиновой кислоты, α, ω -гексадекандиовой кислоты (ГДК) как индуктора кальций-зависимой неспецифической митохондриальной поры. Показано, что ионы кальция в присутствии ГДК вызывают набухание митохондрий печени, почек и сердца. Этот процесс сопровождается падением мембранного потенциала и выходом ионов кальция из органелл. Однако эффективность индукции поры в митохондриях этих тканей уменьшается в ряду печень, почки, сердце. Таким образом, митохондрии сердца, более резистентны к индукторам поры, чем митохондрии печени и почки крыс, что, вероятно, может быть обусловлено разным как липидным, так и белковым составом митохондриальных мембран этих тканей. Кроме того, в настоящей работе были изучены параметры функционирования кальций-зависимой поры, индуцированной ГДК в митохондриях печени крыс 4-х возрастных групп: 1, 4, 8 и 14 месяцев. Установлено, что митохондрии печени молодых неполовозрелых крыс в возрасте 1 месяца проявляли значительно большую резистентность к индукторам открытия ЦсА-нечувствительной поры (ГДК и ионы кальция), по сравнению с митохондриями печени более взрослых особей. В то же время для индукции поры в митохондриях печени старых крыс в возрасте 14 месяцев необходима меньшая концентрация ГДК. Предполагается, что подобная зависимость эффективности индукции поры этими агентами может быть связана с возрастными изменениями структуры мембран, облегчающими образование этой поры.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ (в рамках проекта №17.4999.2017) и гранта РФФИ (№16-34-00435).

МЕМБРАННАЯ АКТИВНОСТЬ БУТЕИНА

Ефимова С.С., Щагина Л.В., Малев В.В., Остроумова О.С.

ФГБУН Институт цитологии РАН, анкт-Петербург, Россия
ssefimova@mail.ru

Халконы являются классом фенольных соединений, производных бензо-гамма-пирона, в основе которых лежит скелет из двух бензольных колец А и В, соединенных между собой трехуглеродным фрагментом с открытой незамкнутой пирановой цепью. Реакционная способность халконов, обусловленная открытой цепью между кольцами, выделяет их среди других растительных полифенолов. Целью работы являлось изучение мембранной активности бутеина, структурного аналога широко используемого халкона флоретина и отличающегося от него наличием дополнительной двойной связи в С-кольце. В литературе широко освещены противовоспалительные свойства бутеина [Cheng et al., Biochim. Biophys. Acta, 1998; Jang et al., Int. J. Mol. Med., 2012; Szuster-Ciesielska et al., J. Gastroenterol., 2012]. Установление молекулярных механизмов его действия на мембраны клеток-мишеней является важным этапом на пути понимания всего спектра биологической активности этого халкона. Для решения поставленных задач был применен комплексный методологический подход, включающий электрофизиологические и флуориметрические измерения граничного и дипольного потенциала мембран, оценку проницаемости липидного бислоя методом измерения утечки флуоресцентного маркера из липидных везикул, а также дифференциальную сканирующую микрокалориметрию суспензий липосом. В ходе работы установлено, что бутеин вызывает снижение дипольного потенциала ДОФХ-мембран (максимальное уменьшение составляет около 110 мВ), приводит к падению температуры главного фазового перехода ДПФХ (приблизительно на 1°C при соотношении липид:халкон 9:1), а также значительному увеличению полуширины соответствующего плавлению пика (на 2.4°C). Полученные результаты указывают на модификацию бутеином как дипольного потенциала липидных бислоев, так и плотности упаковки мембранных липидов. Сравнение диполь-модифицирующей активности и структур флоретина и бутеина с флавоноидами с замкнутым гетероциклом позволило предположить, что наиболее выраженными диполь-модифицирующими свойствами обладают полифенолы с открытой цепью, соединяющей бензольные кольца.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (№ 16-04-00806), ФАНО России и Стипендии Президента РФ (СП-69-2015.4).

ОБРАЗОВАНИЕ ДОЛГОЖИВУЩИХ АКТИВНЫХ ФОРМ БЕЛКОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Иванов В.Е.¹, Усачева А.М.¹, Черников А.В.¹, Карманова Е.Е.^{1,2}, Гудков С.В.^{1,3}, Брусков В.И.^{1,2}

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия; ²ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия; ³ФГБУН Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва, Россия
iwe88@rambler.ru

Установлено, что низкоинтенсивное излучение гелий-неонового (He-Ne) лазера в области поглощения молекулярного кислорода приводит к переходу O₂ в синглетное состояние и вызывает образование активных форм кислорода (АФК) в водных растворах – пероксида водорода, гидроксильных и гидропероксидных радикалов. Показан кислородный эффект – зависимость образования пероксида водорода от концентрации молекулярного кислорода и участие в этом процессе синглетного кислорода, гидроксильных и супероксид-анион радикалов. АФК, индуцированные лазерным излучением в растворах белков сыворотки крови – бычьего сывороточного альбумина, гамма-глобулина быка и некоторых других белков, приводят к образованию долгоживущих активных форм белков (ДАФБ) со временем полужизни около 4-5 часов. Обнаружено новое фундаментальное свойство белков – переход в состояние долгоживущих активных форм под действием лазерного излучения в области поглощения молекулярного кислорода. ДАФБ в течение длительного времени продуцируют пероксид водорода в результате сложных электрон-радикальных цепных процессов с участием растворенного кислорода. Облучение источниками света вне линии поглощения кислорода не сопровождается образованием АФК и ДАФБ. Рассмотрены возможные молекулярные механизмы образования АФК под влиянием облучения He-Ne лазера, роли белков в этом процессе и биологической значимости этих процессов. Изменение содержания пероксида водорода и образование ДАФБ под действием низкоинтенсивного излучения He-Ne лазера может быть важным фактором его лечебного воздействия путем адаптации организма к влиянию неблагоприятных факторов среды в результате сигнально-регуляторных процессов. Однако образование АФК под воздействием излучения He-Ne лазера выше уровня антиоксидантной и репарационной защиты клеток может приводить к окислительному стрессу и отдаленным патологическим последствиям, аналогичным ионизирующему излучению.

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (№ 16-34-01091 мол_а).

ИССЛЕДОВАНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК МОЧИ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНОГО БИОМАРКЕРА КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ ПРИ ГЕНОТОКСИЧЕСКИХ НАГРУЗКАХ

Каменских К.А.^{1,2}, Минкабирова Г.М.¹, Васильева Г.В.¹, Абдуллаев С.А.^{1,2}

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия; ²ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия;
kristina.kamensk@mail.ru

Клеточная гибель в тканях человека и животных представляет собой активный процесс, поддерживающий обновление клеточных популяций, функциональную целостность и гомеостаз тканей. С активностью клеточной гибели сопряжены уровни содержания фрагментов внеклеточной ДНК (вк-ДНК) в биологических жидкостях млекопитающих. Ранее в нашей лаборатории было показано значительное повышение содержания вк-ядерной ДНК (вк-ядДНК) и митохондриальной ДНК (вк-мтДНК) в плазме/сыворотке мышей, подвергнутых воздействию ионизирующей радиации (ИР). В настоящее время качественные и количественные изменения вк-ДНК в кровотоке человека рассматриваются как биомаркер для быстрой оценки лучевой реакции и как диагностическая и прогностическая «жидкая биопсия» в процессе радио-, химиотерапии опухолей. Учитывая интерес к данной проблеме, мы попытались исследовать возможность повышения экскреций вк-ядДНК и вк-мтДНК с мочой крыс, облученных ИР. Анализ трансрентальной вк-ДНК был интересен не только для тестирования ее содержания неинвазивным методом, но и для выяснения возможностей вк-ДНК преодолевать почечный барьер у облученных ИР животных. В экспериментах были использованы 3-х и 24-месячные крысы. Облучение крыс проводили на рентгеновской установке в дозах 3 и 5 Гр. Мы также исследовали влияние метформина (как активатора аутофагии поврежденных клеток) на экскрецию вк-ядДНК и мтДНК с мочой молодых и старых крыс. Вк-мтДНК и вк-ядДНК из образцов мочи изолировали на магнитных носителях. Мочу собирали до и после облучения и ДНК анализировали методом количественной ПЦР в реальном времени. Мы также определили наличие мутантных копий в составе вк-мтДНК.

Электрофоретический анализ выделенных образцов общей вк-ДНК показал, что размеры фрагментов вк-ДНК из мочи молодых и старых крыс до и после облучения одинаковы - в пределах 100-400 бр. Тем не менее, резкое увеличение вк-мтДНК и вк-яДНК наблюдается в моче крыс после их облучения в период с 6 до 24 ч., с последующим понижением до нормального уровня. Во всех случаях содержание фрагментов вк-мтДНК (по гену tRNA) было значительно выше, чем у вк-яДНК (по гену GAPDH). Определенная часть вк-мтДНК представлена мутантными копиями в моче облученных крыс, которые не обнаруживались в моче тех же животных до облучения. Анализы показали, что после облучения увеличение содержания вк-ДНК в моче старых крыс происходит еще более резко. При этом степень увеличения мтДНК у старых крыс гораздо выше, чем таковая вк-яДНК. Различные уровни вк-ДНК у облученных молодых и старых крыс указывают на степень активности клеточной гибели в тканях этих животных. Чрезмерное повышение уровня вк-мтДНК в моче, возможно, связано с активацией митофагии. Данные анализа 3-х и 24-месячных крыс показали, что изменение содержания вк-ДНК в моче у молодых крыс под влиянием метформина происходит слабо, а у старых крыс обнаруживается значительное повышение вк-ДНК, и прежде всего - вк-мтДНК. Эти данные указывают на то, что метформин способствует удалению поврежденных клеток и дисфункциональных митохондрий из тканей. Повышенное содержание циркулирующей внеклеточной ДНК в моче можно рассматривать как потенциальный маркер для оценки уровня генотоксического груза при радиационном поражении организма, а также воздействии других генотоксических агентов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научных проектов № 12-04-31070, № 16-34-00832.

ВЛИЯНИЕ ГИПОМАГНИТНЫХ УСЛОВИЙ НА СИСТЕМУ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО КАЛЬЦИЙЗАВИСИМОГО ПРОТЕОЛИЗА НЕКОТОРЫХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ И РЫБ

Канцерова Н.П.¹, Крылов В.В.², Лысенко Л.А.¹, Немова Н.Н.¹

¹ФГБУН Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия; ²ФГБУН Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, Борок, Россия
nkantserova@yandex.ru

Геомагнитное поле (ГМП) – важный экологический фактор, сопутствующий всему периоду эволюции жизни на Земле. Изучению роли ГМП как фактора естественной среды обитания на Земле посвящен целый ряд работ. В большинстве из них исследовано влияние существенного ослабления ГМП (гипомагнитных условий или так называемого нулевого магнитного поля) на различные функциональные показатели живых организмов. Интерес к данной проблеме обусловлен распространенностью гипомагнитных условий в современном мире (метро, экранированные производственные сооружения, космические полеты). К настоящему моменту установлено, что гипомагнитные условия оказывают существенное влияние на различные поведенческие, морфологические, физиологические параметры растительных и животных организмов, включая человека. Следует отметить, что влияние ГМП на биохимические процессы в живых организмах изучено недостаточно. В доступной литературе содержатся единичные указания на изменение некоторых биохимических показателей у животных и человека при ослаблении ГМП. Вместе с тем, биохимические методы позволяют регистрировать изменения метаболизма, наступающие, как правило, до появления физиологических, морфологических и других отклонений от нормы. Цель настоящей работы - изучение влияния нулевого магнитного поля на кальцийзависимые протеиназы (кальпаины), участвующие в регуляции клеточного гомеостаза. Модельными организмами был выбран ряд беспозвоночных и рыб; различное по времени воздействие проводилось *in vivo* и *in vitro*. Установлено, что прижизненная экспозиция исследуемых организмов в гипомагнитных условиях приводит к снижению активности кальпаинов. В отдельных экспериментах тестировали активность препаратов кальцийзависимых протеиназ, выделенных из беспозвоночных и рыб. Показано, что активность препаратов кальпаинов также снижается в гипомагнитных условиях. Установлен сходный характер ответной реакции кальпаиновой системы на воздействие гипомагнитных условий у животных разных таксонов. Полученные результаты важны для понимания роли геомагнитного поля как фактора естественной среды обитания и эволюции жизни на Земле, а также для изучения влияния гипомагнитных условий на различные показатели функционирования организма человека и животных.

Исследование выполнено с использованием приборов ЦКП НО ИБ КарНЦ РАН. Финансовое обеспечение исследования осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания № 0221-2014-0033 и при поддержке гранта Президента РФ МК-4737.2016.4.

ИЗУЧЕНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ ЦНС ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ ГАММА-КВАНТАМИ

Колесникова И.А.^{1,2}, Буденная Н.Н.^{1,2}, Северюхин Ю.С.^{1,2}, Ляхова К.Н.^{1,2}

¹Университет "Дубна"; ²ОИЯИ, Дубна, Россия

innakolesnikova0793@gmail.com

Исследованы поведенческие реакции экспериментальных животных на установке «Открытое поле». Проведен количественный анализ морфологических изменений нейронов гиппокампа и показано развитие структурных изменений нейронов различной степени тяжести после облучения. Проведен количественный анализ разряженности клеток Пуркинье в мозжечке при действии γ -квантов ^{60}Co в дозе 5 Гр на 8 сутки. Целью проведенного исследования являлось изучение влияния γ -излучения на поведенческие реакции экспериментальных животных и выявление морфологических изменений в гиппокампе и мозжечке на раннем сроке после воздействия. Эксперимент проведен на 12 мышах CD-1 SPF категории, одного пола и возраста. Животные были разделены на 2 группы: интактный контроль и группа, облученная на установке Рокус-М ОИЯИ в дозе 5 Гр γ -квантами ^{60}Co . Декапитация животных была проведена на 8 сутки после облучения. Обработка биологического материала и приготовление препаратов проходила в соответствии со стандартной гистологической техникой. Гистологические срезы окрашивались крезил-виолетом по методу Ниссля. Животные были протестированы на установке «Открытое поле» на 8-сутки после облучения. В ходе эксперимента были посчитаны показатели эмоционального статуса (ЭС) и суммарной двигательной активности (СДА), ориентировочно-исследовательская поведенческая реакция (ОИР). Для оценки степени тяжести структурных нарушений в нейронах гиппокампа мышей использована количественная методика оценки морфологических изменений клеток. В препарате от каждого животного анализировали все клетки гиппокампа кроме зубчатой фасции. В зависимости от степени структурных нарушений выделяли три группы клеток: неизмененные нейроны, клетки с легкообратимыми изменениями и дистрофически-измененные нейроны. В мозжечке был посчитан показатель разряженности клеток Пуркинье. В препаратах от каждого животного в 100 полях зрения посчитано полное количество клеток Пуркинье. Анализ проведенных наблюдений показал, что после облучения γ -квантами ^{60}Co произошло незначительное увеличение двигательной активности у облученных мышей: показатели СДА и ЭС больше, чем у контрольной группы. ОИР у животных обеих групп совпадает. Проведенный качественный и количественный анализ морфологического состояния нейронов выявил, что количество нормальных клеток в интактной группе больше, чем у облученных мышей; количество функционально-измененных нейронов у облученных животных превышает число таких клеток у необлученных, хотя дистрофически-измененных клеток одинаково в обеих группах. В мозжечке облученных животных наблюдается разряженность клеток Пуркинье.

ТОНКИЕ СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ИНГИБИТОРОВ ВОДОРОСЛЕВОГО РОСТА: КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Кондратьев М.С.¹

¹ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

ma-ko@bk.ru

В настоящее время существенной проблемой открытых водоемов, а также искусственных систем хранения технической воды является её «цветение» – массовое размножение и резкое увеличение общей биомассы водорослей. У этих фотосинтезирующих микроорганизмов имеется множество ключевых физиологических систем и биохимических циклов, функционирование которых можно избирательно подавить, добавив среду обитания организма определенные вещества, которые будут действовать только на водоросли, не повреждая другие организмы вокруг. Одной из таких важнейших, но уязвимых систем, являются ферменты карбоангидразы, принимающие участие в образовании углеводов при фотосинтезе – например, белок Cnh3 , который был выбран нами в качестве модельной системы для поиска эффективных ингибиторов карбоангидраз. В данной работе при помощи современных методов вычислительной химии теоретически изучены особенности некоторых структурных и термодинамических параметров молекул ингибиторов карбоангидразы Cnh3 из *Chlamydomonas reinhardtii*. Выполненные нами квантово-химические расчеты позволили исследовать конформационную лабильность ряда веществ-кандидатов, молекул на основе сурьмы. Эти симметричные соединения с двумя бензольными кольцами, а также с галогеновыми заместителями, являются столь же эффективными ингибиторами изучаемого фермента, как и классические соединения: ацетазоламид, этоксизоламид, ТФМСА. Для галогеновых производных нами показано уменьшение термодинамической стабильности таких молекул в ряду $\text{F}-\text{Cl}-\text{Br}-\text{I}$, а также отмечена важная стабилизирующая роль водородных связей между N–H и бензольными кольцами. При помощи методов гибкого докинга нами изучен механизм взаимодействия ряда ингибиторов с аминокислотными остатками, формирующими активный центр фермента.

P2Y РЕЦЕПТОРЫ В МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА

Котова П.Д.

ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия
polinakotova88@gmail.com

Мезенхимные стромальные клетки (МСК) представляют собой недифференцированные мультипотентные клетки, которые способны дифференцироваться в клетки как минимум костной, хрящевой и жировой тканей. В настоящей работе исследовалась функциональная экспрессия пуринаергических рецепторов в МСК. МСК выделяли из жировой ткани человека, поддерживали в культуре и изучали с использованием микрофотометрии и Ca^{2+} -зондов. Ранее нами было показано, что до 30% клеток в популяции МСК генерируют Ca^{2+} -ответы на агонисты пуринаергических рецепторов. Абсолютное большинство этих клеток отвечают на АТФ, примерно половина из них отвечает на АДФ и/или УТФ, и лишь некоторые клетки чувствительны к УДФ. Для человека между пуринаергическими рецепторами и их полными агонистами установлено следующее соответствие: P2Y₁ (АДФ), P2Y₂ (АТФ, УТФ), P2Y₄ (УТФ), P2Y₆ (УДФ), P2Y₁₁ (АТФ), P2Y₁₂ (АДФ), P2Y₁₃ (АДФ), P2Y₁₄ (УДФ, УДФ-глюкоза). Отсюда видно, что по ответам на природные агонисты нельзя однозначно сказать, какие именно пуринорецепторы функционируют в МСК. Поэтому нами были использованы все существующие на сегодняшний день специфические агонисты P2Y рецепторов. Эффективность специфических агонистов была значительно ниже эффективности природных агонистов, но все же МСК генерировали Ca^{2+} -ответы на агонисты P2Y₁, P2Y₂, P2Y₄, P2Y₆ рецепторов. Агонист же P2Y₁₁ рецептора никогда не стимулировал Ca^{2+} -ответы, что вступало в противоречие с результатами, полученными с помощью природных агонистов. Противоречие заключалось в том, что ответы на АТФ могут генерироваться за счет P2Y₂ и P2Y₁₁ рецепторов, если же P2Y₁₁ рецепторы не экспрессируются или не функциональны и ответы на АТФ генерируются исключительно за счет P2Y₂ рецепторов, то все клетки, отвечающие на АТФ должны отвечать и на УТФ, и на специфический агонист P2Y₂, однако этого не происходило. Недавно показано, что существуют природные агонисты, специфические для P2Y₁₁ рецепторов человека, и ими являются НАД и НКАДФ. Оказалось, что все отвечающие на АТФ МСК генерировали ответы и на НАД, и на НКАДФ, при этом специфический агонист P2Y₁₁ рецептора по-прежнему не вызывал ответов. Таким образом, в МСК функционируют P2Y₁, P2Y₂, P2Y₄, P2Y₆ и P2Y₁₁ рецепторы, причем именно P2Y₁₁ рецептор в основном ответственен за генерацию ответов на АТФ. А специфические агонисты помимо того, что могут быть гораздо менее эффективны, чем природные, иногда вообще не вызывают сигнализацию, вызываемую природными агонистами. Работа поддержана РФФИ № 16-34-00210.

МСК ГЕНЕРИРУЮТ Ca^{2+} -ОТВЕТЫ НА АДЕНОЗИН ПО ФОСФОЛИПАЗНОМУ ПУТИ

Кочкина Е.Н., Котова П.Д.

ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия
kate-kochkina@yandex.ru

Мезенхимные стромальные клетки (МСК) представляют собой гетерогенную популяцию пролиферирующих недифференцированных клеток, включающую мультипотентные стволовые клетки. Хотя МСК активно исследуются во многих лабораториях, существующие представления об их рецепторных и сигнальных системах весьма ограничены. В данной работе исследовалась Ca^{2+} -сигнализация, инициируемая в МСК внеклеточным аденозином. МСК выделяли из жировой ткани человека, поддерживали в культуре, и изучали с использованием микрофотометрии, Ca^{2+} -зондов и ингибиторного анализа. Ранее в нашей лаборатории было показано, что популяция МСК гетерогенна по чувствительности к агонистам различных рецепторов. В настоящей работе мы анализировали сигнальные каскады, которые обеспечивают сопряжение аденозиновых рецепторов с мобилизацией внутриклеточного Ca^{2+} . Выяснилось, что МСК генерируют нормальные по амплитуде и кинетике ответы на аденозин в присутствии внешнего Ca^{2+} , что однозначно указывает на то, что основной вклад в эти ответы вносит выброс депонированного Ca^{2+} . Ингибитор PLC U73122 полностью подавлял ответы на аденозин, в то время как его неактивный аналог U73433 ожидаемо был неэффективен. Это свидетельствовало о том, что аденозиновые рецепторы в МСК сопряжены с фосфолипазой C, которая гидролизует PIP_2 до IP_3 и DAG. Образовавшийся IP_3 стимулирует IP_3 рецепторы Ca^{2+} -депо, о чем свидетельствуют эксперименты, в которых было показано, что антагонист IP_3 -рецепторов 2-APB полностью подавлял ответы на аденозин, тогда как ингибитор рианоидиновых рецепторов Ryanodine не влиял на способность МСК генерировать Ca^{2+} -ответы на аденозин. Перечисленные данные свидетельствуют о том, что МСК генерируют Ca^{2+} -ответы на аденозин при участии классического фосфолипазного пути. Следует отметить, что для клеточных ответов на аденозин была характерна весьма необычная дозозависимость – амплитуда ответов фактически не зависела от концентрации апплицируемого аденозина. Этот необычный факт свидетельствует о том, что сигнальные процессы, запускаемые в МСК аденозином, не ограничиваются

активацией только фосфолипазного сигнального каскада, и для их детализации требуются дальнейшие исследования. Работа поддержана РФФИ № 16-34-00210.

ПЕРОКСИД ВОДОРОДА КАК ВОЗМОЖНЫЙ ИНДУКТОР ВАРИАБЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА В ПРОРОСТКАХ ГОРОХА

Ладейнова М. М., Воденеев В. А.

ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского
ladeynova.m@yandex.ru

Растения, как любые живые организмы, способны реагировать на изменения окружающей среды и генерировать электрические сигналы в ответ на раздражение. При действии повреждающих факторов возникает переменный потенциал (ВП), который является уникальной для растений электрической реакцией, индуцируемой распространяющимся сигналом. Предполагается, что в качестве такого сигнала может выступать пероксид водорода. Обоснование сделанного предположения требует анализа изменения содержания H_2O_2 при локальном повреждении, а также изучения влияния пероксида водорода на мембранный потенциал, что явилось целью настоящей работы. Объектом исследования служили двухнедельные проростки гороха (*Pisum sativum* L.). Ожогом кончика листа индуцировали ВП, который регистрировали внеклеточно с помощью макроэлектродов. Проростки гороха фиксировали жидким азотом через определённый интервал времени после раздражения, разделяли на фрагменты, в которых определяли концентрацию H_2O_2 флуориметрическим методом. Локальное повреждение (ожог листа) индуцирует в проростках гороха распространение ВП. По мере удаления происходит снижение скорости и амплитуды реакции. При изучении динамики содержания H_2O_2 на различных расстояниях от зоны локального повреждения выяснено, что нанесение ожога вызывает увеличение содержания пероксида в стебле гороха. Изучение влияния пероксида водорода на мембранный потенциал клеток выявило концентрационную зависимость. Так, увеличение содержания H_2O_2 снаружи клеток в концентрации менее 5 мМ не вызывает существенных изменений мембранного потенциала, при увеличении концентрации выше 5 мМ имеет место деполяризация, амплитуда которой возрастает с увеличением концентрации H_2O_2 , а действие концентраций выше 25 мМ вызывает развитие двухфазной реакции. Исследование механизмов индуцированной пероксидом водорода деполяризации мембраны проводилось с использованием ингибиторного анализа. Присутствие ингибитора кальциевых каналов $LaCl_3$ подавляет развитие деполяризации, индуцированной добавлением H_2O_2 . Сходный эффект наблюдается при действии La^{3+} на развитие деполяризации при генерации ВП. Полученные результаты указывают на возможную роль пероксида водорода в качестве фактора, индуцирующего генерацию ВП. Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (контракт №6.2050.2014/к).

MD_UTILS — НАБОР УТИЛИТ ДЛЯ РАСЧЕТА И АНАЛИЗА ИЗМЕНЕНИЯ СВОБОДНОЙ ЭНЕРГИИ СВЯЗЫВАНИЯ В БИМОЛЕКУЛЯРНЫХ КОМПЛЕКСАХ МЕТОДОМ ЗОНТИЧНОЙ ВЫБОРКИ.

Лашков А.А., Михайлов А.М.

ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН, Москва, Россия
alashkov83@gmail.com

Для анализа решений молекулярного докинга и комплексов биомолекул, исследуемых методом рентгеноструктурного анализа, необходимо знание изменения свободной энергии связывания (ΔG_{bind}) частей бимолекулярной системы. Оценочные функции используемые при ранжировании результатов докинга неточны и часто не учитывают энтропийный вклад в ΔG_{bind} . Одним из методов расчета ΔG_{bind} является метод зонтичной выборки [1] (Umbrella sampling, US), Метод основан на анализе зависимости потенциала средней силы (PMF) от расстояния между центрами масс частей молекулярного комплекса (белок-лиганд или белок-белок). Расчет проводится в два этапа. На первом этапе на частицы действует сила разводящая их на расстояние при котором частицы практически не взаимодействуют между собой. Фреймы конфигурации системы при этом сохраняются с определенным шагом по траектории разведения. На втором этапе для каждой конфигурации рассчитывается потенциал средней силы. Оба этапа можно осуществить используя комплекс программ классической молекулярной динамики — GROMACS [2]. Для расчета и анализа расстояний между центрами масс частей системы, сортировки фреймов по расстоянию между центрами масс и визуализации результатов метода зонтичной выборки авторами написан набор оригинальных утилит. При написании использовался язык программирования Python 3 и дополнительные библиотеки matplotlib и numpy. Пакет рассчитан на использование с GROMACS версии 5.0 и выше и распространяется под свободной лицензией GPL. Помимо

определения ΔG_{bind} методом зонтичной выборки, утилиты расчета и анализа расстояний между центрами масс частей системы и утилиты построения графиков по xvg-файлам могут быть использованы и в других ситуациях (например анализ движения доменов и полипептидных или нуклеотидных цепей в МД-симуляции и т.д.). Набор программ доступен через GitHub (https://github.com/alashkov83/md_utils).

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента РФ № МК.9246.2013.3.

1. Kumar, Shankar; Rosenberg, John M.; Bouzida, Djamel; Swendsen, Robert H.; Kollman, Peter A. (1992) "THE weighted histogram analysis method for free-energy calculations on biomolecules. I. The method". *Journal of Computational Chemistry*. **13** (8): 1011–102.
2. Van der Spoel, D., Lindahl, E., Hess, B., Groenhof, G., Mark, A. E., Berendsen, H. J. C. (2005) "GROMACS: Fast, Flexible and Free". *Journal of Computational Chemistry*. **26**, 1701–1718.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОДАКТИВАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ В ПРИСУТСТВИИ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ

Майоров А.С.^{1,2}, Свешникова А.Н.^{1,2,3}

¹ФГБОУ ВО Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; ²Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН; ³Национальный научно-практический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева
as.maiorov@physics.msu.ru

При попадании бактерий в кровоток происходит их прямой контакт с системой свертывания крови, в том числе с тромбоцитами. Прямая активация тромбоцитов при этом контакте может быть одной из причин развития синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови. В виду большого количества различных механизмов взаимодействия тромбоцитов и бактерий, в настоящей работе мы решили сосредоточиться на активации тромбоцитов через толл-подобный рецептор-4 (TLR4), агонистами которого являются компоненты клеточной стенки грамотрицательных бактерий – липополисахариды (ЛПС). В настоящее время известно, что на поверхности тромбоцитов присутствует TLR4, однако, остается спорным его влияние на их активацию и подактивацию. *Цель:* Исследование влияния липополисахаридов на активацию тромбоцитов. *Материалы и методы:* Активация тромбоцитов исследовалась с помощью агрегометрии, проточной цитометрии и конфокальной микроскопии, в цельной крови, богатой тромбоцитами плазме и на отмытых тромбоцитах. Активация тромбоцитов проводилась стандартными агонистами (ADP, SFLLRN, CRP). Эксперименты проводились с липополисахаридами E. Coli штаммов O111:B4 и O55:B5. А так же с культурами E. Coli XL-1 и DH10b. *Результаты:* Не было обнаружено связывания FITC меченых ЛПС тромбоцитами в цитометрическом эксперименте. Не было выявлено статистически значимого влияния ЛПС на тромбоциты (или PRP) при агрегометрии и дальнейшей активацией 5 мкМ АДФ. Выпуск альфа-гранул тромбоцитов преинкубированных с ЛПС не отличается от контроля, активация тромбоцитов производилась различными концентрация CRP(коллаген подобный пептид). Не было обнаружено влияния на активность тромбоцитов E. Coli XL-1 (OD 1,2) в экспериментах по агрегометрии. *Выводы:* Липополисахариды напрямую не активируют тромбоциты и не влияют на их активацию стандартными агонистам.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Москвы в рамках научного проекта № 15-34-70009 «мол_а_мос».

ВНУТРЕННЕЕ ТРЕНИЕ МОЖЕТ ИГРАТЬ РЕШАЮЩУЮ РОЛЬ В ТЕРМОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ИОННЫХ КАНАЛОВ

Окенов А.О., Москвин А.С., Япаров Б.Я.

УрФУ им. первого Президента России Б.Н. Ельцина
a.o.okenov@outlook.com

Термочувствительные TRP-каналы — группа каналов, посредством которых многие животные воспринимают изменения температуры окружающей среды. Данные каналы обеспечивают высокую термочувствительность в широком диапазоне и могут напрямую активироваться «теплом» (TRPV1-4) или «холодом» (TRPA1, TRPM8). Кроме того, на их активацию могут влиять как лиганды, так и мембранный потенциал. Несмотря на активные исследования термочувствительных каналов в последние десятилетия, механизм их работы остается до конца не ясным. Взяв за основу электронно-конформационную модель ионных каналов, мы предлагаем новый подход для описания механизма термоактивации TRP-каналов. Основным отличием нашей модели является то, что она учитывает изменения не только энергетических характеристик канала (при открытии или закрытии), но и изменение динамических свойств. В целом, динамика канала делится на быструю (электронную) и медленную (конформационную). В медленную конформационную динамику

вносят вклад случайная сила (тепловой шум) и «внутреннее трение» (характеристика взаимодействия структурных элементов белка между собой, мембраной и окружающей цитоплазмой). Для учета изменения динамических свойств белка при конформационных изменениях его структуры, вводится зависимость «внутреннего трения» от конформационной координаты. Для температурной зависимости «внутреннего трения» предполагается обычный “аррениусовский” закон. В рамках простейшей модели с двумя (открытым и закрытым) состояниями, с соответствующими величинами коэффициента «внутреннего трения», мы смогли получить кривую активации как для “теплоактивируемого” TRPV1, так и для “холодоактивируемого” TRPM8 каналов. Кроме того, в рамках модели удастся описать влияние мембранного потенциала на кривую термоактивации и объяснить изменение параметров активации канала, вызванное мутациями. Электронная динамика модели связана с активацией термоактивируемых TRP различными лигандами и представляет предмет дальнейших исследований.

Работа выполнена при поддержке Министерства Образования и Науки РФ, проект № 5719.

ПРОМОТОРНЫЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ ФИЗИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ В ГЕНОМАХ БАКТЕРИОФАГОВ

Орлов М.А.¹, Рясик А.А.¹, Зыкова Е.А.¹, Ермак Т.В.², Дзелядин Т.Р.¹, Сорокин А.А.¹

¹ ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия; ² ФИЦ Институт Цитологии и Генетики СО РАН, Новосибирск, Россия
orlovmikhaianat@gmail.com

На современном этапе развития проблемы промоторно-полимеразного узнавания все большее внимание уделяется промоторными детерминантам, являющимися по своей природе физическими и структурными свойствами ДНК. Это соответствует переходу от концепции прямого кодирования молекулярного узнавания (определяемого первичной структурой ДНК) к концепции непрямого кодирования (первичная структура кодирует физические свойства, в свою очередь определяющие взаимодействия с белком). Так, нативные промоторы родственных бактериофагов T7 и SP6 содержат консенсусную последовательность длиной около 20 пар оснований, идентичную или имеющую замены по единичным положениям. При этом рассмотрение только первичной структуры не позволяет объяснить механизмы функционирования промоторов и организацию экспрессии генов бактериофагов. В данной работе исследованы профили физических свойств промоторных последовательностей бактериофагов T7 и SP6: электростатический потенциал (ЭП), вызванная суперспирализацией дестабилизация дуплекса (SIDD), изгибность и динамические свойства открытых состояний. В результате для нативных промоторов разных классов (“метаболических” и “структурных”) двух геномов подтверждено наличие характерных мотивов ЭП, установлены различия в дестабилизации дуплекса (профили SIDD) и описаны характерные мотивы профилей изгибности. Для профилей ЭП и изгибности проведен кластерный анализ методом Уорда, показавший возможность автоматического разделения промоторов по функциональным классам рассмотренных геномов. Описанные различия физических детерминант могут способствовать более глубокому пониманию механизмов функционирования промоторов: дифференциального узнавания промоторов разных классов фаговыми РНК-полимеразами, специфичности этих ферментов в отношении соответствующих нативных промоторов и т.д.

Работа поддержана грантом РФФИ №16-37-00303 мол_а.

ВЛИЯНИЕ ИМИТАЦИИ ГЕОМАГНИТНОЙ БУРИ И ВРЕМЕННОГО СМЕЩЕНИЯ СУТОЧНОЙ ГЕОМАГНИТНОЙ ВАРИАЦИИ НА ЭМБРИОНЫ ПЛОТВЫ RUTILUS RUTILUS L.

Осипова Е.А., Панкова Н.А., Крылов В.В.

ФГБУН Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, Борок, Россия
osipova@ibiv.yaroslavl.ru

Исследованы эффекты влияния смещения суточной геомагнитной вариации на 6 и 12 часов относительно смены дня и ночи, а также имитации сильной геомагнитной бури на раннее развитие плотвы *Rutilus rutilus* (L). Обнаружено, что пребывание эмбрионов в условиях смещения суточной геомагнитной вариации стимулирует пролиферацию бластомеров и приводит к более раннему вылуплению предличинок из икринок. После пребывания эмбрионов в условиях смещения суточной геомагнитной вариации было отмечено увеличение двигательной активности рыб в крестообразном лабиринте, снижение числа лучей в анальном плавнике, перераспределение числа позвонков в отделах позвоночника, увеличение числа отверстий сейсмодатированной системы на предкрышечной и нижнечелюстной костях у сеголетков. Установлено, что воздействие имитации геомагнитной бури приводит к усилению митотической активности бластоцитов и более

раннему вылуплению предличинки. После пребывания эмбрионов в условиях имитации геомагнитной бури было отмечено снижение числа лучей в анальном плавнике, перераспределение числа позвонков в отделах позвоночника и увеличение числа отверстий в канале сейсмодатчика на нижнечелюстной кости. На основании сходства биологических эффектов смещения суточной геомагнитной вариации и имитации сильной геомагнитной бури сделано предположение о том, что естественные геомагнитные бури воспринимается организмом как сильные вариации геомагнитного поля в ряду регулярных суточных флуктуаций, которые случились в необычное время относительно первичного синхронизатора циркадных биологических ритмов – смены дня и ночи.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (проект № 16-34-00187-мол_а).

ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО СВЕТОДИОДНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ 400 И 460 НМ НА РАЗВИТИЕ ПЕРЕВИВНОЙ ОПУХОЛИ У БЕЛЫХ НЕЛИНЕЙНЫХ КРЫС С РАЗНЫМ ИСХОДНЫМ УРОВНЕМ ОРИЕНТИРОВОЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ АКТИВНОСТИ

Плеханова Е.С.¹, Чернигина И.А.¹, Чернов В.В.², Щербатюк Т.Г.¹

¹ФГБОУ ВО Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава России, Нижний Новгород, Россия; ²ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики РАН, Нижний Новгород, Россия

evgenya_plekhanova@mail.ru

Несмотря на многолетний опыт применения низкоинтенсивного лазерного и светодиодного излучения в лечебной практике, вопрос об его использовании в онкологии остается открытым из-за возможности стимулирования пролиферации опухолевых клеток. Целью исследования стала оценка действия низкоинтенсивного светодиодного излучения (СИД) фиолетово-синей области спектра на развитие опухоли, трансплантированной лабораторным животным с разным исходным уровнем функционального состояния организма. Эксперименты выполнены на 58 белых нелинейных крысах, самцах, возрастом 3 месяца. Исходное функциональное состояние животных оценивали по уровню исследовательской активности в тесте «открытое поле» (Буреш Я. и др., 1991). Модель неоплазии - рак печени штамм РС-1. Штамм перевивали подкожно. Наблюдение за ростом трансплантированной опухоли осуществляли в течение 150 суток. На 6-е сутки развития РС-1 крысы были разделены на две группы: «контроль» (N=15) и «опыт» (N=15). Воздействие СИД осуществляли на 13-е сутки после перевивки неоплазии транскутанно на опухоль ($\lambda=460$ нм) и кровь ($\lambda=400$ нм) в течение 15 мин. При этом доза воздействия составила 3,2 и 4,6 Дж/см², соответственно. Источниками излучения служили экспериментальные генераторы (ИПФ РАН, Нижний Новгород). Обработка данных осуществлялась методами непараметрической статистики. В результате поведенческих исследований крысы были разделены на три группы: 1) с активным типом поведения 2) со средним уровнем ориентировочно-исследовательской активности и 3) с пассивным типом поведения. Для животных третьего типа активности был отмечен особый характер развития перевивной опухоли РС-1: быстрый рост опухолевого очага на ранних этапах после перевивки и быстрое регрессирование на последующих. Однако воздействие СИД привело к изменению развития трансплантированной опухоли у крыс с таким типом поведения. Было отмечено торможение роста после СИД в течение длительного периода, но затем наблюдалась последующая активация развития РС-1. Таким образом, в зависимости от исходного функционального состояния организма лабораторных животных наблюдается различный характер развития трансплантированной опухоли. У крыс с пассивным типом поведения транскутанное воздействие СИД с длиной волны 400 и 460 нм на кровь и опухоль ранних сроков развития приводит к отдаленному стимулированию роста неоплазии.

АНАЛИЗ СУБСТРАТНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ ДИОКСИГЕНАЗ – ДЕСТРУКТОРОВ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ НЕФТИ

Подпорин Д.А.^{1,2}, Кондратьев М.С.²

¹ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия; ²ФГБУН
Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия
dima.podporin.94@mail.ru

Улучшение свойств макромолекул, обладающих каталитическими свойствами, является одной из ключевых задач биоинженерии. В первую очередь это касается ферментов, имеющих непосредственное прикладное значение: например, вовлечённых в деструкцию нефтепродуктов, одними из тяжелых последствий которых является загрязнение окружающей среды ароматическими углеводородами. На долю ароматических органических веществ в нефти приходится около 1% от общего количества углеводородов. Но, несмотря на это, подобные вещества токсичны в малых концентрациях. Штаммы *Acinetobacter calcoaceticus* и *Acinetobacter radioresistens* эффективно окисляют ароматические компоненты нефти. Особенно важной является способность к росту на ароматических углеводородах, таких как бензол, которые в естественных условиях и при биоремедиации разлагаются сложнее всего. Объектом нашего исследования является фермент катехол 1,2-диоксигеназа из двух штаммов бактерий *Acinetobacter radioresistens* (код pdb **2XSR**, 306 аминокислотных остатков) и *Acinetobacter calcoaceticus* (код pdb **1DLM**, 311 аминокислотных остатков). Данный фермент запускает цепь превращений пирокатехина через ряд промежуточных продуктов до сукцинил-КоА и ацетил-КоА, которые затем включаются в метаболизм данных микроорганизмов. Моделирование этих ферментов важно для наших будущих исследований по улучшению их свойств. Мы установили среднюю степень их текстовой гомологии (50.81%), тогда как структурно их глобулы очень высоко гомологичны. Методом молекулярного докинга нами была исследована субстратная специфичность изоферментов двух диоксигеназ, в качестве лигандов рассматривались пирокатехин, фенол и их различные производные. Выявлена зависимость аффинности связывания от разных заместителей в структуре лиганда, для каждой из молекул показано предпочтительное место связывания.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КАТИОННЫХ НКЖ СТРУКТУРНОГО “μ-S” ТИПА С ФЕРРИ- И ФЕРРОЦИТОХРОМОМ C.

Покидова О.В.¹, Психа Б.Л.¹, Руднева Т.Н.¹, Шкондина Н.И.¹, Санина Н.А.¹, Котельников А.И.¹

¹ФБГУН Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка, Россия
olesia16@mail.ru

Нитрозильные комплексы железа (НКЖ) с функциональными серосодержащими лигандами генерируют NO в водном растворе самопроизвольно и являются перспективными пролекарствами нового поколения. Актуальной задачей, во многом определяющей дальнейшее применение НКЖ в качестве лекарств, является изучение их взаимодействия с биологическими объектами. В настоящей работе исследовали взаимодействие ферро- и феррицитохрома C (Cyt C²⁺ и Cyt C³⁺) с НКЖ с пеницилламиновыми [Fe₂(SC₅H₁₁NO₂)₂(NO)₄](SO₄·5H₂O (Pen) и цистеаминовыми [Fe₂(S(CH₂)₂NH₃)₂(NO)₄](SO₄·2.5H₂O (CysAm) тиолатными лигандами. Синтез, структура, вазодилаторная активность Pen и противоопухолевая активность CysAm описаны в работах [1, 2]. Cyt C²⁺ реагирует с NO с большой скоростью только при низких значениях pH (K_{равн}=3·10⁵ М⁻¹) [3]. Поэтому опыты с Cyt C²⁺ проводили при pH 3.0. Наблюдали постепенное образование NO-Cyt C²⁺ во времени. Найдено значение константы k₁ = 2.7·10⁻³ с⁻¹, которая описывает процесс выделения NO из CysAm. Таким образом, при pH 3.0 процесс распада НКЖ происходит значительно быстрее, чем при pH 7.0 (данные сенсорного электрода: константа выделения NO из CysAm составляет 5.2·10⁻⁵ с⁻¹). Cyt C³⁺ взаимодействует с NO при pH 7.0 с K_{равн}=1,63·10⁴ М⁻¹ [3]. Это позволяет уверенно регистрировать кинетику реакции нитрозилирования методом спектрофотометрии при pH 7.0. Опыты проводили в присутствии K₃[Fe(CN)₆], так как НКЖ восстанавливают Cyt C³⁺. Комплексы под действием K₃[Fe(CN)₆] быстро распадаются с высвобождением железа, которое далее участвует в реакции образования берлинской лазури. Наибольшее количество NO-Cyt C³⁺ образуется в начальный момент времени, сразу после смешивания реагентов. Затем NO-Cyt C³⁺ медленно разлагается, и в конце наблюдаем спектр исходного Cyt C³⁺. Согласно авторам работы [4], NO-Cyt C³⁺ существует в равновесии со своей резонансной формой NO⁺-Cyt C²⁺: NO + Cyt C³⁺ ↔ [NO-Cyt C³⁺] ↔ NO⁺-Cyt C²⁺, при гидратации которой образуются нитриты и Cyt C²⁺. Константы процесса распада NO-Cyt C³⁺ равны k₁ = 4.16·10⁻⁴ с⁻¹ и k₋₁ = 0.49 М⁻¹с⁻¹ для прямой и обратной реакции, соответственно. Также в работе, используя Cyt C³⁺, было определено, что при самопроизвольном распаде CysAm при pH 7.0 в течение 3 часов в отсутствие окислителя в раствор выделяется 0.43 группы NO.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (грант № 16-33-00592).

1. Санина Н.А. и др. Патент 2460531, 2012.
2. Sanina N.A. et al., Patent US 8,067,628 B2, 2011.
3. Hoshino M. et al. J. Am. Chem. Soc. 1993. Vol. 115, № 21. P. 9568
4. Orii Y. J. Biochem. 1978. Vol. 84, № 6. P. 1542.

ВСПЛЕСКИ УРОВНЯ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЛАБОРАТОРНЫХ ГРУПП ОСОБЕЙ *DROSOPHILA MELANOGASTER* И ГЕОМАГНИТНЫЕ ВОЗМУЩЕНИЯ

Прикоп М.В., Баженов А.А.

¹ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия
prikop1@gmail.com

В работе исследовались данные полученные в ходе проведения серии опытов в г. Иркутске по изучению двигательной активности (ДА) лабораторных популяций *Drosophila melanogaster*. Опыты проходили при круглосуточном освещении с постоянной температурой около 25° С. Особей *Drosophila melanogaster*, после предварительной наркотизации эфиром, разделяли на группы: 1) самки; 2) самцы; 3) самки и самцы находящиеся вместе. Количество мушек в каждой из групп составляло 45 - 50 штук. Регистрация уровня ДА велась с помощью автоматизированного метода видеонаблюдения, с шагом учета одна минута. Продолжительность каждого опыта не превышала 10 суток. За анализируемый период, в динамике активности *Drosophila melanogaster* были обнаружены резкие всплески уровня ДА. Необходимо подчеркнуть, что под «всплеском» понимается резкое скачкообразное увеличение уровня активности насекомых превышающего в несколько раз значения активности предыдущих наблюдений данного опыта, при продолжительности течения «всплеска» или серии «всплесков» не менее 10 минут. При анализе возможных причин резкого изменения уровня ДА было замечено распределение в большинстве случаев выраженных всплесков активности *Drosophila melanogaster* в дни геомагнитных возмущений или предшествующие им дни. Кроме этого отдельно нужно отметить аномальное поведение насекомых (в частности группы с самцами) во время геомагнитного возмущения начавшегося 17.03.2015 и классифицируемого как очень сильная магнитная буря G4 (Кр-8). Резкое повышение активности самцов, практически совпадающие с началом главной фазы геомагнитной бури, продолжалось около суток, превышая среднее значение двигательной активности предыдущих дней более чем в 3,5 раза. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о чувствительности *Drosophila melanogaster* к геомагнитным возмущениям, которые в свою очередь могут являться причиной внезапных всплесков уровня ДА.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ NGS ДЛЯ АНАЛИЗА КАРИОТИПА КОПЫТНОГО ЛЕММИНГА (*DICTOSTONYX TORQUATUS*)

**Прокопов Д. Ю.^{1,2}, Макунин А. И.², Романенко С. А.^{1,2}, Дружкова А. С.², Графодатский А.С.^{1,2},
Трифонов В. А.^{1,2}**

¹Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия; ²Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия
dprokopov@mcb.nsc.ru

Мышевидные грызуны обладают самыми высокими скоростями изменения кариотипов среди всех исследованных млекопитающих. Сравнительный анализ видов этой группы является перспективным для изучения механизмов хромосомных перестроек. Копытный лемминг (*D. torquatus*) представляет значительный интерес с точки зрения сравнительной геномики благодаря необычной и не до конца изученной системе половых хромосом, наличию добавочных хромосом и вариабельному диплоидному числу хромосом основного набора. Применение технологий секвенирования нового поколения для анализа кариотипа *D. torquatus* позволит изучить происхождение, состав и эволюцию кариотипа на более высоком уровне, недостижимом при использовании методов классической и молекулярной цитогенетики. Целью научной работы является анализ полного кариотипа копытного лемминга (*D. torquatus*) путем секвенирования отдельных хромосом. Суспензия хромосом *D. torquatus* получена из фибробластов самца и было показано, что клеточная линия имеет кариотип с 45 А-хромосомами и 8-14 В-хромосомами. С помощью метода микродиссекции с одной метафазы были изолированы 14 В-хромосом. Проведена амплификация и мечение ДНК отдельных хромосом, хромосомоспецифичность проверена с помощью FISH на метафазных хромосомах *D. torquatus*. В дальнейшем планируется провести секвенирование полученных библиотек на платформе Illumina MiSeq. Ранее методом проточной цитометрии кариотип лемминга был разделен на отдельные пики. Прочтения, полученные в

результате секвенирования 24 сортировочных пиков на платформе Illumina MiSeq, были очищены от адаптеров и выровнены на геном домового мыши (*M. musculus*) и человека (для исключения контаминационной ДНК). Был проведен поиск районов, представленных на хромосомах, и получены координаты хромосомных перестроек относительно генома *M. musculus*. Проведен кластерный анализ состава повторенной ДНК с помощью RepeatExplorer с аннотацией по базе данных RepeatMasker для млекопитающих. Таким образом, наша работа демонстрирует новые возможности описания кариотипов методами NGS.

Работа поддержана грантом РФФИ 16-14-10009.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПРОСТРАНСТВЕННЫХ СТРУКТУР КОМПЛЕКСОВ УРИДИНФОСФОРИЛАЗЫ ХОЛЕРНОГО ВИБРИОНА С УРИДИНОМ И УРАЦИЛОМ.

Прокофьев И.И., Лашков А.А., Балаев В.В., Габдулхаков А.Г., Михайлов А.М.

ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН, Москва, Россия
prokoigor@mail.ru

Пиримидиновые азотистые основания – урацил (URA) и уридин (URI) – соединения, используемые клеткой для синтеза нуклеиновых кислот. Уридин и урацил являются субстратами прямой и обратной реакции синтеза нуклеозидов соответственно, катализируемой ферментом уридинфосфорилазой (UPh). Решены и уточнены пространственные структуры комплексов уридинфосфорилазы из патогенной бактерии *Vibrio cholerae* (*VchUPh*): *VchUPh_URI_{HR}* (разрешение - 1.03 Å, $R_{work} = 11.7\%$; $R_{free} = 13.7\%$; DPI= 0.03 Å, ID PDB: 5M2T), *VchUPh_URI_{LR}* (2.24 Å, 16.8%; 23.7%; 0.48 Å, 5C80) и *VchUPh_URA_{HR}* (1.28 Å, 13.3%; 16.9%; 0.05 Å, 5MIW) *VchUPh_URA_{LR}* (1.91 Å, 17.2%, 21.6%, 0.17 Å, 4OEN). При сравнении структур комплексов *VchUPh_URI_{HR}* с *VchUPh_URI_{LR}* и *VchUPh_URA_{HR}* с *VchUPh_URA_{LR}* не выявлено значительных структурных отличий в конформациях аминокислотных остатков (а.о.) сайта связывания: среднеквадратичное отклонение (r.m.s.d.) координат соответствующих атомов равно 0,25 Å и 0,19 Å для структур комплексов с URI и URA соответственно. Положение субстратов в сайте связывания также аналогично - r.m.s.d. координат атомов URI равно 0,21 Å, для URA - 0,17 Å. Итак, повышение разрешения не повлияло на точность определения взаимного положения а.о. сайтов связывания и субстратов. В некоторых субъединицах структур *VchUPh_URI_{HR}* и *VchUPh_URA_{HR}* наблюдается двойное положение фрагментов β-стрендов S5, S8 и петли L5, прилежащих к активному центру. В тех же субъединицах наблюдается частичная заселённость субстратов. Проведено попарное сравнение каждого из двойных положений фрагментов структур комплексов *VchUPh* с URI и URA с аналогичными участками структур *VchUPh* лигандированной уридином (ID PDB: 5M2T) нелигандированной *VchUPh* (ID PDB: 3O6V). Выявлено, что у одного из двойных положений каждого из фрагментов β-стрендов S5, S8 и петли L5 структур комплексов *VchUPh* с URI и URA нет структурных отличий в сравнении со структурой нелигандированной *VchUPh*, а у другого - структурных отличий в сравнении со структурой *VchUPh* лигандированной уридином. Помимо этого, в структуре комплекса *VchUPh_URA_{HR}* в субъединице E впервые обнаружено двойное положение а.о. фрагментов петли L11 и прилежащей к ней α7-спирали: с 228 номера а.о. по 237. Причиной формирования этого двойного положения послужило образование водородной связи His230/E с Phe6/F. При таком положении основная цепь петли смещена до 2.6 Å ближе к сайту связывания, в сравнении с традиционным закрытым положением петли.

Работа выполнена за счет базового бюджетного финансирования ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН и при финансовой поддержке гранта президента РФ № МК.9246.2013.3.

ИССЛЕДОВАНИЕ ДИАТОМОВЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ (BACILLARIOPHYTA) С ПОМОЩЬЮ КОНФОКАЛЬНОЙ РАМАН-МИКРОСКОПИИ

Романова Д.Ю.¹, Елецкая А.А.², Мосунов А.А.²

¹ФГБУН Институт морских биологических исследований им. А.О.Ковалевского, Севастополь, Россия; ²ФГАОУ
ВО Севастопольский государственный университет, Севастополь, Россия
diaromanova@yandex.ru

В последнее время в исследованиях микроводорослей используется конфокальная рамановская микроскопия, которая дает обширные данные по наличию в клетках фукоксантина, β-каротиноидов и других биологически активных веществ (БАВ), а также позволяет изучить молекулярные особенности структурной поверхности цитоскелета водорослей. Особенно это актуально для экомониторинговых работ, для изучения БАВ, вырабатываемых клетками, для целей и задач биотехнологии. Для исследований были выбраны клоновые культуры бентосных диатомовых водорослей, выделенные из географически удаленных популяций, обитающих на различной глубине, а так же принадлежащих к разным родам. Альгологически чистые культуры были получены микропипеточным способом с помощью 7х изолирования клетки, содержатся в коллекции отдела

экологии бентоса ИМБИ. Для исследований створок биоматериал 3х выдерживали в dH₂O 24 ч. Далее, к суспензии клеток добавляли равное количество H₂O₂ и вываривали 6 ч. Затем материал был отцентрифугирован и промыт dH₂O 10 раз. Для исследований была использована в качестве подложки кварцевая кювета. Перед приготовлением препаратов, кювета была тщательно очищена, обезжирена спиртовым раствором, затем промыта dH₂O и высушена при 100 °С. Для исследований суспензию панцирей диатомей помещали непосредственно на стерильную кварцевую кювету с использованием 10 мкл биоматериала. После этого препарат на кювете высушивался. Детекция клеток осуществлялась с помощью релеевского рассеивания, которое позволяет картировать исследуемый образец с использованием монохроматического лазерного излучения. Были получены рамановские спектрограммы одиночных створок и групп клеток. На кварцевую кювету помещалась биопленка исследуемой клонированной культуры или суспензия отдельно лежащих клеток. Кювета была подсушена, клетки находились в гидратированной оболочке. Перед началом эксперимента с помощью релеевского рассеивания было получено изображение исследуемого образца, что позволило получать раман-сигнал от глубинных слоев биопленки без поверхностных эффектов. Данные были получены на оборудовании ЦКП СевГУ: конфокальном микроскопе с инвертированной оптической схемой Nikon Ti-S с объективом Nikon CF Plan APO 100x, NA=0,95. Для детектирования релеевского изображения использовался HeNe-лазер с длиной волны 632,8 нм. Регистрация релеевского изображения клеток проводилась при помощи модуля детектирования HR-110-2. Получение раман-спектра проводилось при помощи детектора HS101H-2048/122.

ПРОАПОПТОТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСА ЦИТОХРОМА С С КАРДИОЛИПИНОМ И ВОЗМОЖНОСТИ ЕЁ ПОДАВЛЕНИЯ АНТИОКСИДАНТАМИ

Ромодин Л.А.¹, Зарудная Е.Н.¹, Владимиров Ю.А.²

¹ФГБОУ ВО МГАВМиБ - МВА им. К.И. Скрябина; ²ФГБОУ ВО МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия
rla2904@mail.ru

Выход цитохрома *c* в цитоплазму и запуск апоптоза, идущем в случае многих патологий по митохондриальному пути, результат липоксигеназной и липопероксидазной активностей комплекса ЦитС-КЛ, в котором молекула цитохрома *c* окружена монослоем кардиолипина, изучаемых ранее методами активированной хемилюминесценции (ХЛ) [2]. Однако до настоящего исследования не было объективной уверенности в том, что фиксированное хемилюминометрами свечение не обусловлено реакциями со свободным железом, находящимся в системе. Путём сравнения ХЛ трёх систем (соевый лецитин-Fe²⁺, соевый лецитин-пероксидаза хрена, ЦитС-КЛ) и оценивая влияние добавления комплексонов на железо (о-фенантролина и ЭДТА) различных концентраций было установлено, что ХЛ системы комплекс ЦитС-КЛ–перекись водорода обусловлена липоксигеназной и липопероксидазной функцией комплекса ЦитС-КЛ, а не свободными ионами Fe²⁺. Как ЭДТА, так и о-фенантролин подавляли Fe²⁺-индуцированную ХЛ, причём подавление это тем больше, чем выше концентрация комплексона, при этом указанные комплексоны не подавляли ХЛ в системах соевый лецитин-пероксидаза хрена и ЦитС-КЛ. Впервые установлена липоксигеназная и липопероксидазная активность митохондрий печени крысы (*Rattus norvegicus* линии *Wistar*). При этом нитрид (азид) натрия значительно усиливал образование липидных радикалов, что вероятнее всего связано с подавлением активности каталаз митохондрий. Методом активированной кумарином С-334 ХЛ было установлено угнетение липопероксидазной активности комплекса ЦитС-КЛ под влиянием дигидрокверцетина и временное её подавление тролоксом (появление латентного периода), что классифицирует их как антиоксиданты средней и высокой силы [1]. Таким образом, нами было показано наличие липопероксидазной активности в интактных митохондриях и установлено подавление этой активности в комплексе ЦитС-КЛ под действием антиоксидантов, что открывает дорогу дальнейшим исследованиям с целью разработки методов лечения заболеваний, связанных с патологическим апоптозом, в т.ч. с нейродегенеративными процессами.

1. Владимиров Г.К., Сергунова Е.В., Измайлов Д.Ю., Владимиров Ю.А. Хемилюминесцентная методика определения общей антиоксидантной активности в лекарственном растительном сырье // Вестник РГМУ /, 2, 2015. 65-71.
2. Владимиров Ю.А., Проскурнина Е.В., Алексеев А.В. Молекулярные механизмы апоптоза. Структура комплекса цитохрома *c* с кардиолипином. Обзор // Биохимия / 78, 10, 2013. 1391 - 404.

ИНТЕГРАЦИЯ И АВТОМАТИЧЕСКОЕ ПОСТРОЕНИЕ МАТЕМАТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ СЕТЕЙ

Ермак Т.В.^{1,2}, Рясик А.А.², Орлов М.А.², Зыкова Е.А.², Джелядин Т.Р.², Сорокин А.А.²

¹ИЦиГ СО РАН; ²ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

timofei.ermak@live.com

В наше время трудно переоценить значимость исследований метаболических сетей. Так, задачи, связанные с пониманием и изменением процессов метаболизма решаются в контексте: создания клеток-суперпродуцентов; диагностики заболеваний; расширения фундаментальных знаний о метаболизме и т.д. Применение математического моделирования в ходе решения вышеописанных задач может сократить финансовые и временные затраты на проведение исследований. Целью данной работы является разработка методов и инструментов для интеграции и автоматической сборки потоковых моделей (flux models) метаболических сетей. В качестве платформы для интеграции используется база данных БиоГраф. Эта база разработана авторами данной работы и представляет собой графовое хранилище биологических данных, описывающих жизнедеятельность организмов на разных уровнях: уровень генов, белков, метаболитов и т.д., также функциональные связи между этими уровнями. Интеграция существующих моделей происходит путем загрузки в базу данных информации из файлов в формате SBML. При загрузке происходит создание объектов, полученных из модели (необходимая информация о реакциях), и определение функциональных связей с существующими объектами в базе данных (метаболитами, ферментами, организмом и т.д.). Другими словами, модель преобразуется в графовое представление и сохраняется в базу данных. Построение модели представляет собой обратный процесс: выбор необходимых объектов из базы данных и объединения их в единую модель в формате SBML. В результате данный инструмент позволяет осуществлять сборку потоковых моделей метаболических сетей, на основании ранее загруженных данных и взаимоотношений между объектами, такими как подобие нуклеотидных и аминокислотных последовательностей. Валидация сгенерированной модели проводилась с использованием инструмента COBRApy (<https://github.com/opencobra/cobrapy>), который позволяет найти оптимальное значение потоков метаболической сети. В качестве первого шага была использована модель организма *E. coli* W - iECW_1372 (http://bigg.ucsd.edu/models/iECW_1372), проведена ее загрузка, затем выгрузка и сравнение исходной и сгенерированной моделей. Значения потоков в обеих моделях полностью совпадают. В дальнейшем такой инструмент позволит собирать модели метаболических сетей для новых, ранее не изученных, штаммов на основании информации о гомологии белков, а также создавать модели популяций бактерий, в том числе микробиоты человека. Исходный код разработанных программных модулей доступен по ссылке <https://github.com/arc7an/scalaBiomeDB>.

Работа поддержана грантом РФФИ №15-07-0588915

КЛАССИФИКАЦИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ УЧАСТКОВ ГЕНОМА E.COLI НА ОСНОВЕ ФИЗИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ДНК

Рясик А.А.¹, Орлов М.А.¹, Зыкова Е.А.¹, Ермак Т.В.², Сорокин А.А.¹

¹ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия; ²ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

arc7an@gmail.com

Процесс полимеразно-промоторного узнавания является многостадийным. Для того чтобы процесс инициации транскрипции был эффективным необходимо на каждом его этапе выполнение специфических условий. Следовательно при поиске промоторов важно учитывать физические процессы, которые происходят на каждом этапе узнавания промотора РНК-полимеразой. Однако на сегодняшний день основным подходом к предсказанию промоторов является текстовый анализ и поиск консервативных мотивов в различных промоторах. Такой подход противоречит предположению о многостадийности узнавания, т.к. каждый мотив может выполнять несколько функций на различных этапах взаимодействия и сам факт наличия мотива не гарантирует надежности предсказания. Поэтому мы предлагаем решать задачу предсказания положения промоторов на хромосоме анализом распределения физических характеристик вдоль хромосомы. Как было ранее показано в нашей лаборатории (в качестве характеристики был выбран электростатический потенциал), данный подход показал лучшие результаты по сравнению с предсказаниями, сделанными только на основе анализа нуклеотидных текстов. В данной работе мы решили для увеличения точности предсказаний использовать одновременно несколько характеристик различной природы: динамические характеристики открытых состояний — их энергия активации и размер, распределение электростатического потенциала на поверхности ДНК, а также текстовая характеристика — GC-состав. Для классификационного анализа были подготовлены пять наборов фрагментов ДНК в равных соотношениях на основе генома *E.coli*:

экспериментально подтвержденные промоторы, гены, антипромоторы, промоторные островки и участки ДНК, находящиеся на расстоянии не менее 300 п.о. от известных промоторов (непромоторы). На основе полученных физических характеристик для данных фрагментов были построены классификаторы для разделения промоторов от остальных типов фрагментов методами Naive Bayes и Random Forest. Анализ результатов обучения показал, что модели на основе алгоритма Random Forest имеют наибольшие параметры точности, специфичности и чувствительности для всех групп, по сравнению с Naive Bayes.

Работа поддержана грантом РФФИ №16-37-00303 мол_a.

РОЛЬ СЕРОТОНИНА И МЕЛАТОНИНА В РЕГУЛЯЦИИ СУТОЧНОЙ МИТОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ У ПЛАНАРИЙ *SCHMIDTEA MEDITERRANEA*

Скавуляк А.Н.¹, Ермаков А.М.^{1,2}, Крещенко Н.Д.¹

¹ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия; ²ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия
nkreshch@rambler.ru

Серотонин в организме человека и млекопитающих выполняет функцию нейромедатора и нейромедиатора, оказывая влияние на нервную деятельность, сокращение гладкой мускулатуры кишечника, матки, бронхов, сужение сосудов. Биологическая роль серотонина заключается также в регуляции сна, поддержании психоэмоциональных реакций: страха, тревоги и беспокойства. Функция серотонина у планарий плохо изучена. Планарии – являются биологическим объектом при изучении процессов регенерации, морфогенеза, роста и развития. Деление клеток обеспечивает передачу наследственной информации, физиологическую и репаративную регенерацию органов и тканей, сохранение и восстановление тканевого гомеостаза. В работе изучали динамику пролиферативной активности стволовых клеток планарий *Schmidtea mediterranea*. Для выявления митотических клеток использовали первичные антитела на фосфорилированный гистон-3 и вторичные иммуноглобулины с флуоресцентным зондом. В течение суток, каждые два часа фиксировали по 12 животных, окрашивали препараты, и изучали их с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа. Определяли число митотических клеток на единицу площади тела. Планарии находились в условиях постоянного затемнения, в опыте добавляли в среду содержания раствор серотонина или мелатонина. У животных контрольной группы в течение суток наблюдали ритмические колебания пролиферативной активности клеток с периодом около 4 часов. Распределение пиков митотической активности в течение суток имело многовершинный характер при абсолютном максимуме (151 ± 3.8), наблюдавшемся в 16 ч дня и абсолютном минимуме, отмеченном в 2 ч ночи (108 ± 4.5 клеток на мм²). Серотонин (10-6М) изменял суточный ритм пролиферативной активности, сглаживая ритмические колебания, наблюдаемые у животных контрольной группы. Оказалось также, что серотонин снижал общий уровень пролиферации, при этом суммарное число митотических клеток составило 76% от контроля. Сходную картину наблюдали при добавлении мелатонина (10-6М), с той лишь разницей, что уровень пролиферативной активности в теле планарий в присутствии мелатонина был выше, а пик пролиферативной активности был сдвинут на 4-6 часов относительно группы с серотином. Общее число митотических клеток у животных, находящихся под воздействием мелатонина, составило 81% от контрольного уровня. Обнаруженное влияние серотонина и мелатонина на изменение суточной пролиферативной активности стволовых клеток планарий свидетельствует о возможном участии данных нейромедиаторов в формировании или регуляции циркадианных ритмов у этих организмов. Работа поддержана грантом РФФИ 15-04-05948а.

О МЕХАНИЗМЕ ГЕМОЛИЗА ЭРИТРОЦИТОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ БИЯДЕРНЫХ ТЕТРАНИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА – ДОНОРОВ ОКСИДА АЗОТА

Соколова Е.М., Нешев Н.И., Психа Б.Л., Руднева Т.Н., Сень В.Д., Санина Н.А.

ФГБУН Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка, Россия
sem89@icp.ac.ru

В эритроците существует невысокий, но относительно постоянный уровень генерации супероксида, который непрерывно образуется в реакции автоокисления оксигемоглобина. Как известно, одновременное присутствие в среде оксида азота и супероксида приводит к образованию пероксинитрита, с которым обычно связывают цитотоксические эффекты NO. Ранее нами было показано, что биядерные тетранитрозильные комплексы железа с тиолсодержащими лигандами (Б-ТНКЖ) вызывают гемолиз разбавленной суспензии эритроцитов. Было высказано предположение, что источником гемолитической активности Б-ТНКЖ является оксид азота, а непосредственным химическим индуктором гемолиза - пероксинитрит. Данная работа посвящена анализу возможного механизма реализации пероксинитритзависимой цитотоксичности в

эритроците. С учетом того, что действие многих цитотоксических эффекторов включает стадию активации пероксидного окисления липидов (ПОЛ), мы сравнили действие на эритроциты Б-ТНКЖ с эффектами классического активатора ПОЛ, третбутилгидропероксида (t-BuOОН). Была исследована зависимость скорости гемолиза под действием двух Б-ТНКЖ и t-BuOОН от температуры. Представление полученных данных в координатах Аррениуса выявило существенное различие в тангенсах угла наклона соответствующих графиков. Это указывало на незначительные различия в энергиях активации гемолиза, что могло указывать на различие в механизмах гемолиза в этих двух случаях. Также было проведено прямое определение продуктов ПОЛ в эритроцитах с помощью ТБК-теста. Наблюдалось характерное для t-BuOОН концентрационно-независимое нарастание уровня ТБК-реактивных продуктов. В случае Б-ТНКЖ образование ТБК-реактивных продуктов не регистрировалось. Гемолиз эритроцитов под действием Б-ТНКЖ эффективно подавлялся при добавлении в систему тиолового антиоксиданта ацетилцистеина, тогда как антирадикальные ингибиторы, фенозан и темпол, были неэффективны. Это полностью согласуется с литературными данными, согласно которым гемолиз эритроцитов под действием синтетического пероксинитрита был нечувствителен к действию антирадикальных ингибиторов и, одновременно, эффективно ингибировался ацетилцистеином. Делается вывод, что гемолитическое действие Б-ТНКЖ реализуется через известный для пероксинитрита механизм повреждения сульфгидрильных центров в клетке. Так, к нарушению осмотического равновесия с последующим гемолизом клетки может приводить ингибирование Na/K - АТФазы, связанное с окислением сульфгидрильной группы в ее активном центре.

ВЫЯВЛЕНИЕ РОЛИ ФАГОМА В РАСПРОСТРАНЕНИИ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГЕНОМНЫХ И МЕТАГЕНОМНЫХ ДАННЫХ

Старикова Е.В.¹, Rands Ch.², Zdobnov E.², Тяхт А.В.¹, Говорун В.М.¹

¹ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА; ²University of Geneva
hed.robin@gmail.com

Повышение распространения антибиотикорезистентности за последние годы связывают с широким использованием антибиотиков, что приводит к изменению характера эволюционных процессов в микробных сообществах. Известно, что гены антибиотикорезистентности могут распространяться путем горизонтального переноса, осуществляемого мобильными генетическими элементами. Целью работы являлось обнаружение свидетельств потенциального переноса генов антибиотикорезистентности (АР) бактериофагами в микробиоте кишечника человека, а также в других микробных сообществах. Поиск свидетельств осуществлялся с использованием трех биоинформатических подходов: картирования вирусных метагеномов на базу данных генов антибиотикорезистентности, анализа геномов изолятов бактерий родов *Enterococcus* на основе поиска гомологии кодирующих последовательностей и анализа колокализации генов АР и профагов в метагеномах кишечника человека. Поиск генов антибиотикорезистентности в составе последовательностей свободных вирусных частиц производился путем анализа 257 вирусных метагеномов, полученных из различных микробных окружений. В результате картирования метагеномных ридов на последовательности генов базы данных антибиотикорезистентности CARD было обнаружено 75 генов АР различных типов в 21 из 257 проанализированных метавирионов. Поиск профагов в геномных сборках изолятов бактерий рода *Enterococcus* производился с использованием программы PHASTER и Resistance Gene Identifier. С помощью этого подхода было обнаружено 57 умеренных фагов в геномах 20 штаммов *E. faecalis* и *E. faecium*. В трех штаммах была обнаружена фаговая последовательность, содержащая гены эффлюкс-системы *efrAB*. В одном из геномов была обнаружена последовательность фага, содержащая гомолог гена *mpfF*. В целях поиска метагеномных вариантов известных генов антибиотикорезистентности нами был аннотирован интегрированный каталог генов микробиоты кишечника человека IGC с использованием скрытых марковских моделей (HMM). В метагеномных сборках образцов, из которых был получен каталог генов IGC, было обнаружено 862 предположительно профаговых региона, содержащих как минимум один ген антибиотикорезистентности. Полученные данные могут свидетельствовать о переносе ряда генов антибиотикорезистентности в микробиоте при участии бактериофагов.

Работа была проведена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 16-54- 21012).

ЛАЗЕР-ИНДУЦИРОВАННАЯ ВАЗОДИЛАТАЦИЯ КАК МЕТОД ТЕСТОВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА МИКРОЦИРКУЛЯТОРНУЮ СЕТЬ

Стюхина Е.С., Курочкин М.А., Федосов И.В., Постнов Д.Э.

ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», Саратов, Россия
ells03@yandex.ru

В результате неуклонного роста пространственного разрешения и быстродействия аппаратуры регистрации изображений возникают разнонаправленные векторы совершенствования оптических методов. С одной стороны, появилась возможность анализировать не один сосуд, а целый сегмент сети микроциркуляции (МС). С другой стороны, улучшение тех же параметров позволяет нацелиться на тестирование отдельных небольших участков сосуда. Это особенно перспективно в плане получения информации о функционировании клеточных слоев стенки сосуда, которые обеспечивают динамическую регуляцию его степени упругости в ответ на различное изменение внешних условий. В данной работы мы исследуем возможность применения эффекта вызванного лазерным излучением обратимого изменения диаметра кровеносного сосуда в качестве функциональной пробы МС. Для этой цели мы совмещаем такое воздействие с методом микро-PIV (particle image velocimetry), который дает информацию как о динамике кровотока в соседних сегментах, так и (косвенно) об изменениях их диаметров. В качестве биологической модели кровеносной системы использовалась хориоаллантоисная оболочка куриного эмбриона, которая представляет собой обширную МС, способствующую нормальному жизнеобеспечению эмбриона. Экспериментальным исследованиям предшествовала инкубация эмбрионов, и, как вариант – их выращивание вне скорлупы в чашке Петри. Воздействие на кровеносные сосуды мы проводили с помощью лазера видимого диапазона (зеленый и голубой), и оптической системы, позволяющей одновременно визуализировать, фокусироваться и воздействовать на отдельный участок сосуда МС. Был разработан экспериментальный протокол, при котором дозированное лазерное излучение вызывает обратимое расширение или сжатие сосуда, без его пережигания или образования тромба. В ходе экспериментов фиксировалось изменение диаметров сосудов и скорости потока эритроцитов в них. Преимущественно, в экспериментальных сериях наблюдалась вазодилатация сосудов. В отдельных случаях после прекращения воздействия диаметр сосудов восстанавливался к исходным значениям. При расширении сосуда после первого и последующих воздействий, мы могли видеть увеличение скорости после первого воздействия, и резкое падение после последующих. В случаях с однократным воздействием, после которого происходила вазоконстрикция, скорость потока падала, а затем восстанавливалась вместе с размером сосуда. В целом, полученные результаты подтверждают перспективность разработанного метода как неразрушающей бесконтактной пробы для целей диагностики отклика фрагмента МС.

Работа поддержана грантом РФФИ №16-15-10252.

МАГНИТНАЯ РЕЛАКСАЦИЯ ВОДЫ В КЛЕТКАХ КОРНЕЙ КУКУРУЗЫ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ ВНЕШНЕГО ДАВЛЕНИЯ

Суслов М.А.¹, Аль-Хаффаф И.², Анисимов А.В.¹

¹ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН; ²ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
makscom87@mail.ru

Фактор давления, наряду с температурой, имеет важное физиологическое значение в развитии биологических организмов. Известно, что подавление фотосинтеза и роста растений ниже субальпийского пояса связано именно с повышением атмосферного давления. При этом давление способно оказывать влияние не только через механическое воздействие, но и в результате растворения под давлением газов атмосферного воздуха, одним из которых является кислород. Наличие заметной газовой компоненты в тканях наземных растений и ее связь с водным обменом в литературе мало обсуждается, при этом явление газообмена в растениях представляет самостоятельную проблему. Стоит отметить, что биологические исследования с применением внешнего давления не многочисленны. В данной работе, с использованием релаксационного метода спин-эхо ЯМР и техники генерации статического давления, показано, что при возмущении гидродинамической системы сегментов корня кукурузы (*Zea mays L.*) внешним давлением до 3 МПа происходит изменение скорости магнитной релаксации воды. Показано, что атмосферный кислород является заметным источником магнитной релаксации воды в клетках растений. Причина изменений времен релаксации связана с растворением под давлением дополнительного объема кислорода воздуха (кислородный допинг). Положительное по отношению к атмосферному давление воздуха приводит к увеличению скорости магнитной релаксации воды в растительной ткани, отрицательное давление – к снижению. Под давлением концентрация

кислорода в клетках кукурузы линейно растет от времени до достижения равновесного состояния. Кислородный допинг является причиной увеличения проницаемости плазмалеммы. Увеличение проницаемости может быть связано с интенсификацией перекисного окисления липидов и деструктивными изменениями мембран при воздействии давлением. Колебания атмосферного давления, которые зачастую не учитываются при измерениях времен релаксации, могут быть одной из причин разброса экспериментальных релаксационных данных.

Работа поддержана грантом РФФИ № 16-34-00823

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ВНЕКЛЕТОЧНОГО КАЛЬЦИЯ В РЕГУЛИРОВАНИИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

Хотина В.А., Гюппенен М.А., Наквасина М.А.

ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия
nafany905@gmail.com

Одной из центральных проблем биофизики клетки является исследование механизмов функционирования иммунных клеток человека в норме, в условиях воздействия физико-химических факторов и при развитии патологических состояний организма. Важным регулятором структурно-функционального состояния клеток является кальций, который участвует в процессах стабилизации мембран, мембранного транспорта, передачи информации в клетку, активации ферментов, межклеточной коммуникации, клеточной гибели. Нарушения уровня кальция в крови сопровождают целый ряд патологий: эндокринные и опухолевые заболевания, почечную недостаточность, острый панкреатит, сепсис, СПИД, туберкулез и др. С целью расширения представлений о роли внеклеточного кальция в регулировании структурно-функциональных свойств лимфоцитов человека исследовано его влияние на уровень активности ряда ключевых ферментов, метаболический индекс, состояние поверхности и процессы клеточной гибели иммунных клеток. Нами с использованием методов спектрофотометрии, флуоресценции и проточной цитофлуориметрии выявлено, что в «бескальциевой» среде и в среде с избытком кальция (13 ммоль/л) происходят значительные изменения метаболических процессов (снижение уровня РНК, активности лактатдегидрогеназы, сукцинатдегидрогеназы, глутатионредуктазы; повышение уровня активности Ca^{2+} -АТФазы), жизнеспособности и состояния поверхности лимфоцитов по сравнению с таковыми для клеток в присутствии кальция в нормальной концентрации (1,3 ммоль/л). При электронно-микроскопическом исследовании поверхностной архитектоники лимфоцитов в среде с дефицитом кальция в отличие от контроля (концентрация кальция – 1,3 ммоль/л) обнаружены округлые («апоптотические») клетки без выростов, в среде с избытком кальция – округлые, значительно деформированные клетки. Показано, что в условиях дефицита и избытка кальция в среде суспендирования лимфоцитов запускаются процессы гибели лимфоцитов преимущественно по механизму апоптоза (митохондриальный путь) и в меньшей степени – некроза.

МЕТОДЫ ОБРАБОТКИ ПУЛЬСОВЫХ ВОЛН ДЛЯ МОНИТОРИНГА АКТИВНОСТИ ЦЕНТРАЛЬНЫХ МЕХАНИЗМОВ РЕГУЛЯЦИИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

Цой М.О., Постнов Д.Э., Рогатина К. В.

Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия
dethaos@bk.ru

Несмотря на сложившуюся систему представлений о физиологических механизмах регуляции сосудистого тонуса, вопрос о соотношении вкладов системных и локальных регуляторных факторов остается открытым. В этой связи интересным представляется подход, основанный на оценке частотно-временных характеристик сигналов, детектируемых на разных участках сосудистой системы (СС). Один из широко известных методов оценки упругости сосудистой стенки - анализ пульсовых волн. При всей простоте метода в измерениях на больших фрагментах СС, при попытке извлечь больше информации из локализованных измерений, возникают трудности в процессах получения, предобработки и частотно-временного разделения составляющих сигналов. Необходимо адаптировать стандартные алгоритмы обработки и оптимизировать методы измерения. Настоящая работа направлена на разработку метода анализа скорости распространения пульсовой волны (СРПВ) с применением неинвазивных технологий детектирования (как контактной, так и бесконтактной фотоплетизмографии, iPPG, [1]) в целях поиска синхронизма вариаций пульсовых волн правой и левой руки. Для выявления взаимосвязи рядов СРПВ применен метод вейвлет-когерентности [2]. Полученные результаты свидетельствуют о наличии корреляции на частотах быстрых колебаний (0.2-0.4 Гц), что свидетельствует о вкладе центрального механизма регуляции СРПВ. Во второй части работы исследуются особенности применения бесконтактного метода совместно с электрокардиограммой, предложен алгоритм

обработки сигналов iPPG с применением фильтра, учитывающий информацию о текущей вариабельности сердечного ритма. Особое внимание уделено попытке обойти ограничения, накладываемые низкой частотой кадров записи, характерной для таких популярных устройств, как видекамера смартфона. При попытке выявить синхронные колебания для iPPG по алгоритму, составленному для контактного детектирования, обнаружено, что метод позволяет достоверно определить вариабельность сердечного ритма с ограничениями по вычислению временных характеристик пульсовых волн. В целом, полученные результаты подтверждают перспективу дальнейшей разработки бесконтактной фотоплетизмографии.

1. Allen J., Ringwood J.V. Photoplethysmography and its application in clinical physiological measurement - *Physiological Measurement* 28, 2007, 1-39 с.
2. Grinsted A.J., Moore C., Jevrejeva S. Application of the cross wavelet transform and wavelet coherence to geophysical time series, *Nonlinear Proc. Geophys.*, 11(5–6), 2004, 561–566 с.

СОЗДАНИЕ КЛЕТОК, СТАБИЛЬНО ДЕТЕКТИРУЮЩИХ НАНОМОЛЯРНЫЕ КОНЦЕНТРАЦИИ СЕРОТОНИНА

Черкашин А.П., Быстрова М.Ф., Рогачевская О.А.

ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия

a.p.cher@yandex.ru

Серотонин - один из основных нейромедиаторов, который содержится в пресинаптических везикулах и высвобождается в ответ на стимуляцию. В экспериментах *in vitro* часто требуется регистрация выброса серотонина из одиночной клетки, что означает детекцию наномолярных концентраций в локальном участке экспериментальной камеры, и методологически это может быть решено с помощью клеток-сенсоров. Рецепторы серотонина представлены одним семейством ионотропных (5-HT₃) и шестью семействами метаботропных (5-HT₁, 5-HT₂ и 5-HT₄₋₇) рецепторов, из которых только 5-HT_{2C}R сопряжен с мобилизацией внутриклеточного Ca²⁺ через G_q/G₁₁ белки, и характеризуется низким (нМ) порогом активации и коротким временем инактивации. Таким образом клетки, экспрессирующие 5-HT_{2C}R, будут реагировать на появление серотонина в растворе повышением внутриклеточного Ca²⁺, что можно регистрировать микрофотометрически с помощью флуоресцентных зондов. Для получения клеток-сенсоров серотонина мы клонировали полноразмерную кДНК рецептора 5-HT_{2C} из мозга мыши в вектор pDsRed-Monomer-Hyg-N1, который обеспечивает экспрессию химерного белка, представляющего собой 5-HT_{2C}R с присоединенным на N-конце красным флуоресцентным белком DsRed. Красный белок позволяет визуализировать клетки, экспрессирующие 5-HT_{2C}R, выявлять локализацию рецептора внутри клетки, и не препятствует измерению внутриклеточных Ca²⁺-сигналов с использованием флуоресцентных зондов, эмиссия которых наблюдается в зеленой области спектра. Полученным вектором были трансфицированы клетки СНО, которые на первом этапе оценивались визуально по флуоресценции DsRed. Конфокальная фотометрия показала, что красное свечение локализовано на мембранах клеток СНО, что подтверждает встраивание экспрессируемого 5-HT_{2C}R в мембрану. Далее были проведены физиологические эксперименты по исследованию функциональности химерного рецептора и чувствительности клеток СНО с временной экспрессией 5-HT_{2C}R к серотонину с использованием зонда Fluo-4 методом Ca²⁺-imaging. Аппликация серотонина в концентрации 10 нМ приводила к генерации Ca²⁺-сигналов, уверенно детектируемых в цитоплазме клеток-сенсоров, порог чувствительности составил порядка 1нМ. Отсутствие реакции на ряд других нейромедиаторов (АТФ, ацетилхолин и т.д.) в физиологических концентрациях свидетельствует о высокой селективности клеток СНО/5-HT_{2C}R, которые могут быть использованы для получения клеток-сенсоров со стабильной экспрессией 5-HT_{2C}R.

Работа выполнена в рамках гранта РФФИ № 14-04-01941_а.

ВЛИЯНИЕ 3-ГИДРОКСИКИНУРЕНИНА И СИНТЕТИЧЕСКОГО АНТИОКСИДАНТА DTVA НА ПРОЦЕССЫ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ

Черникова Д.А.¹, Никитина Е.А.^{2,1}, Журавлев А.В.²

¹ФГБОУ ВО Российский государственный педагогический университет им.А.И.Герцена, Санкт-Петербург, Россия; ²ФГБУН Институт физиологии имени И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

keyan@bk.ru

Более 90% триптофана в организме окисляется по кинурениновому пути обмена триптофана (КПОТ) с образованием промежуточного продукта – 3-гидроксикинурина (ЗНОК). Нарушения КПОТ могут приводить к накоплению в организме ЗНОК, являющегося генератором оксидативного стресса и, как следствие, к развитию нейродегенеративных заболеваний (НДЗ). Антиоксиданты способны ингибировать процессы свободнорадикального окисления, взаимодействуя с активными радикалами и нейтрализуя их с образованием

малоактивных радикалов. ЗНОК, как и синтетический антиоксидант 4-гидрокси-3,5-ди-третбутилкоричная кислота (DTBA), обладает свойствами антиоксиданта, обусловленными присутствием в ароматическом кольце ОН-группы, которая легко отдает атом водорода свободным радикалам. Однако в процессе окисления ЗНОК образуются активные радикальные формы, запускающие в клетке процессы оксидативного стресса. Цель настоящей работы: методами квантово-химических расчетов оценить про- и антиоксидантную активность ЗНОК и DTBA. Расчеты велись методом B3LYP/6-311G** с использованием программы Firefly 8.1.0. (предоставлена Alex A. Granovski). Взаимодействие ЗНОК и DTBA с продуктом перекисного окисления липидов – бутилпероксильным радикалом – моделирует их антиоксидантную активность в клетке. Реакция радикалов ЗНОК* и DTBA* с бутаном, приводящая к отрыву атома водорода, моделирует прооксидантную активность данных соединений. Сравнительный анализ энергий и констант скоростей реакций показал, что антиоксидантная активность ЗНОК и DTBA и их способность ингибировать перекисное окисление липидов существенно выше, чем способность радикалов ЗНОК* и DTBA* окислять липиды. Антиоксидантные свойства ЗНОК несколько выше, чем у DTBA, что согласуется с данными предыдущих исследований (согласно расчетам, проведенным ранее). Токсические эффекты ЗНОК в клетке, по-видимому, обусловлены продуктами его окислительной димеризации, сам же по себе ЗНОК обладает выраженными антиоксидантными свойствами.

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-04-07738

ПРОИЗВОДНЫЕ СТЕРОИДОВ, МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ПО D-КОЛЬЦУ, КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ИНГИБИТОРЫ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО АНДРОГЕНОВОГО РЕЦЕПТОРА.

Щербаков К.А.¹, Веселовский А.В.^{1,2}

¹ФГБОУ ВО Марийский государственный университет, Йошкар-Ола, Россия; ²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича»

kirill.soff@gmail.com

Наиболее распространённым онкологическим заболеванием у мужчин в развитых странах является рак простаты. Проплиферация раковых клеток стимулируется мужскими половыми гормонами, поэтому одно из основных направлений терапии рака предстательной железы основано на ингибировании синтеза андрогенов (основная мишень - цитохром P450 17A1) или их взаимодействия с андрогенным рецептором (АР). Андрогенный рецептор относится к суперсемейству ядерных рецепторов и является типичным лиганд-зависимым фактором транскрипции. В составе рецептора выделяют три основных домена: N-концевой домен (NTD), ДНК-связывающий домен (DBD) и лиганд-связывающий домен (LBD). Основной мишенью при разработке новых антиандрогенов является LBD. Связывание лиганда (тестостерона или дигидротестостерона) с LBD андрогенового рецептора вызывает целый ряд событий: диссоциацию комплекса АР с белками теплового шока HSP90 (форма существования неактивного АР), димеризацию комплекса АР-лиганд, транслокацию активированного димера в ядро и его связывание с промотером целевых генов. Ингибиторы андрогенового рецептора имеют различную химическую природу, однако, часть из них является производными тестостерона и дигидротестостерона, модифицированными по С17-атому стероидного D-кольца: гидроксильная группа при С17 заменяется на какой-либо массивный заместитель. Нами в пакете Vina Autodock был проведён докинг ряда подобных соединений в лиганд-связывающий домен человеческого андрогенового рецептора. Расчёты показали, что молекулы этих веществ ложатся весьма близко к лигандам-агонистам: стероидные фрагменты ориентируются одинаково, сохраняются ключевые гидрофобные взаимодействия и водородные связи. Однако, по нашим предположениям, наличие массивных заместителей при С17-атоме исследуемых соединений должно приводить к их антагонистическому воздействию на андрогеновый рецептор. Предполагаемый механизм воздействия данных веществ планируется изучить в результате расчётов молекулярной динамики для комплексов, полученных в ходе докинга.

СРАВНЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ КАРДИО-РЕСПИРАТОРНОЙ СИСТЕМЫ УЧАЩИХСЯ ЮГРЫ

Эльман К.А., Срыбник М.А., Глазова О.А.

БУ ВО Сургутский государственный университет, Сургут, Россия

elmanka@bk.ru

Общеизвестно, что в ответ на любые изменения среды в первую очередь обычно реагирует сердечнососудистая система. В нормальных условиях процессы регуляции сердечной деятельности обеспечивают соответствие между количеством крови, поступающей за единицу времени в сосудистую систему, и уровнем обмена веществ в организме. Вопросы изучения адаптационных возможностей детского организма к экстремальным экологическим факторам Югры являются актуальным и в этой связи выполнение сравнительного анализа параметров *вариабельности сердечного ритма* (BCP) у представителей коренного и

пришлого населения Югры, составило цель настоящего исследования. В нашей работе мы представляем результаты тестирования 150 учащихся (девочек - 75 и мальчиков – 75 чел.) трёх возрастных групп по 25 человек в каждой: 1-я группа -7-10 лет; 2-я группа 11-14 лет; 3-я группа – 15-17 лет. Статистическая обработка полученных данных производилась с использованием программы *Statistica 6.1*. В данной работе более подробно мы остановились на рассмотрении пятнадцати параметров ВСП: x_1 – *SIM* – индекс активности симпатического отдела вегетативной нервной системы, условных единиц; x_2 – *PAR* – индекс активности парасимпатического отдела вегетативной нервной системы, условных единиц; x_3 – *SDNN* – среднее квадратичное отклонение (стандартное отклонение всех R-R интервалов), мс; x_4 – *INB* – индекс напряжения (по Р.М. Баевскому); x_5 – *SpO₂* – концентрация оксигемоглобина в крови, %; x_6 – *pNN50* – процентная представленность эпизодов различия последовательных интервалов более чем на 50 мс; x_7 – *TINN* – индекс триангулярной интерполяции, мс.; x_8 – *HR* – частота сердечного ритма, уд/мин.; x_9 – *VLF* – спектральная мощность очень низких частот, мс²; x_{10} – *LF* – спектральная мощность низких частот, мс²; x_{11} – *HF* – спектральная мощность высоких частот, мс²; x_{12} – *Total* – общая мощность спектра, мс²; x_{13} – *LF(p)* – относительное значение мощности волн низкой частоты, %; x_{14} – *HF(p)* – относительное значение мощности волн высокой частоты, %; x_{15} – *LF/HF* – коэффициент вагосимпатического баланса: отношение мощности волн низкой частоты (*LF*) к мощности волн высокой частоты (*HF*). Сравнительный анализ учащихся позволил установить наличие тенденций по ряду параметров variability сердечного ритма к более высокому адаптационному потенциалу у учащихся Югры. При этом тенденции различия ВСП у девочек более выражены, чем в группах мальчиков. Наряду с экстремальными климатическими факторами Севера, оказывающими влияние на сердечный ритм, играет роль стрессогенный фактор урбанизированной среды, в которой проживают учащиеся СОШ №4, г. Сургута.

ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ ФОРМИРОВАНИЯ АМИЛОИДНЫХ АГРЕГАТОВ ГЛАДКОМЫШЕЧНОГО ТИТИНА IN VITRO

Якупова Э.И.^{1,2}, Шоно Я.А.³, Вихлянцев И.М.^{1,2}, Бобылёв А.Г.^{1,2}

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия; ²ФГБОУ ВПО
Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия; ³ФГБОУ ВО Кубанский
государственный университет, Краснодар, Россия

yakupova.mira@mail.ru

В настоящее время принято считать, что амилоиды – это белковые агрегаты, имеющие кросс-β структуру, которая отвечает за такие свойства объекта как: связывание с красителями Конго красным и тиофлавином Т, двойное лучепреломление в поляризованном свете, устойчивость к воздействию растворителей и протеаз. Большая часть известных на сегодняшний день амилоидов ассоциирована с заболеваниями, называемыми амилоидозами, к которым относятся болезнь Альцгеймера, Паркинсона, диабет второго типа и др. Существует понятие «амилом», обозначающее совокупность белков, потенциально способных формировать амилоидоподобные агрегаты. Благодаря нашим ранним исследованиям к таким белкам можно отнести и гладкомышечный титин (ГТ). В данной работе методом динамического светорассеяния была исследована динамика формирования амилоидных агрегатов ГТ (м.м. ~1500 кДа) *in vitro* при температуре 10°C. В препаратах титина до начала формирования агрегатов наблюдалось присутствие только двух фракций частиц, имеющих средние гидродинамические радиусы ~30 нм и ~170 нм. Первая фракция, по всей вероятности, соответствует молекулам ГТ, в то время как вторая может указывать на незначительную агрегацию молекул ГТ. После 20 мин. инкубации наблюдался сдвиг размерных фракций на значения ~100 нм и ~970 нм, что свидетельствует об агрегации титина. После 40 мин. эксперимента наблюдалось появление преобладающей фракции частиц с гидродинамическим радиусом ~2330 нм. По истечению 50 мин. были обнаружены агрегаты размером более 8000 нм, что выходит за пределы чувствительности метода. Таким образом, проведенное исследование показало высокую скорость амилоидной агрегации у гладкомышечного титина *in vitro*. Выяснение возможной роли агрегации данного белка в развитии мышечных амилоидозов или в выполнении физиологических функций является предметом нашей дальнейшей работы.

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ АТФ И ЛЮМЕНАЛЬНОГО КАЛЬЦИЯ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ РИАНОДИНОВОГО РЕЦЕПТОРА СЕРДЕЧНОЙ КЛЕТКИ

Япаров Б.Я.¹, Москвин А.С.¹

¹Уральский Федеральный Университет, Екатеринбург, Россия
bogdan.iaparov@urfu.ru

АТФ играет важную роль в электромеханическом сопряжении, являясь источником энергии для мышечного сокращения, активного транспорта и регулируя активность ионных каналов. Voltage clamp эксперименты по влиянию АТФ на функционирование рианодинового рецептора сердечной клетки (RyR2), который высвобождает кальций из саркоплазматического ретикулула в цитозоль, показывают, что:

- при увеличении концентрации АТФ со стороны цитозоли увеличивается вероятность пребывания в открытом состоянии P_{open} как за счёт увеличения среднего времени пребывания в открытом состоянии, так и за счёт уменьшения среднего времени пребывания в закрытом состоянии;
- активация АТФ зависит от концентрации Ca^{2+} в люмене саркоплазматического ретикулула таким образом, что полная активация АТФ происходит только при больших концентрациях Ca^{2+} в люмене (> 10 мМоль), при низких концентрациях люменального Ca^{2+} АТФ не активирует RyR2;
- При высоких концентрациях АТФ (> 1 мМоль) и люменального Ca^{2+} может активировать RyR2 без цитозольного кальция.

Мы предлагаем простую биофизически обоснованную электронно-конформационную (ЭК) модель для описания активности RyR2. Модель предполагает наличие всего лишь двух степеней свободы – быстрой (электронной, связанной с присоединением/отсоединением цитозольного Ca^{2+}) и медленной (конформационной), определяющих энергетическое состояние канала, и учитывает электронные и туннельные переходы между различными электронными состояниями канала и конформационную динамику, описываемую эффективным уравнением Ланжевена. В данной работе предполагается зависимость энергетического состояния от концентрации АТФ и люменального Ca^{2+} . При высоких концентрациях глобальный энергетический минимум находится в открытом состоянии, таким образом, открытое состояние становится более предпочтительным. Результаты моделирования в рамках ЭК модели показывают, что модель воспроизводит эффекты, связанные с влиянием АТФ и люменального Ca^{2+} на функционирование RyR2.

Работа выполнена при поддержке Министерства Образования и Науки РФ, проект № 5719.

СЕКЦИЯ «МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ»

DEVELOPMENT OF COTTON NAM POPULATION

**Turayev O.S.¹, Makamov A.Kh.¹, Darmanov M.M.¹, Husenov N.N.¹, Kushanov F.N.¹,
Abdurakhmonov I.Y.¹**

¹Center of Genomics and bioinformatics Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan
ozodturaev@gmail.com

The NAM (nested association mapping) population is novel approach for mapping genes underlying complex traits, in which the statistical power of QTL mapping is combined with the high chromosomal resolution of association mapping. The NAM design simultaneously exploits the advantages of both linkage analysis and association mapping.

The primary objectives of this study are to create and the development of NAM population for genetic mapping of quantitative trait loci (QTL) with high accuracy in cotton. In order to develop the NAM populations in cotton 19 diverse donor lines and as a common parent Namangan-77 cultivar were selected from the Uzbek cotton germplasm. Each of 19 donor lines were individually crossed with Namangan-77 and developed 3079 recombinant inbred lines of 19 NAM families. NAM RILs generated by self-pollinating in every generation via single seed descent method. Thus, within the last three years the fiber quality parameters (micronaire, elongation, length, strength and others) of parental genotypes were determined by high volume instrumentation and studied other significant phenotypic traits. The results of research showed that samples are differences by investigated traits.

As well, molecular analyses were performed to identify the molecular polymorphisms between Namangan-77 and 19 lines using 720 SSR-markers (simple sequence repeat). The results from these tests revealed that 112 SSR-markers out of 720 showed high polymorphism between Namangan-77 and 19 donor lines.

In the future, identified polymorphic markers between the parental genotypes will be used for implementation of genotyping NAM RIL populations.

ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИЙ БЕЛКА CAS3 CRISPR-CAS СИСТЕМЫ ПРОКАРИОТ

Титова Д.Г., Климук Е.И., Мушарова О.С., Савицкая Е.Е., Северинов К.В.

Автономная некоммерческая образовательная организация высшего профессионального образования
“Сколковский институт науки и технологий”, Московская область, Россия.

CRISPR-Cas системы адаптивного иммунитета прокариот состоят из CRISPR кассет, которые представляют собой короткие палиндромные повторы ДНК, (от англ. Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats), разделенные уникальными последовательностями, «спейсерами», и *cas* генов. CRISPR кассеты транскрибируются и процессируются с образованием коротких РНК (крРНК). CRISPR-Cas системы осуществляют два взаимосвязанных процесса: деградацию чужеродной ДНК посредством узнавания протоспейсеров, участков идентичных спейсерам крРНК (CRISPR-интерференция), и «приобретение» CRISPR кассетами новых спейсеров (CRISPR-адаптация). Совместно CRISPR-адаптация и CRISPR-интерференция обеспечивают защиту клетки от посторонних генетических элементов, например, от вирусов и плазмид. В настоящее время CRISPR-Cas системы обнаружены у большинства прокариот и, согласно последней классификации, могут быть разделены на 2 больших класса и 6 типов.

CRISPR-Cas система *Escherichia coli* относится к типу I-Епервого класса CRISPR-Cas систем. CRISPR-интерференционный комплекс получил название Cascade, он состоит из белков CasA, B, C, D, E и крРНК. При узнавании мишени Cascade прочно связывается с ней. Последующее «плавление» ДНК в месте связывания создает условия для присоединения эндонуклеазы-хеликазы Cas3. Cas3 вносит разрыв в одну из цепей ДНК и, по-видимому, начинает движение молекулы ДНК, расплетая ее и внося дополнительные разрывы. Несмотря на то, что процесс деградации ДНК белком Cas3 является ключевым этапом CRISPR-интерференции, а также важен для CRISPR-адаптации, т.к. продукты расщепления служат источником новых спейсеров, механизм этого процесса в настоящее время остается малоизученным. В нашей работе поставлена задача изучить белок-белковые и ДНК-белковые взаимодействия белка Cas3 в процессе CRISPR-интерференции *in vivo* клетках *E. coli*.

В рамках этой задачи мы планируем получить антитела, специфически распознающие белок Cas3 и провести эксперименты по иммунопреципитации белков, взаимодействующих с Cas3 во время CRISPR-интерференции, а также ChIP-seq анализ последовательностей ДНК, с которыми взаимодействует Cas3. Белок Cas3, обладая хеликазной и нуклеазной активностями, по-видимому, является высокотоксичным для клеток, поэтому его получение в препаративных количествах для иммунизации оказывается нетривиальной задачей.

Мы произвели оптимизацию условий экспрессии белка Cas3 с использованием различных линий клеток *E.coli* и генетических конструкций. Были подобраны и масштабированы условия очистки данного белка. Успешное выполнение данного этапа работы позволило получить достаточные количества очищенного препарата белка Cas3 и провести иммунизацию кроликов.

СВЯЗЬ ТРАНСКРИПЦИИ ГЕНА *KLF5* И ЭПИТЕЛИАЛЬНОГО ФЕНОТИПА КЛЕТОК РАКА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Абжалимов И. Р.1, Копанцев Е. П.1, Зиновьева М. В.1

¹ФГБУН Институт биоорганической химии имени академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН,
Москва, Россия
hidman90@yandex.ru

Kruppel-подобный фактор транскрипции 5 (Kruppel-Like Factor 5, *KLF5*) является маркером эмбриональных протоковых клеток поджелудочной железы. Экспрессия его гена не выявляется в нормальных клетках поджелудочной железы взрослого человека, однако специфична для “классической” ранней стадии развития протоковой аденокарциномы - наиболее распространенной формы рака поджелудочной железы. Имеющиеся данные дают основание считать ген *KLF5* кандидатом на роль мастер-гена при развитии поджелудочной железы, и, соответственно, кандидатом на ключевую роль в канцерогенезе протоковой аденокарциномы поджелудочной железы.

Одним из ключевых механизмов прогрессии протоковой аденокарциномы поджелудочной железы, как и ряда других опухолей, считают эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП), т.е. процесс изменения эпителиальными клетками эпителиального фенотипа на мезенхимальный. ЭМП сопровождается изменением профилей транскрипции генов, в том числе компонентов цитоскелета и внеклеточного матрикса, а также протеолитических ферментов, участвующих в деградации последнего. Высокая экспрессия *KLF5* при аденокарциноме поджелудочной железы является антагонистом ЭМП, а *KLF5* представляется перспективной мишенью для терапевтического воздействия на протоковую аденокарциному. Мы исследовали уровень экспрессии гена *KLF5* и содержание белка *KLF5* в пяти раковых линиях клеток поджелудочной железы с одновременным контролем экспрессии ряда других генов-маркеров эпителиального и мезенхимального состояния клеток методами количественного ОТ-ПЦР в реальном времени и Вестерн-блоттинга. Для клеток линий MIA PaCa-2 и PANC-1 было характерно пониженное содержание мРНК и белка Е-кадгерина (*CDH1*), и высокое содержание мРНК и белка виментина, что указывало на их квазимезенхимальный фенотип. Для клеток эпителиального типа линий Саран-2 и ВхРС3 характерно пониженное содержание мРНК и белка виментина, и высокое – мРНК и белка Е-кадгерина. Далее мы показали, что содержание мРНК гена *KLF5* в клетках MIA PaCa-2 и PANC-1, относящихся к квазимезенхимальному фенотипу, примерно на два порядка величины ниже, чем в клетках эпителиального фенотипа Саран-2 и ВхРС3.

Полученные нами результаты подтверждают потенциальную возможность использования гена *KLF5* в качестве мишени для терапии проточной аденокарциномы поджелудочной железы и возможность использования клеточной модели для разработки такой терапии.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 14-50-00131).

ВЛИЯНИЕ ГЕНОВ *THBS1* И *ADAMTS1* НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ РЕПАРАЦИИ ДВУНИТЕВЫХ РАЗРЫВОВ ДНК

Агаб А.В.¹, Васильев С.А.^{1,2}, Фишман В.С.³, Климова В.С.², Серов О.Л.³, Лебедев И.Н.^{1,2}

¹ФГБУН Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, Томск, Россия; ²ФГБОУ ВО Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия; ³ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия
alenasafonva.ssmu@gmail.com

Гены, экспрессия которых оказывает модифицирующее действие на индивидуальную радиочувствительность человека, остаются малоизученными. Ранее нами был проведен анализ экспрессии 27958 генов с помощью микрочипов (Agilent Technologies), что позволило выявить гены (*THBS1* и *ADAMTS1*), экспрессия которых коррелирует со спонтанным уровнем фокусов γ H2AX и частотой радиационно-индуцированных микроядер, являющихся маркерами нерепарированных двунитевых разрывов ДНК. Однако, остается неясным, может ли нарушение функций этих генов влиять на радиочувствительность клеток. В связи с этим, целью настоящего исследования являлся анализ влияния нокаута генов *THBS1* и *ADAMTS1* на эффективность репарации и сигнальный ответ на повреждение ДНК.

На основе исходной опухолевой клеточной линии HeLa с помощью системы CRISPR/Cas9 созданы нокаутные клеточные линии по генам *THBS1* и *ADAMTS1*, в которых был проведен анализ радиочувствительности с помощью оценки фокусов γ H2AX и 53BP1 в течение 48 ч после воздействия γ -излучением в дозе 2 Гр. Спонтанный уровень фокусов γ H2AX был повышен в нокаутных линиях по генам *ADAMTS1* ($1,8 \pm 0,12$ фокусов на клетку) и *THBS1* ($3,4 \pm 0,6$ фокусов на клетку) по сравнению с исходной линией HeLa ($0,8 \pm 0,1$ фокусов на клетку) ($p < 0,05$). Также в нокаутных линиях был повышен и уровень фокусов 53BP1 ($5,9 \pm 0,2$ и $7,0 \pm 0,8$ фокусов на клетку, соответственно) по сравнению с исходной линией HeLa ($1,2 \pm 0,1$ фокусов на клетку). Количество радиационно-индуцированных фокусов γ H2AX и 53BP1 через 2 часа после облучения, отражающих уровень распознанных системой репарации двунитевых разрывов ДНК, было повышено в линии, нокаутной по гену *THBS1* ($48,2 \pm 1,9$ и $30,1 \pm 0,9$ фокусов на клетку, соответственно), и снижено в линии, нокаутной по гену *ADAMTS1* ($18,6 \pm 0,6$ и $14,6 \pm 0,4$ фокусов на клетку, соответственно) по сравнению с исходной линией HeLa ($30,6 \pm 0,7$ и $21,9 \pm 0,5$ фокусов на клетку, соответственно). Эффективность исчезновения фокусов 53BP1 к 48 ч после облучения по сравнению с 2 ч после облучения была повышена в линии, нокаутной по гену *THBS1*, и снижена в линии, нокаутной по гену *ADAMTS1*. Ранее, нами были выявлены отрицательные корреляции между уровнем экспрессии гена *ADAMTS1* и радиочувствительностью (в терминах радиационно-индуцированной частоты микроядер) и положительная корреляция между уровнем экспрессии гена *THBS1* и радиочувствительностью, таким образом полученные результаты подтверждают предположение об ассоциации высокой экспрессии гена *THBS1* с повышенной радиочувствительностью, и высокой экспрессии гена *ADAMTS1* с радиорезистентностью соматических клеток человека.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 16-34-50178.

АНАЛИЗ РОЛИ ГЕНА *OLI7* В РЕГУЛЯЦИИ ДЛИНЫ ТЕЛОМЕР В *ARABIDOPSIS THALIANA*

Агабекян И.А.¹, Нигматуллина Л.Р.¹, Частухина И.Б.¹, Валеева Л.Р.¹, Шарипова М.Р.¹,
Шакиров Е.В.¹

¹ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
agabekyan_inna@mail.ru

Физические концы эукариотических хромосом заканчиваются специализированными защитными структурами, известными как теломеры. Теломеры состоят из коротких повторяющихся участков ДНК и ассоциированных с ними белков. Теломеры не только защищают концы хромосомной ДНК от деградации и слияния концов соседних хромосом, но и участвуют в репликации. Число теломерных повторов часто варьирует даже в пределах одного вида и поддерживается в пределах определенного диапазона, от нескольких сотен нуклеотидов до многих тысяч нуклеотидов. Несмотря на это, длина теломер остается консервативной из поколения в поколение, и вопрос о точном механизме регуляции длины теломер остается открытым. Для решения этого и других вопросов, мы исследовали регулирование длины теломер в модельном растении *Arabidopsis thaliana*.

Целью нашей работы является исследование нокаута по гену *Oli7* в *A. thaliana*. *OLI7* кодирует рибосомальный белок L5B, который участвует в биогенезе. В ходе работы было проведено генотипирование Т-ДНК нокаутов растений по гену *OLI7*. Т-ДНК линии были получены из коллекции SALK. С помощью коммерческой полимеразы Emerland Amp GT PCR Master Mix (Clontech, USA), мы генотипировали растения для дальнейшего измерения и сравнения длины теломер. Измерение длины проводили с помощью TRF-анализа путем гибридизации меченой с 5'-конца DIG – пробы.

В настоящее время проводится измерение длины теломер в гомозиготных нокаутах гена *OLI7* для установления влияния этого гена на регуляцию механизма контроля длины теломер.

РОЛЬ ГЕНА *HIM1* В РЕГУЛЯЦИИ МУТАЦИОННОГО ПРОЦЕССА У ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Алексеева Е.А.¹, Федоров Д.В.¹, Евстюхина Т.А.¹, Кожина Т.Н.¹, Пешехонов В.Т.¹, Королев В.Г.¹

¹ФГБУ Петербургский институт ядерной физики НИЦ Курчатовский институт, Гатчина, Россия
helen.elena1204@gmail.com

Ген *HIM1* (*high induced mutagenesis*), входит в одну эпистатическую группу с генами *HSM3* и *HSM6*. Ген *HIM1* кодирует белок *Him1p*, биохимическая функция этого белка не известна. Известно, что выключение гена *HIM1* приводит к увеличению как спонтанного, так и индуцированного мутагенеза. Так же известно, что белок *Him1p* физически взаимодействует с гистон деацетилазой *Sin3*, образуя *SIN3* деацетилазный комплекс.

Sin3 участвует в таких процессах как: мейоз, репликация и репарация ДНК, регуляция транскрипции, а также вовлечен в процесс модификации структуры хроматина.

Для определения роли гена *HIM1* в регуляции мутационного процесса у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, мы определили уровень спонтанного репаративного и репликативного мутагенеза у штаммов дикого типа (ДТ), одиночных мутантов *sin3* и *him1*, двойного мутанта *sin3him1*, а также выживаемость и уровень УФ-индуцированного мутагенеза у этих же штаммов и штамма *him1Δrad53-C*.

Частота спонтанного репаративного мутагенеза значительно выше у мутанта *him1* (приблизительно в 3 раза и 12 раз) и двойного мутанта *sin3him1* (приблизительно в 3 раза и 9 раз), по сравнению с клетками ДТ и мутантом *sin3* соответственно. Частота спонтанного репликативного мутагенеза также повышена у мутанта *him1* (приблизительно в 2 раза и 4 раза) и двойного мутанта *sin3him1* (приблизительно в 4 раза и 6 раз), по сравнению с клетками ДТ и мутантом *sin3* соответственно. Мутант *him1* менее чувствителен к действию УФ-излучения, чем клетки ДТ, двойной мутант *sin3him1* и мутант *him1Δrad53-C*. Частота УФ-индуцированного мутагенеза у мутанта *him1* значительно выше, по сравнению с клетками ДТ, мутантом *sin3*, двойным мутантом *sin3him1* и мутантом *him1Δrad53-C*. Частота УФ-индуцированного мутагенеза у мутанта *him1Δrad53-C* и клеток ДТ практически одинакова. Суммируя полученные данные можно заключить, что мутация *him1* значительно влияет на частоту УФ-индуцированного мутагенеза и спонтанных мутаций. А также в сочетании с мутацией *sin3*, приводит к уменьшению частоты УФ-индуцированного мутагенеза, и практически не влияет на уровень спонтанных мутаций. Мутант *him1Δrad53-C* с клетками ДТ имеют практически одинаковую частоту УФ-индуцированного мутагенеза.

ИЗМЕРЕНИЕ ИЗГИБНОЙ ЖЁСТКОСТИ ТОНКОГО ФИЛАМЕНТА С РАЗЛИЧНЫМИ ИЗОФОРМАМИ ТРОПОМИОЗИНА МЕТОДОМ ОПТИЧЕСКОЙ ЛОВУШКИ

Алимпиева О.П.¹, Набиев С.Р.¹, Матюшенко А.М.², Бершицкий С.Ю.¹, Никитина Л.В.¹

¹ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия; ²ФГБУН Институт биохимии им. А.Н.Баха РАН, Москва, Россия

o.p.alimpieva@gmx.us

Для тропомиозина (Тм) характерно наличие 4 генов, которые в результате альтернативного сплайсинга дают суммарно более 30 изоформ. В скелетных мышцах присутствуют α- и β-изоформы Тм в виде гомо- и гетеродимеров. Высказывались предположения, что αα-, ββ-гомомодимеры и αβ-гетеродимеры Тм могут существенно различаться по структуре, свойствам и выполняемым функциям. При различных патологиях скелетных и сердечных мышц, в частности, при кардиомиопатии повышается экспрессия β-цепей Тм, что приводит к повышению содержания αβ-гетеродимеров.

Мы исследовали механическое свойство гомо- и гетеродимеров Тм – изгибную жёсткость.

Для измерения изгибной жёсткости мы использовали лазерную оптическую ловушку. Между двумя полистироловыми шариками диаметром 1 мкм, удерживаемыми двумя сфокусированными лазерными лучами, расположена актиновая нить, формируя измерительный зонд в форме гантели. При смещении луча с помощью акусто-оптического дефлектора актиновая нить натягивается. При этом происходит поворот шариков в оптических ловушках, что сопровождается изгибом актиновой нити вдоль ее оси. Вследствие этого мы можем измерить изгибную жёсткость как филаментарного актина, так и исследовать влияния на неё тропомиозина с различными мутациями.

В эксперименте на оптической ловушке регистрировалась связь деформация-напряжение, из которой рассчитывалась изгибная жесткость тонкого филамента, используя точное решение механической задачи изгиба упругого тонкого стержня. Зависимость деформация-напряжение получалась путем растяжения «гантели» с шагом по 50 нм подвижной ловушкой. После каждого шага сигнал отклонения шарика в неподвижной ловушке, который с учетом жесткости ловушки является мерой силы, растягивающей гантель, был усреднен. Расстояние между центрами шариков измерялось с помощью микрофотографий «гантели». Зависимость деформация-напряжение описывалась как простая аналитическая функция с параметром, соответствующим изгибной жесткости филамента (Nabiev et al., 2015).

Изгибная жёсткость F-актина (n=9) равна $2.7 \pm 0.7 \text{ K} \times 10^{-26} \text{ Н} \times \text{м}^2$ и существенно отличается от тонкого филамента с разными изоформами Тм. Изгибная жёсткость ββ-гомомодимера (n=12) в наших экспериментах была равна $4.1 \pm 0.4 \text{ (pCa 4)}$. αβ-гетеродимер обладает более высокой изгибной жёсткостью (5.0 ± 0.7 , n=14), нежели ββ-гомомодимер, но при этом уступает αα-гомомодимеру, изгибная жёсткость которого равна $6.1 \pm 0.8 \text{ (n=12)}$.

При поддержке гранта РФФИ 16-04-00688.

СОЗДАНИЕ КОЛЛЕКЦИИ ENV-ПСЕВДОВИРУСОВ НА ОСНОВЕ ИЗОЛЯТОВ ВИЧ-1, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ СИБИРСКОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО ОКРУГА

Андреева Н.Б.¹, Щербакова Н.С.¹, Рудометов А.П.¹, Щербаков Д.Н.¹

¹ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Кольцово, Россия
andreeva_nb@vector.nsc.ru

Согласно официальной статистике, к концу 2016 года, насчитывалось 36,7 миллионов человек, живущих с вирусом иммунодефицита человека первого типа (ВИЧ-1), при этом, диагностировано приблизительно 2,1 миллиона новых инфекций (www.unaids.org).

В настоящее время считается, что эффективная вакцина против ВИЧ должна вызывать выработку широконейтрализующих антител (broadly neutralizing antibodies, bNabs), способных предотвратить или уменьшить проникновение патогена, и стимулировать эффективный цитотоксический Т-клеточный ответ для элиминации вируса из организма.

Одним из основных инструментов изучения эффективности гуморального иммунного ответа, индуцируемого ВИЧ-вакцинами, является метод вируснейтрализации с использованием актуальной коллекции молекулярно-клонированных ВИЧ-1 *Env*-псевдовирсов [1]. В настоящее время существует международная коллекция *Env*-псевдовирсов (НИН, США), в которой не представлены псевдовирсы, полученные на основе штаммов ВИЧ-1, распространённых в Сибири.

Нами была получена коллекция сывороток ВИЧ-инфицированных из Центров СПИДа. В результате проведенных исследований была выделена РНК ВИЧ-1 из образцов сывороток ВИЧ-положительных доноров. Для амплификации гена *env* была проведена полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) с вирусной РНК и последующая гнездовая ПЦР с целью получения кДНК гена *env* ВИЧ-1. Далее, амплифицированный полноразмерный ген *env* был клонирован в составе коммерчески доступного вектора pCDNA 3.1/V5-His TOPO. Для получения псевдовирсов была проведена трансфекция культуры клеток 293T сконструированными рекомбинантными плазмидами совместно с backbone плазмидой pSG3Δenv (дефектной по гену *env*). На основе секвенирования гена *env* было установлено, что циркулирующие в данных регионах изоляты ВИЧ-1, относятся к рекомбинантной форме CRF63_02A1 и к субтипу A1. Кроме того, исследована чувствительность полученных *env*-псевдовирсов к моноклональным широконейтрализующим антителам.

Таким образом, было получено 13 псевдовирсов на основе изолятов ВИЧ-1, циркулирующих в регионах Сибирского федерального округа, которые включены в коллекцию.

1. Mascola J.R., D'Souza P., Gilbert P. et al. Recommendations for the design and use of standard virus panels to assess neutralizing antibody responses elicited by candidate human immunodeficiency virus type 1 vaccines // *Journal of Virology*. – 2005. – Vol. 79 (16). – P. 10103–10107.

ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ РЕГУЛЯТОР LGOR ИМЕЕТ ДВА ТИПА МИШЕНЕЙ НА ХРОМОСОМЕ ESCHERICHIA COLI.

**Бессонова Т.А.^{1,2}, Шумейко С.А.³, Гагаринская Д.И.^{1,4}, Швырева У.С.¹, Тутукина М.Н.¹,
Озолин О.Н.¹**

¹ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия; ²ФГАОУ ВО Уральский федеральный университет им. Первого президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия; ³ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия; ⁴ФГБОУ ВО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия
tatianabessonova66@gmail.com

Метаболизм гексуроновых кислот с помощью шунтов Эшвелла и Энтнера-Дудорова играет определяющую роль в подвижности бактерий и колонизации. Показано, что способность клеток утилизировать гексуронаты коррелирует с эффективностью колонизации кишечника мыши. При этом решающую роль играет скорость переключения путей утилизации сахаров на альтернативные шунты, которая в первую очередь регулируется глобальным регулятором cAMP-CRP и более специфическими факторами транскрипции UxuR, EhuR, UidR и GntR. Еще одним потенциальным регулятором, функции которого пока мало изучены, является белок YjjM (LgoR). Было предсказано, что LgoR является активатором генов, кодирующих ферменты метаболизма одного из гексуронатов - L-галактоната, и относится к семейству GntR с N-концевым ДНК-связывающим доменом и C-концевым лиганд-связывающим доменом. Целью данной работы был полногеномный поиск мишеней LgoR и анализ взаимодействия LgoR с выявленными ДНК-мишенями.

Для этого был использован анализ транскриптомов *E. coli* дикого типа и мутанта по гену *lgoR*. Клетки растили на среде M9 с 5% LB и 0.2% глюкозы или глюкуроната до OD₆₅₀=0.6, выделяли РНК и секвенировали

кДНК на платформе Illumina HiSeq2000 (50 nt single end). Как и ожидалось, мишенями LgoR являются гены *yji*- и *ихи*-оперонов и ген глюкуронидазы *uidA*, для которых LgoR однозначно является репрессором, а не активатором. Кроме того, в его регулон входит ген глобального регулятора cAMP-CRP, поэтому LgoR может опосредованно влиять и на многие другие гены сахарного метаболизма. Он также существенно активирует гены ферментов и регуляторов азотного метаболизма (*hcr*, *hcr*, *narGHJ*, *nirBCD*), и ингибирует *fli*-опероны, кодирующие аппарат подвижности.

Зависимость всех выявленных в рамках целого генома мишеней от LgoR была подтверждена qRT-PCR. Мишени можно разделить на две группы: на зависимые от присутствия глюкозы или глюкуроната в среде (*yji*- и *ихи*- оперон, *crp*, *uidA*) и не зависимые (например, *fli*- и *flg*-опероны, *narGHJ*, *nirBCD*).

С помощью электрофореза с задержкой в геле было показано, что в первом случае взаимодействие LgoR с ДНК-мишенями также зависело от сахара: в присутствии глюкуроната формировался дополнительный комплекс с большей подвижностью. Во втором случае комплексообразование не зависело от присутствия сахара в пробе. Это значит, что LgoR имеет два типа мишеней на хромосоме *E. coli*, а его взаимодействие с генами, кодирующими метаболические гены и регуляторы, зависит от лиганда.

Работа поддержана грантом РФФИ 15-04-08716.

РЕКОНСТРУКЦИЯ СТРУКТУРЫ ПРИОННЫХ АГРЕГАТОВ СФОРМИРОВАННЫХ IN VIVO

Бондарев С.А.¹, Журавлева Г.А.¹, Каява А.В.^{2,3,4}

¹ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; ²ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия; ³Центр исследований биохимии макромолекул, Монпелье, Франция;

⁴Институт компьютерной биологии, Монпелье, Франция
stanislavspbg@gmail.com

Прионы были впервые охарактеризованы в связи с тяжелыми нейродегенеративными заболеваниями. Тем не менее, сейчас активно накапливаются данные, свидетельствующие об их потенциальных физиологических функциях. Это способствует развитию интереса к исследованиям в этой области, где одним из нерешенных остается вопрос об определении структуры прионных агрегатов, которые в большинстве случаев представляют собой амилоиды. Современные биофизические методы не позволяют напрямую решить эту задачу. В такой ситуации выходом из положения является развитие подходов, совмещающих экспериментальные данные с компьютерным моделированием.

Недавно нами была разработана программа «BetaSerpentine», которая способна моделировать возможные варианты укладки белка в составе амилоидных агрегатов. Для известных белков-прионов она предсказывает тысячи потенциальных β-серпантинов, что хорошо согласуется с известными данными о поливариантности их структуры. Сочетание этих данных с результатами мутационного анализа позволяет выделить конкретные структуры, которые объясняют эффекты соответствующих замен на свойства прионов. Если некая мутация приводит к потере приона, то можно предположить, что соответствующий белок не способен воспроизвести структуру предсуществующих агрегатов. Таким образом, из множества вариантов β-серпантинов, предсказанных для исходного белка, можно исключить те, которые может формировать и белок с анализируемой заменой. В том случае, если мутация никак не влияет на свойства приона, искомая структура должна быть общей и для белка «дикого типа», и для его варианта с заменой. Используя этот подход, нам удалось сделать предположения о структуре агрегатов Sup35 для разных вариантов приона [*PSI⁺*].

Работа выполнена при поддержке грантов СПбГУ (1.37.291.2015 и 15.61.2218.2013), грантов РФФИ (16-04-00202, 16-34-00582, 15-04-06650), а также ресурсного центра «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ.

ВЗАИМОСВЯЗЬ УРОВНЯ АДИПОКИНОВ И ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ ПСОРИАЗА

Бухмарнова О.А.¹

¹ФГБОУ ВО Первый Санкт-Петербургский медицинский университет имени академика И.П.Павлова, Санкт-Петербург, Россия

obukhmarnova@mail.ru

Введение: Псориаз – системное иммуноассоциированное заболевание мультифакториальной природы с доминирующим значением в развитии генетических факторов. Распространенность псориаза достаточно велика и составляет в среднем 3 % от всех заболеваний кожи и подкожной клетчатки. В настоящее время наблюдается высокая ассоциация псориаза с другими сопутствующими заболеваниями, в частности с метаболическим

синдромом, которые осложняют его течение. Вопрос терапии псориаза является проблемой в дерматологии. Адипокины являются гормонами жировой ткани, которые, по мнению ряда исследований, обладают мощной провоспалительной активностью, что утяжеляет течение псориаза. Этот факт может быть поводом для пересмотра подхода к лечению больных.

Цель: Провести анализ литературных данных, касающихся корреляции уровня сывороточных адипокинов и степени тяжести течения псориаза.

Материалы и методы: Проводился ретроспективный анализ и оценка данных 41 статьи 1997-2017 года.

Результаты: Выявлена взаимосвязь между адипокинами и псориазом.

В частности, уровень адипонектина по данным некоторых авторов был понижен у пациентов с псориазом по сравнению с контрольной группой без дерматоза, в то время как в одном исследовании, напротив, повышен. По данным ряда исследований адипонектин отрицательно коррелирует с индексом PASI, хотя имела место положительная корреляция. Висфатин – неспецифический воспалительный маркер, который коррелирует с индексом площади поражения и тяжести псориаза (PASI).

Уровень резистина повышен при псориазе, псориазическом артрите, а также коррелирует с индексом площади поражения и тяжести псориаза (PASI) и индексом тяжести псориазического поражения ногтей. Кроме того, отмечена положительная корреляция уровня резистина с толщиной сосудистой стенки. Констатируется положительная корреляция лептина с индексом PASI и индексом PsAJAI. Сывороточный лептин статистически значимо повышен у пациентов с псориазом по сравнению с контрольной здоровой группой. Как и резистин, лептин положительно коррелирует с толщиной комплекса интима-медиа коронарных артерий. Выявлена положительная корреляция между уровнем ФНО-альфа и индексом PASI, уровня ФНО-альфа и индексом PsAJAI.

Констатируется отрицательная корреляция между уровнем грелина и индексом PASI. Концентрация грелина исследуемой группы больных псориазом превышала уровень в группе контроля без дерматоза. В ряде исследований уровень оментина понижен при псориазе по сравнению с контрольной группой. Кроме того, наблюдается отрицательная корреляция между сывороточным оментином и индексом PASI.

ЭКСПРЕССИЯ МРНК ГЕНОВ СЕЛЕНОПРОТЕИНОВ МЛЕКОПИТАЮЩИХ SELENOS И GPX6 В РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНАХ И ЛИНИЯХ РАКОВЫХ КЛЕТОК.

Варламова Е.Г.¹

¹ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия
1928lv@mail.ru

Среди известных к настоящему времени 25 селенопротеинов млекопитающих SELENOS и GPX6 являются самыми малоизученными белками. Целью данной работы явилось выполнение количественной оценки уровня экспрессии мРНК для каждого из генов исследуемых белков в различных органах и раковых клетках методом ПЦР в реальном времени. В эксперимент были взяты по 10 органов самки и самца крысы в возрасте 1 месяца (сердце, легкие, печень, почки, мозг, селезенка, мышцы, обонятельный эпителий, матка/семенник, яичник/простата) и 4 линии раковых клеток человека (*MCF-7*-аденокарцинома молочных желез, *A-172*- глиобластома, *Du-145*-карцинома простаты и *HT-1080*-фибромаркома). Из органов и клеток была выделена тотальная РНК с использованием реагента Trizol и проведена серия реакций обратной транскрипции с использованием oligodT праймеров, после чего поставлена серия реакций ПЦР в реальном времени, используя краситель SYBR Green. Количество тотальной РНК, которое бралось в реакцию обратной транскрипции, составило 2 мкг, данное количество контролировали, проводя параллельно амплификацию контрольного гена "домашнего хозяйства" бета-актина. В результате данной работы было установлено, что селенопротеин SELENOS экспрессируется в семенниках, мозге, сердце, легких, печени и почках, причем максимальная степень экспрессии наблюдалась в семенниках и мозге. Экспрессия мРНК гена, кодирующего белок GPX6, наблюдалась в обонятельном эпителии и почках. Ни в одной из исследуемых раковых клеточных линий человека не была зафиксирована экспрессия мРНК генов данных селенопротеинов методом ПЦР в реальном времени.

ИЗУЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ИЛ-33 У ПАЦИЕНТОВ С ВИРУС-ИНДУЦИРОВАННЫМИ ОСЛОЖНЕНИЯМИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Ведринская К.К.¹, Шиловский И.П.², Никонова А.А.², Гайсина А.Р.², Жернов Ю.В.², Курбачева О.М.³, Хаитов М.Р.²

¹ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА им. К.И. Скрябина, Москва, Россия; ²ФГБУ ГНЦ Институт иммунологии ФМБА России, Москва, Россия; ³ФГБУ Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия
kseniya_vedrinskaya@mail.ru

Введение: Бронхиальная астма (БА) одно из наиболее распространенных заболеваний дыхательных путей. Известно, что острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) являются основными факторами для развития осложнений БА. Недавние исследования показали, что экспрессия цитокина IL-33 увеличивается у пациентов с БА. Исследование на экспериментальной риновирусной инфекции у человека показали повышение экспрессии белка IL-33 в бронхах инфицированных пациентов. Однако, отсутствуют данные о роли IL-33 при вирусных осложнениях БА.

Цель исследования: Изучить уровень экспрессии гена IL-33 в мононуклеарах крови пациентов с аллергической бронхиальной астмой, ассоциированной с респираторными вирусными инфекциями.

Материалы и методы: В исследования было включено 48 добровольцев в возрасте от 18 до 65 лет, которые составляли 4 группы: 23 добровольца с установленным диагнозом аллергической БА (1-я группа), 6 пациентов с БА, ассоциированной с ОРВИ (2-я группа), 8 пациентов с ОРВИ (3-я группа) и 11 здоровых добровольцев (4-я группа). Для каждого субъекта проводили исследование функции внешнего дыхания (ФВД), забирали кровь на клинический анализ. Биоматериал включал гепаринизированную кровь (10 мл) и мазок из полости носа (1 тубфер). Из данного биоматериала выделяли РНК, ставили обратную транскрипцию и РТ-ПЦР для оценки уровня экспрессии IL-33 и определения вирусной РНК (вРНК).

Результаты: Клинический анализ крови показал увеличение эозинофилов у пациентов с БА и БА-ОРВИ до 7% и 4% от общего количества лейкоцитов, соответственно. Также показано снижение FEV1 (объем форсированного выдоха за 1 секунду) в 1-й и 2-й группах до 77% и 79% от нормы по сравнению 98% и 97% для 3-й и 4-й групп. Определение вРНК показало, что наиболее распространенными вирусными патогенами оказались риновирус, респираторно-синцитиальный вирус и коронавирус (50%, 46% и 38%, соответственно). РТ-ПЦР анализ показал увеличение экспрессии IL-33 в фитогемагглютинин-стимулированных мононуклеарах крови от пациентов с БА в 4,7 раза по сравнению со здоровыми добровольцами. Наиболее мощным стимулятором экспрессии оказалась вирусная инфекция, поскольку пациенты с ОРВИ демонстрировали увеличение экспрессии 16,9 раза. В то же время увеличение экспрессии IL-33 в стимулированных мононуклеарах от пациентов с БА, ассоциированной ОРВИ оказались не таким значительным (увеличение в 6,4 раза по сравнению со здоровыми добровольцами).

Заключение: Таким образом, полученные результаты указывают на то, что ОРВИ является более значимым регулятором экспрессии IL-33, чем аллергическое воспаление при БА.

БЕЛОК FXR1 RATTUS NORVEGICUS – КАНДИДАТ В ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ АМИЛОИДЫ

Велижанина М.Е.¹, Сергеева А.В.¹, Синюкова В.А.¹, Шенфельд А.А.¹, Рыжова Т.А.², Задорский С.П.^{1,2}, Сопова Ю.В.^{1,2}, Галкин А.П.^{1,2}

¹ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; ²ФГБУН Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики РАН, Санкт-Петербург, Россия
velizhanina.me@gmail.com

Амилоиды представляют собой фибриллярные белковые агрегаты, которые формируются за счет образования упорядоченных межмолекулярных бета-складчатых структур. Первые работы по изучению амилоидов были связаны с их патологической ролью в организме человека и млекопитающих. Кроме патологических амилоидов, известны белки, выполняющие свою функцию в амилоидной конформации. В нашей лаборатории разработан универсальный метод идентификации амилоидов в масштабах протеома – PSIA-LC-MALDI, позволяющий выявлять белки, обладающие амилоидными свойствами, в любых органах и тканях различных организмов. Этот метод основан на универсальном свойстве амилоидных фибрилл – их уникальной устойчивости к обработке ионными детергентами, такими как додецилсульфат натрия (SDS).

С помощью PSIA-LC-MALDI мы выявили несколько потенциально амилоидогенных белков, формирующих высокомолекулярные SDS-устойчивые агрегаты в мозге молодых самцов крысы *Rattus norvegicus*. Среди этих белков наибольший интерес вызывает FXR1, контролирующий долговременную память и эмоциональное состояние. FXR1 - консервативный белок, регулирующий транспорт и трансляцию некоторых

мРНК в различных типах клеток млекопитающих. В пользу того, что FXR1 является амилоидогенным белком, говорит способность N-терминального фрагмента (380 аминокислот) к формированию фибриллярных структур *in vitro*. Используя антитела, специфичные к FXR1, мы подтвердили, что этот белок представлен в мозге крысы в виде нерастворимых высокомолекулярных агрегатов и олигомеров, устойчивых к обработке SDS. Известно, что FXR1 необходим для эмбрионального и постнатального развития мышечной ткани. Мы показали, что FXR1 в мышцах крысы также, как и в мозге, присутствует в высокомолекулярной фракции и образует detergent-устойчивые агрегаты. Биоинформатический анализ аминокислотной последовательности FXR1 выявил потенциально амилоидогенный участок в N-терминальном фрагменте (1-380 а.к.). Химерный белок FXR1(1-380)-YFP при продукции в клетках дрожжей *S. cerevisiae* формирует цитологически детектируемые агрегаты, в то время как C-терминальная последовательность FXR1, слитая с YFP, представлена в дрожжевых клетках в мономерной изоформе. На основании экспериментальных данных, полученных в нашей лаборатории, можно утверждать, что FXR1 представлен в амилоидной форме в мозге и мышцах крысы, а N-терминальный фрагмент этого белка отвечает за его агрегацию.

Работа выполнена при поддержке грантов РНФ № 14-50-00069 и РФФИ №15-04-08159 и №15-04-06650, использовалась приборная база ресурсных центров «ЦКП ХРОМАС» и «МиКТ» научного парка СПбГУ.

АНАЛИЗ ОБРАЗОВАНИЯ 30S ИНИЦИАТОРНОГО КОМПЛЕКСА И ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ ТРАНСЛЯЦИОННЫХ ФАКТОРОВ МЕТОДАМИ МИКРОТЕРМОФОРЕЗА И ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ СКАНИРУЮЩЕЙ ФЛУОРИМЕТРИИ

Виноградова Д.С.^{1,2}, Касацкий П.С.^{1,2}, Максимова Е.М.^{1,2}, Pohl Milon³, Коневега А.Л.^{1,2}

¹ФГБУ Петербургский институт ядерной физики НИЦ Курчатовский институт, Гатчина, Россия; ²ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия; ³Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas, Lima, Peru
vinogradova_ds@pnpi.nrcki.ru

Перевод генетической информации с матричной РНК (мРНК) в белки начинается с образования 30S инициаторного комплекса (30SIC). Во время инициации специализированная транспортная РНК (fMet-tRNA^{fMet}) связывается с инициаторным кодоном мРНК в Р-сайте 30S субъединицы рибосомы. Инициаторные факторы IF1, IF2, IF3 определяют точность и эффективность данного процесса.

В данной работе изучения образования инициаторного комплекса (30SIC) и стабильности трансляционных факторов впервые были применены методы микротермофореза (МТФ) и дифференциальной сканирующей флуориметрии (ДСФ). Метод МТФ позволяет измерять аффинности между макромолекулами, используя изменения подвижности молекул в микроградиенте температуры. При образовании комплекса изменяется размер, заряд и степень гидратирования макромолекул. МТФ показывает зависимость образования 30SIC от всех лигандов, а также выделяет ключевую роль ГТФ в селекции fMet-tRNA^{fMet}. Аффинность инициаторного фактора IF2 к инициаторной тРНК в присутствии GTP и GDP, измеренная методом МТФ, $K_D \approx 11 \mu M$ и $K_D \approx 16 \mu M$ соответственно. Наиболее термостабильными формами трансляционных факторов IF2 и EF-Tu являются GDP- и ppGpp- связанные формы, термостабильность трансляционного фактора EF-G практически не зависит от его связывания с каким-либо нуклеотидом.

Мы рассматриваем новое применение метода МТФ для изучения молекулярного механизма биосинтеза белка. Кроме того, данная технология может быть использована для селекции новых ингибиторов инициации трансляции (потенциальных антибиотиков), действующих на образование 30SIC.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 14-34-00023.

ВЫЯВЛЕНИЕ ТРАНСЛОКАЦИИ 1BL.1RS В КОЛЛЕКЦИОННОМ МАТЕРИАЛЕ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

Вожжова Н. Н.

ФГБНУ Аграрный Научный Центр "Донской", Зерноград, Россия
nvozhzh@gmail.com

Озимая пшеница – одна из важнейших сельскохозяйственных культур мира. Для поддержания продовольственной безопасности необходимо иметь сорта, которые бы обладали комплексом хозяйственно-ценных признаков, а также устойчивость к возбудителям болезней. В транслокации 1BL.1RS находятся сцепленные гены устойчивости к болезням: Lr26, Sr31, Pm8 и Yr9 [1]. Установлено, что в транслокации 1BL.1RS находятся гены, повышающие урожайность и качество зерна, а также засухоустойчивость, обеспечиваемую за счет увеличения массы корней [2]. Таким образом, выявление в коллекционном материале озимой пшеницы образцов, несущих транслокацию 1BL.1RS, является важной задачей.

Материал исследования – 765 коллекционных образцов (в том числе 646 шт. озимой мягкой и 119 шт. озимой твердой) отдела селекции озимой пшеницы ФГБНУ «АНЦ «Донской»» (ранее ФГБНУ ВНИИЗК им. И. Г. Калининко). В скрининге использовался SSR-маркер SCM9 [3]. Визуализация ампликонов проводилась электрофорезом на 2% агарозном геле. Анализ в УФ-свете - прибором BioRad GelDoc XR+, программой BioRad LabImage 5.1.

В результате проведенного в 2016 году анализа выявлено 50 образцов с транслокацией 1BL.1RS, в том числе один образец озимой твердой пшеницы 437/13 и 7 образцов озимой мягкой пшеницы селекции ФГБНУ «АНЦ «Донской»» - Дон 85, Донская остистая, 631/05, 1026/06, 1283/12 (Солярис), 1481/13, и 1756/13.

Предлагается использовать выявленные образцы в качестве источников транслокации 1BL.1RS в селекционных программах.

Литература:

1. Zeng L. Genetic diversity analyzed by microsatellite markers among rice (*Oryza sativa* L.) genotypes with different adaptations to saline soils / L. Zeng, T. R. Kwon, X. Liu, C. Wilson et. al. // Plant Science – 2004. – V. 166 (5). – pp. 1275-1285. doi: 10.1016/j.plantsci.2004.01.005
2. Kim W. Agronomic effect of wheat-rye translocation carrying rye chromatin (1R) from different sources / W. Kim, P. S. Jonson, P. S. Baenziger et. al. // Crop Sci. – 2004. – V. 44. – pp. 1254-1258.
3. Weng Y. et. al. PCR-based markers for detection of different sources 1AL.1RS and 1BL.1RS wheat-rye translocation in wheat background // Plant Breeding – 2007. – V.126.

ПРОВЕРКА НОВЫХ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ РЕГУЛЯТОРОВ ГЕНА *DPS*

Гагаринская Д. И.^{1,2}, Швырева У. С.¹, Тутукина М. Н.^{1,2}, Озолин О. Н.^{1,2}

¹ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия; ²ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия

DeanaW@yandex.ru

Экспрессия гена *dps*, кодирующего мажорный белок нуклеоида, активируется в ответ на действие множества физических и химических факторов, а также при переходе в стационарную фазу. Это происходит потому, что белок *Dps* играет ключевую роль в защите бактериального генома за счет плотной упаковки хроматина и способности обезвреживать активные формы кислорода. В оптимальных для клетки условиях экспрессия гена *dps* ингибируется другими белками нуклеоида (*H-NS*, *Fis*). Было установлено, что в регуляторной области гена *dps* есть сайты связывания новых потенциальных регуляторов его транскрипции, в том числе, и самого белка *Dps*. С помощью ДНК-сэмплинга было идентифицировано 11 регуляторных белков, ассоциированных с этой областью. Участие в регуляции гена *dps* для двух из них, *ExuR* и *cAMP-CRP*, было подтверждено нами ранее. В данной работе мы выбрали для проверки три белка – *Fnr*, *GntR* и *SdiA*. Транскрипционный фактор *Fnr* известен как глобальный регулятор генов во время анаэробного роста бактерий, *GntR* – как регулятор метаболизма глюконата, а *SdiA* – как активатор генов, контролирующих деление клетки. Целью данной работы была оценка влияния выявленных регуляторов на экспрессию гена *dps*.

Методом G-DOC (Gene Doctoring) были получены делеционные мутанты по соответствующим генам (*fnr*, *gntR*, *sdiA*). С помощью ОТ-ПЦР в реальном времени было обнаружено повышение уровня экспрессии гена *dps* по сравнению с контролем в клетках, мутантных по генам *fnr* и *gntR*, на стационарной и экспоненциальной фазах. Согласно полученным в нашей лаборатории данным, репрессорная функция *Fnr* может быть связана с перекрыванием его сайтов с сайтами посадки *Dps* и блокировкой этих сайтов. В тоже время, в клетках с делетированным геном *sdiA* наблюдалось повышение уровня мРНК гена *dps* по сравнению с диким типом в экспоненциальной фазе и его снижение в стационарной фазе роста. Иными словами, транскрипционные факторы *Fnr* и *GntR* ингибируют транскрипцию гена *dps*, а *SdiA* является регулятором двойного действия. Таким образом, регуляторная область гена *dps* находится под контролем не только стрессовых факторов и других белков нуклеоида, но и факторов, отвечающих за сахарный метаболизм, анаэробный рост и клеточное деление, что способствует расширению адаптивного потенциала клетки.

Работа поддержана грантом РФФИ 16-34-01044.

ORB2 ИЗ СЕМЕЙСТВА CPEВ БЕЛКОВ УЧАСТВУЕТ В РЕГУЛЯЦИИ ПОЛЯРИЗАЦИИ КЛЕТОК ДРОЗОФИЛЫ

Гильмутдинов Р.А.¹, Козлов Е.Н.¹, Шедл П.^{1,2}, Шидловский Ю.В.¹

¹ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, Россия; ²Принстонский университет, Принстон, США
rudolf.gilmutdinov@mail.ru

Многоклеточные организмы формируют сложные структуры, такие как ткани и органы, благодаря способности своих клеток к дифференцировке, которая, в свою очередь, обуславливается процессом поляризации. В основе клеточной поляризации лежит асимметричное распределение белков, определяемое специфической локализацией их мРНК.

Недавние исследования показали, что одним из факторов, контролирующих локализацию мРНК у дрозофилы, является белок Orb2. Принадлежащий к семейству цитоплазматических полиаденин элемент связывающих белков (CPEB), этот белок может как активировать, так и подавлять трансляцию специфических мРНК, связывая их CPE сайты в 3'-нетранслируемой области. Последние работы продемонстрировали, что Orb2 имеет, по меньшей мере, около 40 генов-мишеней, участвующих в поляризации различных типов клеток и контролирующих морфогенез у дрозофилы. Среди хорошо изученных такие транскрипты генов, как: *apks*, *act5c*, *capulet*, *unkempt*, *tequila*, *murashka*. Orb2 способен связывать собственную мРНК, что предполагает авторегуляцию экспрессии данного гена.

Предыдущие работы хорошо зарекомендовали семенники как модельные системы для изучения РНК-связывающих функций ORB2 в дрозофиле, поскольку развивающиеся сперматозоиды обладают ярко выраженной асимметрией и повышенным уровнем экспрессии этого белка в них. В прошлых исследованиях было показано, что на стадии сперматид ORB2 локализуется на кончиках, вместе с ним солокализуются некоторые его мРНК мишени, в том числе своя собственная мРНК. Различные мутанты по ORB2 обычно дают фенотип с нарушением нормального созревания сперматозоидов и с изменением в локализации целевых мРНК.

Для изучения роли Orb2 в локализации своей собственной мРНК нами была создана мутантная линия мух *Drosophila melanogaster* с отсутствующим CPE сайтом. Целевое редактирование генома дрозофилы стало возможным благодаря новой генно-инженерной технологии – CRISPR/Cas9.

После селекции мутантных трансформантов по специфическому маркеру, введенному в геном с помощью CRISPR/Cas9 и последующих скрещиваний с балансерными линиями, удалось получить стабильные линии мутантов дрозофилы по ORB2. Эффективность целевого редактирования генома была подтверждена молекулярно-биологическими методами: ПЦР, ПЦР в реальном времени, секвенирование.

На основе первичных данных по фенотипу наших мутантов можно сделать предположение, что ORB2 действительно регулирует локализацию своей мРНК, а нарушения его собственной локализации повлекут нарушения в локализации других целевых мРНК, о чем должны показать дальнейшие исследования.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 16-34-60214.

ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ PRE-ЭЛЕМЕНТОВ У DROSOPHILA

Горбенко Ф.В.¹, Ерохин М.М.¹

¹ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, Россия
gorfedya66@gmail.com

Способность организмов регулировать экспрессию генов в пространстве и во времени критична для образования многоклеточного организма. Белки группы Polycomb (PcG) являются консервативными регуляторами транскрипции генов. Белки PcG собираются на специальных местах в геноме, которые называются PRE (Polycomb Response Elements), и участвуют в поддержании неактивного состояния многих генов. При этом на модельных системах *Drosophila* для многих PRE показана способность к переключению с репрессии транскрипции на ее активацию. Такое переключение является одним из механизмов установления правильного паттерна экспрессии генов в ходе развития и до сих пор плохо изучено. Наша работа направлена на изучение работы PRE у *Drosophila*.

В многочисленных работах по изучению PRE использовали систему интеграции, основанную на Р-элементе, которая позволяет осуществлять встраивание трансгенов в случайные места генома. При этом активность PRE-элементов сильно зависела от места интеграции трансгена. В нашей работе используются линии *Drosophila* с attP-сайтами, что позволяет вставлять интересующую конструкцию в определенное место генома за счет сайт-специфической рекомбинации. На первом этапе было установлено, что PRE-элемент *bxd* в составе одной и той же трансгенной конструкции проявляет различную активность в различных attP-содержащих местах интеграции. В части точек PRE-элемент выступал в качестве сильного сайленсера, подавляя экспрессию репортерного гена, тогда как в других местах интеграции репрессии не наблюдалось.

Этот результат согласуется с данными, полученными ранее на трансгенах с Р-элементами. Для дальнейшей работы будут использованы точки интеграции, в которых PRE-элемент обладает необходимой активностью. Ряд косвенных данных позволяет предположить, что активность PRE-элементов зависит от стабильности нуклеосом в месте интеграции трансгена. При этом мы считаем, что в районах стабильного связывания нуклеосом репрессорные комплексы Polysom не способны связаться с ДНК-последовательностью PRE. Для тестирования данной гипотезы созданы конструкции, в которых рядом с PRE-элементом располагаются участки ДНК, свободные от нуклеосом – промотор гена *hsp70* или сайты связывания инсуляторного фактора dCTCF.

ФИЛОГЕНИЯ ЧЕТЫРЕХ ВИДОВ СОНЬ (RODENTIA, GLIRIDAE) ВОСТОЧНОЙ ЕВРОПЫ

Григорьева О.О.¹

¹ФГБУН Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия
grig_forever@mail.ru

Мы исследовали филогенетические отношения четырех видов сонь семейства *Gliridae*: *Dryomys nitedula*, *Muscardinus avellanarius*, *Eliomys quercinus*, *Glis glis* на основании данных последовательностей участков генов *cytb*, 12S, IRBP. 29 образцов были получены из Саранской, Нижегородской, Ростовской областей и Краснодарского края России, а также из Белоруссии. Были разработаны новые праймеры для каждого гена. Филогенетический анализ проводился на основании методов NJ, MP, ML, BI. Анализ филогении по гену *cytb* позволил отнести исследуемые образцы *E. quercinus* к Западноевропейской кладе, *M. avellanarius* – к кладе Центральной и Северной Европы, *G. glis* – к Европейской. *Dryomys* и *Eliomys* объединены в общую кладу по *cytb* и IRBP. Также эта клада выделяется в топологии 12S без внешней группы. Данная топология 12S выявлялась в предыдущих исследованиях. В одну кладу, сестринскую *Dryomys*+*Eliomys*, объединяются *Muscardinus* и *Glis* в топологиях *cytb* и 12S при анализе последней без внешней группы. В топологии IRBP *Muscardinus* является внешней родственной кладой по отношению *Dryomys*+*Eliomys* с высокими уровнями поддержки. Внешней группой по отношению к кладе *Dryomys*+*Eliomys*+*Muscardinus* в данной топологии гена IRBP является *Glis*. Стоит отметить, что топология по ядерному гену находится в согласии с работами по другим ядерным генам, а также с последней классификацией Холдена. Таким образом, отношения между подсемейства остаются неоднозначными.

Граница эоцена и олигоцена (34 млн. л. н.) означает начало периода глобального изменения климата и обширной реорганизации фауны млекопитающих во всем Северном полушарии. Наши расчеты показывают, что диверсификация сохранившихся подсемейств, скорее всего, началась в это время. К концу олигоцена (около 24 млн. л. н.) температура мирового океана выросла на 4 °С, начался теплый период, который продлился до 16 млн. л. н. Моделирование глобального климата в сочетании с прямыми ископаемыми свидетельствами позволяют предположить, что в Северной Евразии была субтропическая и умеренная растительность в этот теплый период. Это была излюбленная среда сонь и мы можем заключить, что поздний олигоцен – начало миоцена – самый оптимальный период в эволюционной истории семейства *Gliridae*. После теплого периода Северная Евразия стала холоднее и суше и лесные массивы отступили, отчасти из-за поднятия Тибетского нагорья. Разнообразие сонь также сократилось в этот период. Очевидно, линия, включающая *Eliomys* и *Dryomys*, также ответвляется в этот период.

Работа проводилась при поддержке гранта РФФИ 16-04-00710 и гранта Президента Российской Федерации МК-3755.2014.4.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ЗАМЕНЯЕМОСТЬ ТРЕТЬЕГО ФАКТОРА ИНИЦИАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ В ДРОЖЖЕВОЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ И БАКТЕРИАЛЬНОЙ СИСТЕМАХ

Дербикова К.С.¹, Кузьменко А.В.¹, Климонтова М.В.¹, Каменский П.А.¹

¹ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия
k.derbikova@gmail.com

Митохондриальная система трансляции в целом устроена по бактериальному типу, однако имеет ряд особенностей. Так, третий фактор инициации трансляции в митохондриях (mtIF3) состоит из двух доменов, соединенных линкером, кроме того, содержит дополнительные хвостовые участки, N и C, отсутствующие у бактериального гомолога (IF3). Сотрудниками нашей лаборатории был описан mtIF3 пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* – фактор Aim23p. Было показано, что для нормального функционирования митохондрий необходимо наличие хотя бы одного из хвостовых участков фактора.

В данной работе Aim23p *S. cerevisiae* был заменен химерным фактором, состоящим из бактериального IF3, фланкированного одним или двумя концевыми участками Aim23p. Было показано, что химерный фактор, содержащий оба концевых участка дрожжевого белка, полностью функционально заменяет Aim23p в клетках *S. cerevisiae*.

Эксперименты, проведенные в бактериальной системе, показали, что полноразмерный и лишенный концевых участков Aim23p не способен полностью компенсировать отсутствие IF3 в *E. coli*. Кроме того, полученные экспериментальные данные позволяют предположить, что полноразмерный Aim23p вступает в конкурентные отношения с IF3. Таким образом, бактериальная система инициации трансляции более требовательна к наличию специфического бактериального фактора. Полученные результаты подтверждают гипотезу о возникновении концевых участков mIF3 как результат адаптации к изменяющейся системе трансляции в митохондриях. Данные участки играют ключевую роль в активности фактора в митохондриальной системе трансляции.

Работа поддержана грантом Президента России для молодых кандидатов наук МК-5334.2016.4.

РНК-ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ ГЕНОВ NPY-ПОДОБНЫХ НЕЙРОПЕПТИДОВ У ПЛАНАРИЙ

Ермаков А.М.¹, Знобищева А.В.¹, Бондаренко С.М.², Крещенко Н.Д.³

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия; ²ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия; ³ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия
nkreshch@rambler.ru

Проводили РНК интерференцию генов пептидов семейства NPY/NPY-подобных у планарий *Schmidtea mediterranea*. Для этого выделяли мРНК с помощью набора на магнитных частицах (Sileks, Russia). Синтезировали кДНК и использовали в качестве матрицы для ПЦР. Синтез дцРНК осуществляли с помощью ДНК-зависимой РНК-полимеразы фага T7 (Fermentas, США). Ген-специфические праймеры подбирали с помощью программы Primer Express (Applied Biosystems, USA). Полученную дцРНК инъецировали в планарий микроинъектором Nanoject II Auto-Nanoliter (Drummond, США) в объеме 3х32нл всего 6 раз. Изучали изменение уровня экспрессии исследуемых нейропептидов после их специфической РНК интерференции (РНКи). После введения дцРНК к гену *NPY4* на 5-й день после инъекций в тканях планарий наблюдалось снижение количества его транскриптов в 330 раз по сравнению с контролем. Также наблюдалось снижение уровня экспрессии генов нейропептидов *NPY5* и *NPY10* (в 2 и 2.5 раза соответственно), а количество транскриптов *NPY9* увеличивалось в 1,5 раз. РНКи гена нейропептида *NPY5* не приводила к подавлению его экспрессии, но при этом наблюдалось снижение количества транскриптов *NPY4* и *NPY9* (в 400 и 2 раза соответственно). Инъекция дцРНК к *NPY9* подавляла экспрессию искомого гена в 10 раз, но при этом наблюдалось снижение уровня мРНК других генов *NPY4*, *NPY5* и *NPY10*. РНК интерференция *NPY10* приводила к снижению количества транскриптов интерферируемого гена (в 1000 раз), также наблюдалось подавление экспрессии *NPY5* в 2 раза. Суммарное интерферирующее действие всех исследуемых генов приводило к снижению количества их транскриптов, максимальный эффект наблюдался в случае с *NPY4*. Можно заключить, что эффективный нокаут экспрессии достигался в случае с интерференцией *NPY4*, *NPY9*, *NPY10* и одновременной интерференции всех исследуемых генов. При этом часто снижение количества транскриптов одного гена сопровождалось снижением экспрессии других генов. Это может указывать на то, исследуемые нейропептиды транскрибируются единым транскриптом, который потом после трансляции разрушается на искомые пептиды. (Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 15-04-05948а).

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ БЕЛКА HUR В СТАБИЛИЗАЦИИ МАТРИЧНЫХ РНК ПРОТООНКОГЕНОВ IN VITRO

Жигалова Е. А.^{1,2}, Миттенберг А.Г.¹

¹ФГБУН Институт цитологии РАН, Москва, Россия; ²Сколковский институт науки и технологий, Сколково, Россия
ekaterina.zhigalova@skolkovotech.ru

Контроль стабильности матричных РНК является одним из важнейших механизмов регуляции экспрессии генов. Белок HuR, повсеместно экспрессирующийся в клетках человека, способен селективно связывать и стабилизировать мРНК, защищая их от деградации рибонуклазами. Наиболее известными мишенями HuR являются мРНК, содержащие на 3'-нетранслируемом регионе АУ-богатую регуляторную последовательность, к которым относятся мРНК протоонкогенов *c-myc* и *c-fos*. С другой стороны, протеасома, белковый комплекс, отвечающий за деградацию белков, помимо своей основной функции способен проявлять

эндорибонуклеазную активность по отношению к мРНК, содержащим АУ-богатые участки, в частности с-тус и с-fos. Таким образом, HuR и протеасома связываются со сходными сигнальными последовательностями, но имеют противоположный эффект на стабильность мРНК. Была выдвинута гипотеза, что HuR и протеасома могут конкурировать в проявлении своих активностей. Целью работы являлось оценить протекторную роль белка HuR по отношению к мРНК с-тус и с-fos в присутствии протеасом.

Рекомбинантный белок GST-HuR был экспрессирован в бактериальной системе и очищен с помощью аффинной хроматографии. Фрагменты мРНК с-тус и с-fos, содержащих АУ-богатые участки, были синтезированы с помощью транскрипции *in vitro*. Протеасомы были выделены и очищены из клеток линий K562 и Im-9. Фрагменты мРНК обрабатывались препаратами протеасом *in vitro* в присутствии и отсутствии белка HuR. Оценка степени деградации мРНК проводилась с помощью гель-электрофореза.

Было установлено, что рекомбинантный белок GST-HuR связывал исследуемые фрагменты мРНК с-тус и с-fos, в то время как белок GST не обладал такой способностью. Также, протеасомы, выделенные из клеток K562 и Im-9, специфически расщепляли полученные фрагменты мРНК с формированием продуктов определенной длины, что указывает на наличие эндорибонуклеазной активности. Кроме того, было установлено, фрагмент мРНК с-fos не подвергается деградации РНКазой протеасом в присутствии белка HuR, в то время как фрагмент мРНК с-тус специфически расщеплялся в сходных условиях.

Таким образом, РНК-связывающий белок HuR защищает мРНК с-fos от действия эндорибонуклеазы протеасом *in vitro*, но не обладает такой активностью по отношению к мРНК с-тус. Вероятно, показан новый механизм регуляции экспрессии протоонкогенов на уровне мРНК. Однако, функциональную роль данного процесса *in vivo* еще предстоит установить.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 15-04-04541.

АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ HIF1A, MTHFR И UCP2 У ЛЕГКОАТЛЕТОВ В ОТВЕТ НА ФИЗИЧЕСКУЮ НАГРУЗКУ

Жур К.В.¹, Кундас Л.А.¹

¹ГНУ Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Белоруссия
zhur_kv@mail.ru

Не существует двух спортсменов, которые бы одинаково отреагировали на одну и ту же тренировочную нагрузку, что обусловлено в первую очередь различиями в генотипах. Тем не менее, спортивная успешность зависит не только от наличия определенных вариантов генов, но и от уровня активности этих генов, индивидуального для каждого человека. Кроме того, интенсивность работы генов может меняться в процессе тренировок у разных людей по-разному, запуская адаптационные процессы с различной эффективностью, что может зависеть от тренированности атлета, типа выполняемой нагрузки и др. Цель исследования – изучить влияние физической нагрузки различной интенсивности на экспрессию генов *HIF1A*, *MTHFR* и *UCP2*.

Протестированы 20 спортсменов-легкоатлетов высокой квалификации, специализирующихся в беге на средние и длинные дистанции. Из них 11 спортсменов выполняли нагрузку высокой интенсивности (60-90 мин, с частотой сердечных сокращений не выше 180 уд/мин), и 9 атлетов выполняли нагрузку низкой интенсивности (45-50 мин, с частотой сердечных сокращений не выше 140 уд/мин). Для исследования использовали ДНК и РНК, выделенные из лейкоцитов периферической крови с помощью соответствующих наборов реагентов (Синтол, Россия). Генотипирование по полиморфизмам C1772T гена *HIF1A*, C677T и A1298C гена *MTHFR* и Ala55Val гена *UCP2* проводили методом ПЦР в реальном времени. Анализ экспрессии исследованных генов проводили методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией с ген-специфичными праймерами.

Установлено, что уровни экспрессии исследованных генов характеризуются значительной индивидуальной вариабельностью. Различия наблюдали как в базовом уровне экспрессии генов (до выполнения нагрузки), так и в интенсивности и направленности изменений в ответ на нагрузку. Установлено, что базовый уровень экспрессии гена *HIF1A* в 1,4 раза выше для спортсменов с квалификацией кандидат в мастера спорта, в сравнении с атлетами с квалификациями мастер спорта и мастер спорта международного класса. Сравнение экспрессии исследуемых генов у спортсменов с различными генотипами по полиморфизмам C1772T гена *HIF1A*, C677T и A1298C гена *MTHFR* и Ala55Val гена *UCP2* не выявил статистически значимых различий.

Анализ экспрессии генов, ответственных за адаптацию к физическим нагрузкам, позволит контролировать реакцию атлета на определенную схему тренировки, для своевременной коррекции программы подготовки, чтобы не допустить перетренированности спортсмена, сохранить его здоровье и повысить результативность.

ПОИСК НОВЫХ АМИЛОИДОГЕННЫХ БЕЛКОВ ЧЕЛОВЕКА

**Зелинский А.А.¹, Романова Н.В.¹, Каява А.В.², Рубель А.А.¹, Чандрамоулишваран П.³,
Чернов Ю.О.^{1,3}**

¹ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; ²Centre de Recherche en Biologie cellulaire de Montpellier, Montpellier, France; ³School of Biological Sciences, Georgia Institute of Technology, Atlanta, USA

andrew_zelinsky@mail.ru

Амилоиды – самособирающиеся белковые агрегаты фибриллярной природы, для которых характерно формирование кросс-β структур. Особый интерес к изучению амилоидов связан с тем, что они вызывают ряд неизлечимых нейродегенеративных заболеваний человека, таких как болезни Альцгеймера, Паркинсона и др. В то же время накапливается все больше данных о том, что белки в амилоидной конформации могут быть не только патогенными, но и выполнять важные биологические функции. Поэтому потенциально амилоидогенных белков может существовать гораздо больше, чем известно в настоящее время.

Нами разработана дрожжевая тест-система, позволяющий проводить масштабный поиск новых амилоидогенных белков, а также анализировать амилоидогенность потенциальных амилоидогенных белков. Используя дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, мы осуществляем проверку новых потенциально амилоидогенных белков человека, предсказанных *in silico*, с помощью программы ArchCandy. В ходе работы установлено, что амилоидогенными свойствами обладают изоформы 5 и 6 белка PNC3, входящие в состав комплекса PRC1. Этот комплекс обеспечивает подавление гомеостатических генов путём ремоделирования хроматина, таким образом, играя важную роль в раннем эмбриональном развитии.

В настоящее время ведётся проверка амилоидогенности еще целого ряда белков человека, потенциальная амилоидогенность которых была предсказана *in silico*.

Работа выполнена при поддержке грантов РФ № 14-50-00069 и РФФИ №15-04-08159. Для выполнения исследований использовалась приборная база ресурсных центров «Биобанк» и «РМИКТ» научного парка СПбГУ.

ВЛИЯНИЕ ГИПЕР-ЭКСПРЕССИИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ БЕЛКА CHD1 НА ТРАНСКРИПЦИЮ У DR. MELANOGASTER

Ильина Ю. А.¹, Конев А. Ю.¹

¹ФГБУ Петербургский институт ядерной физики НИЦ Курчатовский институт, Гатчина, Россия

ilina_ya@pnpi.nrcki.ru

Сверх-экспрессия нативной и каталитически неактивной форм белка *CHD1* вызывает сильную деформацию политемных хромосом слюнных желез дрозофилы. Деформация обусловлена нарушением структуры хроматина: появлением *de novo* участков декомпактизированных участков хромосом, а также одновременным присутствием в хромосомах пухов, в норме характерных для различных сменяющих друг друга пуховых стадий. Цель данной работы - изучение связи между влиянием экспрессии трансгенов, кодирующих различные формы белка *CHD1*, на транскрипцию генов в слюнных железах и на изменение структуры тех участков хромосом, где они локализуются.

В качестве контрольных использовали гены *Actin42A* и *U6* (малая ядерная РНК), экспрессия которых в исследуемых мутантах соответствовала линии дикого типа. Проанализировав экспрессию *Sgs*-генов, кодирующих белки секрета слюнных желез (*Sgs3*, *Sgs4* и *Sgs5* - цитологические районы 68C, 3C и 90B, соответственно), у личинок линии дикого типа мы получили данные, соответствующие описанным в литературе - экспрессия от экстремально высоких значений на 5-6 пуховой стадии снижается до минимальных к 10-ой стадии, соответствующей нуль-часовой предкуколке. Совершенно неожиданно транскрипция *Sgs*-генов при повышенной экспрессии обеих форм белка *CHD1* на 5-6 стадии была резко снижена, а на стадии предкуколки отмечен некоторый рост экспрессии. Для прояснения картины изучили транскрипцию других генов из района 3C: *ng2* и *Pig1*, также сильно экспрессирующихся на 5-6 стадии и “молчащих” у предкуколки. У мутанта со сверх-экспрессией *CHD1* дикого типа уровень транскрипции генов *new glue (ng)*, несколько снижен по сравнению с линией дикого типа, а при экспрессии доминант-негативного мутанта произошло резкое (в 7 раз) увеличение транскрипционной активности и на 5-6 и на 10-ой пуховой стадиях. В случае с геном *Pig1* изменения профилей транскрипции были в целом аналогичны дикому типу, но у гипер-экспрессирующего-мутанту форму *CHD1* особей на стадии личинки происходит 5-кратное снижение экспрессии *Pig1*. Следовательно, влияние экспрессии различных форм *CHD1* на транскрипцию носит ген-специфический характер и зависит от того, является ли этот белок активным или нет.

ПРЕДВАРИТЕЛЬНАЯ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА Р-II ПОДОБНОГО БЕЛКА GLNK ИЗ *LACTOBACILLUS BREVIS* SUBS. *GRAVESSENSIS*

Исхакова З.И.¹, Журавлева Д.Э.¹, Каюмов А.Р.¹

¹ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
zalinunya@mail.ru

Семейство Р-II белков - это семейство сигнальных белков, которые были обнаружены в клетках как бактерий, так и растений. Р-II белки распознают метаболические сигналы доступности источника азота и передают их на другие белки, участвующие в регуляции азотного метаболизма. В клетках *B.subtilis* белок GlnK регулирует активность мембранного белка AmtB и фактора транскрипции TnrA путем образованием комплекса AmtB-GlnK-TnrA, и играет ведущую роль в контроле активности генов азотного метаболизма. В клетках бактерий *Lactobacillus brevis*, которые являются близкими родственниками бацилл, нами обнаружен гомолог белка GlnK, однако его функция остается неизвестной.

Целью работы являлось дать предварительную структурно-функциональную характеристику Р-II подобного белка LbrGlnk из *Lactobacillus brevis subs. gravesensis*.

Аминокислотное выравнивание последовательностей показало только 50—70% гомологии белка LbrGlnk с другими изученными Р-II белками. Белок LbrGlnk также имеет АТФ-связывающий сайт GDGK. Анализ генетического окружения гена белка GlnK показал, что ген *glnk* расположен в опероне вместе с генами белков PotA и PotC, которые осуществляют транспорт полиаминов в клетку. Методом гель-фильтрации показана тримерная структура белка, это предполагает сходство свойств белка LbrGlnk с другими Р-II белками. Изометрическая калориметрия (ИТС) показала, что белок предпочтительнее связывается с АДФ (Kd = 50 μM), чем с АТФ (Kd = 357 μM). Однако взаимодействия белка LbrGlnk с 2-кетоглутаровой кислотой или другими нуклеотидами выявлено не было. Этот факт позволяет предположить что белок LbrGlnk играет роль энергетического сенсора в клетках лактобацилл. С помощью Pull Down анализа была показана коэлюция белка LbrGlnk с GlnR-подобным фактор транскрипции семейства MerR. Методом бактериальной двухгибридной системы было показано наличие взаимодействия между белком GlnK и GlnR. Также было выявлено взаимодействие белка LbrGlnk с АТФазой PotA, входящей в состав ABC транспортерного комплекса. Из этого можно предположить, что в клетках лактобацилл может образовываться комплекс PotA-GlnK-GlnR подобный комплексу AmtB-GlnK-TnrA у бацилл.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (Проект №15-04-02583а)

ВКЛАД КОНСЕНСУСНОЙ 5'-НЕТРАНСЛИРУЕМОЙ ОБЛАСТИ В ЭФФЕКТИВНОСТИ ТРАНСЛЯЦИИ ГЕТЕРОЛОГИЧНЫХ ГЕНОВ В РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТКАХ

**Кабардаева К.В.^{1,2}, Мустафаев О.³, Садовская Н.С.¹, Фадеев В.С.¹, Бердичевец И.Н.¹,
Тюрин А.А.^{1,2}**

¹ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия; ²ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет - МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия; ³Бакинский государственный университет, Баку, Азербайджан
kabardaewa@yandex.ru

5'-НТО представляется весьма важным регуляторным элементом, способным оказать влияние на обеспечение стабильности мРНК и эффективность ее трансляции. Поэтому, на наш взгляд, при разработке кассет для экспрессии трансгенов в растениях важно учитывать состав области, предшествующей стартовому кодону. Поиску консенсусной 5'-НТО для генов растений, на примере *A. thaliana*, и оценки ее влияния на эффективность трансляции гетерологичного гена в растительных клетках и посвящена работа.

Результаты биоинформатического анализа с помощью программного обеспечения базы данных FlowGene позволили выявить следующую закономерность: средний размер 5'-нетранслируемой области (5'-НТО) для большинства генов *A. thaliana* с высоким уровнем экспрессии варьирует от 80 до 120 п.н. со средним содержанием GC – 36,5%. На основании результатов выравнивания определена консенсусная 5'-НТО как новый регуляторный элемент, который потенциально может обеспечить высокоэффективную экспрессию и синтез целевого продукта в растениях. Эта последовательность имеет размер 87 п.н. и GC содержание 35,6%. Для того, чтобы выяснить как консенсусная 5'-НТО, выведенная на основании предсказаний, сказывается на эффективности трансляции, был использованы серии векторов: 1) pVIG-T-87-UTR-LG – несущий исследуемый регуляторный элемент в 5'-НТО бирепортерного гена *licB-gfp*, в котором ген термостабильной лихеназы (*licB*) и зеленого флуоресцентного белка (*gfp*) имеют транскрипционно-трансляционное слияние; 2) экспрессионный вектор pVIG-T-LG в котором бирепортерный ген не содержит 5'-НТО. Полученными векторами трансформированы агробактерии (*Agrobacterium tumefaciens*) штамма GV3101, которые затем использованы

для агроинфильтрации 6-недельных растений табака *Nicotiana benthamiana*. Для сравнительного анализа эффективности регуляторного элемента был определен уровень накопления бирепортерного белка в листьях растений табака *N. benthamiana* при агроинфильтрации. Полученные результаты продемонстрировали, что наличие в составе экспрессионного вектора pVIG-T-87-UTR-LG синтетической консенсусной последовательности для 5'-НТО бирепортерного гена обеспечило увеличение накопления бирепортерного белка более, чем на 25%, по сравнению с контролем. Полученные результаты позволили предположить, что синтетическая консенсусная последовательность, обозначенная нами как 87-UTR, выступает в качестве потенциального регуляторного элемента эффективности трансляции.

МАЛЫЕ ДОЗЫ РАДИАЦИИ (3-10 СГР) ВЫЗЫВАЮТ АДАПТИВНЫЙ ОТВЕТ В МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТКАХ.

Кальянов А.А.¹, Ершова Е.С.¹, Вейко Н.Н.¹, Сергеева В.А.¹, Малиновская Е.М.¹, Каменева Л.В.¹, Долгих О.А.¹, Конькова М.С.¹, Ермаков А.В.¹, Костюк С.В.¹

¹ФГБНУ Медико-генетический научный центр, Москва, Россия

googlbubu@gmail.com

На организм человека воздействуют фоновые источники излучения и источники, образуемые в результате техногенной деятельности человека. При этом человек подвергается воздействию низких доз гораздо чаще, чем воздействию высоких доз. Однако, несмотря на интенсивные исследования влияния облучения на стволовые клетки, по-прежнему существуют разногласия в интерпретации эффектов малых доз облучения (<0,5 Гр) на процессы в стволовых клетках.

Исследовали действие малых доз радиации *in vitro* на мезенхимные стволовые клетки (МСК) человека. Работа проводилась на 6 культурах МСК, выделенных из жировой ткани. Все культуры МСК были охарактеризованы по поверхностным маркерам. Показали, что радиация в дозе 3 сГр, 10 сГр и 50 сГр вызывает сильный окислительный стресс в МСК, активируя синтез активных форм кислорода в течение первых 30 минут после радиационного воздействия, что коррелирует с повышенной экспрессией гена *NOX4*. Это, с одной стороны, приводит к окислительной модификации и повреждению ДНК ядер клеток, а, с другой стороны, к активации антиокислительных систем в клетках. Радиация в дозе 3 и 10 сГр через 15-30 минут приводит к образованию множественных разрывов ДНК, число которых снижается через 2 часа после действия радиации. Снижение уровня разрывов ДНК обусловлено активацией систем репарации ДНК. Образование быстрорепазируемых разрывов наиболее ярко проявляется при действии радиации в дозе 10 сГр. Радиация в дозе 50 сГр также вызывает множественные разрывы ДНК ядер МСК, однако, при этом не активируется репарация ДНК, что приводит к гибели части клеток с множественными повреждениями. При действии 10 сГр радиации в МСК активируется экспрессия транскрипционного фактора NRF2, являющегося мастер-регулятором антиоксидантного ответа МСК. Кроме того, радиация в дозе 3 и 10 сГр вызывает сильный антиапоптотический ответ в МСК.

Таким образом, радиация в дозе 10 сГр вызывает наиболее сильный и быстрый адаптивный ответ вслед за повреждением ДНК ядер клеток. Доза 3 сГр вызывала менее заметный адаптивный эффект, растянутый по времени. Доза 50 сГр находится в верхней границе диапазона малых доз и вызывает сильное повреждающее действие на МСК, не вызывая при этом ярко выраженной адаптивной реакции.

Работа поддержана грантом РФФИ 16-04-01099 А.

РОЛЬ МЕТИЛИРОВАНИЯ ПРОМОТОРА В РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА СУБЪЕДИНИЦЫ С СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ЩИТКАХ ПРИ ПРОРАСТАНИИ СЕМЯН КУКУРУЗЫ

Карабутова Л.А.¹, Черкасских М.В.¹, Анохина Г.Б.¹, Добычина М.А.¹

¹ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

rybolov@mail.ru

Функциональная роль изоферментов сукцинатдегидрогеназного комплекса (СДГ) заключается в обеспечении клетки энергией и биосубстратами, особенно на этапе гетеротрофного роста при прорастании семян. При этом важную роль в формировании изоферментов СДГ-системы играют мембрансвязанные субъединицы С и D, в связи с этим, актуальным представляется исследование изменения уровня экспрессии генов *sdh3* субъединицы С СДГ, как гемм-образующей субъединицы.

В качестве объектов исследования использовали семена кукурузы (*Zea mays* L., сорт Воронежская 76). Растения выращивали гидропонным методом при 25°C, 12-часовом световом дне с интенсивностью света 25

Вт/м². Щитки для анализа отбирали через каждые 24 ч в течение десяти дней с начала эксперимента. Далее был осуществлен метил-специфичный ПЦР-анализ с праймерами для гена *sdh3* субъединицы С сукцинатдегидрогеназы с обработанной бисульфитом ДНК.

Исследование уровня транскриптов гена мембрансвязанной субъединицы С СДГ показало неоднородность данного показателя в разные дни прорастания семян кукурузы. Максимальный уровень транскриптов гена *sdh3* достигает на восьмой день прорастания семян. Высокий уровень транскриптов этого гена после 8 дня прорастания семян связан с интенсификацией процесса фотосинтеза, который становится основным источником питания проростка. Увеличение содержания транскриптов гена субъединицы С СДГ, вероятно, связано с необходимостью синтеза дополнительных форм, участвующих в работе альтернативных путей переноса электронов в митохондриях на фоне интенсивной работы фотосинтеза как основного поставщика питательных веществ в клетку. В то же время уровень метилирования отдельных CG-динуклеотидов в составе промотора не изменялся на протяжении всего периода прорастания семян кукурузы.

Таким образом, на основании полученных результатов можно заключить, что метилирование отдельных CG-динуклеотидов промотора изучаемого гена не является определяющим фактором регуляции его экспрессии, а уровень транскриптов гена *sdh3* контролируется иными клеточными регуляторными механизмами.

ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА АНТАГОНИСТА TLR-3 ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ В КЛЕТКАХ CHO

Каторкин С.А.¹, Каторкина Е.И.¹, Мима К.А.¹, Титов И.А.¹, Малооголовкин А.С.¹

¹ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной вирусологии и микробиологии
Россельхозакадемии, Вольгинский, Россия
katorkin2012@mail.ru

Вирус африканской чумы свиней (АЧС) представляет собой ДНК-вирус с икосаэдрической морфологией и классифицируется как единственный представитель семейства Asfarviridae. Вирус обладает широким перечнем механизмов уклонения от иммунной системы хозяина (свиней и клещей). Один из используемых вирусом подходов в иммунной эвазии заключается в мимикрии Toll-подобных рецепторов (TLR). Изучение иммуномодулирующих белков вируса АЧС являются источником потенциально ценных инструментов для понимания патогенеза заболевания и для создания средств борьбы с болезнью. Одним из таких белков вируса АЧС является рI329L-антагонист и ингибитор сигнального пути TLR3, уменьшающий интерфероновый ответ организма. рI329L ингибирует TLR3-опосредованную активацию NF-κB и индукцию INF-β, через активацию TLR3 с лигандом-ДНК, РНК и poly(I:C). Биоинформатический анализ характеризует I329L как высокогликозилированный трансмембранный белок, состоящий из экстраклеточного, трансмембранного и внутриклеточного доменов, имеющий два лейцин-богатых (LRRs) и 3 TIR-подобных доменов, что подтверждает гомологию с семейством TLRs. Нами была получена плазмида «pCMV-I329-His», несущая полноразмерный ген I329L с His-таq на C-конце. При помощи электропорации плазмидой pCMV-I329-His клеточной линии CHO и дальнейшей стабилизации на селективном антибиотике (5 мкг/мл пурамицин), была получена стабильная клеточная линия «CHO-I329-His». Встраивание гена I329L в геном клеток подтверждали постановкой ПЦР с геноспецифическими праймерами с последующим нуклеотидным секвенированием, используя в качестве матрицы ДНК, выделенную из клеток «CHO-I329L-His». С помощью Western Blot подтверждали наличие белка I329L-His в клеточных лизатах «CHO-I329L-His». В результате анализа установлено, что размер рекомбинантного белка составлял 55кДа при расчетной 35кДа. Последовательное дегликозилирование эндогликозидазами PNGase и EndoH целевого белка, приводило к увеличению его электрофоретической подвижности и детектированию специфических полос на уровне ~37 и 35 кДа. Данный факт подтверждает высокую степень гликозилирования целевой молекулы, что приводит к меньшей электрофоретической подвижности. Дополнительно, рекомбинантный белок I329L-His распознавался гипериммунными сыворотками против вируса АЧС, что свидетельствовало о его функциональности и аутентичности. Полученная стабильная клеточная линия «CHO-I329L-His», депонирована в коллекции ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии и может быть использована для изучения и характеристики иммуномодулирующих локусов вируса АЧС. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ – 16-16-00090.

СОЗДАНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО СТРУКТУРНОГО БЕЛКА VP7 ВИРУСА ЭГБО

Каторкина Е.И.

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной вирусологии и микробиологии
Россельхозакадемии, Вольгинский, Россия
elena.fadeeva.1990@inbox.ru

Эпизоотическая геморрагическая болезнь оленей (ЭГБО) – остро протекающая трансмиссивная неконтагиозная вирусная болезнь парнокопытных жвачных, характеризующаяся сильным угнетением, лихорадкой и общим геморрагическим диатезом с отеком подкожных тканей.

Вирус ЭГБО был выделен из диких и домашних жвачных животных в Северной Америке, Азии, Африки и Австралии, а в последнее время в странах, окружающих бассейн Средиземноморья, в том числе странах Марокко, Алжире, Тунисе, Израиле, Иордании и Турции. Эпизоотическая геморрагическая болезнь является эндемическим заболеванием в США. Вспышки в целом совпадают с пиком численности популяции векторов - переносчиков *Culicoides*, так в большинстве случаев вспышек ЭГБО происходит в конце лета и осенью. За последние годы на территории РФ сообщений о вспышках ЭГБО не поступало, хотя изолят данного вируса (Приморский-91) был выделен в 1991 г. из пробы крови от пятнистого оленя в Приморском крае.

Для предотвращения распространения инфекции существует несколько практических мер распыления инсектицидами мест нерестилища *Culicoides*, с помощью которых теоретически можно снизить риск заражения. К сожалению, нет открытого доступа к вакцинам против ЭГБО.

Целью данной работы является создание рекомбинантного структурного белка VP7 вируса ЭГБО. Протеин VP7 является серогруппоспецифическим иммунодоминантным белком, который характеризуется высоким процентом идентичности аминокислотной последовательности среди других серотипов, локализуется в субкорковом слое внутреннего капсида.

Аминокислотная последовательность смоделированного белка была переведена в нуклеотидную и оптимизирована для экспрессии в клетках *E.coli*. Синтез гена S7 вируса ЭГБО осуществляли методом ПЦР с использованием перекрывающихся олигонуклеотидов. Полученный ген клонировали в экспрессирующий вектор pET. На основании кодонового предпочтения, для экспрессии целевого белка был выбран штамм клеток *E.coli* TG-1. Для клеточного продуцента *E.Coli* были подобраны оптимальные условия культивирования с максимальным выходом целевой молекулы. С помощью хелатной хроматографии (Ni-NTA) получен очищенный препарат белка VP7.

Согласно литературным данным в настоящий момент проводятся исследования протективности белка VP7 и его применение в качестве кандидата рекомбинантной вакцины против ЭГБО. Планируется изучение антигенных свойств белка VP7 путем иммунизации животных (кролики), получение специфической сыворотки к ЭГБО и применение полученного белка в иммунологических реакциях (Western Blot, ELISA).

РОЛЬ ПОЛИМОРФНОГО ВАРИАНТА p.L342V (CYP1B1, rs1056836) В ГЕНЕЗЕ СПОРАДИЧЕСКОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ДЛЯ ПАЦИЕНТОВ ИЗ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

Кипень В.Н.¹, Смольник Н.С.²

¹ГУ Научно-практический центр Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь, Минск, Белоруссия; ²УО Международный государственный экологический институт им. А.Д. Сахарова БГУ, Минск, Белоруссия

slavakipen@rambler.ru

Введение. Метаболизм эстрогенов, осуществляемый в молочной железе рядом ферментативных систем (цитохром p450-зависимых монооксигеназ, 17β-гидроксистероиддегидрогеназ, сульфотрансфераз, УДФ-глюкуронилтрансфераз, системы метилирования) является важным регулятором поддержания оптимальной внутритканевой концентрации этих гормонов. Изменение количества или активности ферментов метаболизма и синтеза эстрогенов может нарушать внутритканевый гормональный гомеостаз и лежать в основе злокачественной трансформации клеток молочных желез.

Цель и задачи. Анализ ассоциации полиморфного локуса p.L432V (rs1056836) в гене *CYP1B1* с риском развития РМЖ у пациентов из Республики Беларусь.

Материалы и методы. В исследование были включены 169 пациентов со спорадической формой РМЖ. Критериями отбора пациентов для исследования были: 1) отсутствие основных патогенетически значимых мутаций в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *TP53*, *CHEK2* и *NBS1*; 2) отсутствие в личном анамнезе случаев билатеральных (как синхронных, так и метасинхронных) форм РМЖ; 3) отсутствие ранней манифестации. В группу сравнения

вошли 185 условно здоровых пациентов без онкологической патологии в анамнезе на момент забора крови. Статистическая обработка проводилась с применением ПО «SPSS v.20.0».

Результаты. В группе пациентов с РМЖ распределение генотипов для полиморфного варианта p.L432V (rs1056836) в гене *CYP1B1* следующее: генотип CC – 34,9 % (59/169), CG – 40,2% (68/169), GG – 24,9% (42/169). В группе сравнения распределение оказалось схожим: CC – 33,5% (62/185), CG – 43,2% (80/185), GG – 23,2% (43/185).

Расчет значений отношений шансов (ОШ) для полиморфного варианта p.L432V (rs1056836) в гене *CYP1B1* не выявил статистически значимых ассоциаций с повышенным риском развития РМЖ.

Также не было выявлено статистически значимых ассоциаций для полиморфного варианта p.L432V (rs1056836) в гене *CYP1B1* и клинико-морфологическими характеристиками первичного опухолевого узла, а именно: гистологическим типом опухоли; размером первичной опухоли (Т); наличием метастазов в регионарных лимфоузлах (N); наличием отдаленных метастазов (M); степенью злокачественности опухоли (G); статусом рецепторов к эстрогенам (РЭ) и прогестерону (РП) и молекулярным подтипом РМЖ.

Выводы. Полиморфный вариант g p.L432V (rs1056836) в гене *CYP1B1* не ассоциирован с повышенным риском возникновения РМЖ среди пациентов из Республики Беларусь, а также с молекулярными маркерами РМЖ в контексте гистологического типа опухоли и формированием молекулярных подтипов РМЖ.

КЛОНИРОВАНИЕ КДНК-ГЕНОВ α -, β -, γ -СУБЪЕДИНИЦ ФАКТОРА ИНИЦИАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ 2 *ARABIDOPSIS THALIANA*, ИХ ЭКСПРЕССИЯ В КЛЕТКАХ *ESCHERICHIA* *COLI* И ВЫДЕЛЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ AteIF2 α , AteIF2 β , AteIF2 γ

Кислицин В.Ю.¹, Жигайлов А.В.¹

¹РГП Институт молекулярной биологии и биохимии им. М. А. Айтхожина МОН РК, Алматы, Казахстан
kislitsinval bio@mail.ru

Эукариотический фактор инициации трансляции 2 (eIF2) имеет важное значение в регуляции трансляции у эукариот. Фактор eIF2 состоит из трёх не гомологичных субъединиц. Его основными функциями являются: доставка инициаторной метионил-тРНК (Met-tRNA^{Met}) к 40S рибосомной субчастице и участие в гидролизе GTP после достижения сканирующим 48S комплексом старт-кодона.

У млекопитающих и дрожжей при фосфорилировании α -субъединицы фактора eIF2 по Ser51 (Ser56 у reIF2 α из *Arabidopsis thaliana*) происходит резкое ингибирование трансляции. Указанный механизм требует участия фактора инициации трансляции 2B (eIF2B), аналогов которого нет у растений. Таким образом, значение фосфорилирования eIF2 α у растений не ясно.

Для изучения роли фосфорилирования reIF2 α у растений было решено клонировать кДНК-гены *AteIF2 α* , *AteIF2 β* и *AteIF2 γ* , по-отдельности экспрессировать эти гены в клетках *Escherichia coli* и выделить препараты рекомбинантных белков AteIF2 α , AteIF2 β и AteIF2 γ . Для этого была выделена тотальная РНК из *A. thaliana* и в реакции обратной транскрипции с праймером oligo(dT) получен препарат кДНК. После этого проводилась РОТ-ПЦР со специфическими праймерами.

Полученные ПЦР-продукты были по-отдельности клонированы в экспрессионном векторе pET19b: кДНК-ген *AteIF2 β* - по сайтам *NdeI* и *XhoI*, а кДНК-гены *AteIF2 α* и *AteIF2 γ* - по сайтам *NdeI* и *BamHI*. Все кДНК-гены клонировались с добавлением на 5'-фланге открытой рамки считывания последовательности, кодирующей 10 остатков гистидина (10His-tag). Полученными конструкциями трансформировали экспрессионный штамм *E. coli* BL21(DE3). Корректность конструкций проверялась методами ПЦР и рестрикции, а нуклеотидные последовательности вставок были выверены секвенированием ДНК. Для индукции синтеза белков использовался изопропил- β -D-1-тиогалактопиранозид (ИПТГ, 1мМ). Для подтверждения экспрессии проводили электрофорез тотальных препаратов белков по Laemli с последующим вестерн-блоттингом с использованием моноклональных мышинных антител Penta-His. Очищенные препараты рекомбинантных белков были выделены методом аффинной хроматографии с использованием Ni-активированной агарозы в нативных и денатурирующих условиях. К выделенным рекомбинантным белкам были получены крысиные поликлональные антитела.

В результате была разработана методика получения рекомбинантных белков AteIF2 α , AteIF2 β и AteIF2 γ . Впервые клонированы и экспрессированы кДНК-гены *AteIF2 α* , *AteIF2 β* и *AteIF2 γ* . Выделенные рекомбинантные белки могут быть использованы для сборки *in vitro* рекомбинантного фактора AteIF2 и изучения влияния его фосфорилирования на трансляцию у растений.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕННОГО СЕМЕЙСТВА, КОДИРУЮЩЕГО NCR-ПЕПТИДЫ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM* L.)

Клюкова М.С.¹, Афонин А.М.¹, Жуков В.А.¹, Тихонович И.А.^{1,2}

¹ФГБУН Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия; ²ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия
marina.kliukova@gmail.com

Бобовые растения способны вступать в симбиотические взаимоотношения с азотфиксирующими почвенными бактериями (ризобиями), при этом в клубеньках растений, принадлежащих к IRLC (Inverted Repeat-Lacking Clade) бобовым, бактерии терминально (необратимо) дифференцированы и не жизнеспособны после экстракции из клубенька. Как стало известно, за процесс терминальной дифференцировки у данных растений ответственны клубенек-специфичные цистеин-богатые пептиды (NCR-пептиды). Геном *M. truncatula* содержит порядка 700 генов, принадлежащих к данному семейству, в то время как у важного сельскохозяйственного растения *P. sativum* известно восемь генов, кодирующих NCR-пептиды. Поэтому целью исследования является идентификация и характеристика новых последовательностей, относящихся к семейству NCR-пептидов у гороха посевного.

Поиск генов-кандидатов проводился по гомологии с известными последовательностями NCR-пептидов *M. truncatula* и *P. sativum* с использованием tBLAST и tBLASTn алгоритмов поиска в базе данных транскриптома клубеньков гороха *P. sativum* SGE. Благодаря применению данного подхода было идентифицировано более 150 уникальных последовательностей, которые удовлетворяют всем критериям, предложенным для данного генного семейства. Все идентифицированные последовательности можно разделить на несколько групп в зависимости от временного профиля экспрессии. Примечательно, что гены NCR-пептидов демонстрируют согласованную экспрессию не только на различных стадиях развития клубеньков, но и в клубеньках мутантов по генам *Sym40* и *Sym42*. Данный факт свидетельствует, во-первых, о сходстве регуляторных последовательностей промоторов генов NCR-пептидов, и, во-вторых, о роли генов *Sym40* и *Sym42* на последовательных стадиях единого каскада передачи сигнала при формировании азотфиксирующих клубеньков гороха.

В дальнейшие планы входит поиск дополнительных последовательностей NCR-пептидов в общедоступных базах данных транскриптомов клубеньков *P. sativum* с использованием более сложных алгоритмов поиска, так как для корректного аннотирования последовательностей высоковариабельных пептидов небольшого размера в пределах семейства необходимо применять специальные программы, в частности SPADA (Small Peptide Alignment Discovery Application), алгоритм работы которой заключается в проведении множественного выравнивания последовательностей известных представителей генного семейства и построении предсказательной модели для поиска новых членов этого семейства.

Исследование поддержано грантами РНФ (14-24-00135 и 16-16-00118), РФФИ (16-04-01859-а) и НШ-6759.2016.4.

ТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ МЕЗЕНХИМНЫХ СТЕВЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА С МОДУЛЯЦИЕЙ ЭКСПРЕССИИ БЕЛКА ТЕСКАЛЦИНА

**Колобынина К.Г.¹, Соловьева В.В.¹, Шагимарданова Е.И.¹, Атаи Атуса Касем¹, Слепак В.З.²,
Ризванов А.А.¹**

¹ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия; ²Медицинская школа Миллера университета Майами, Майами, США
korenaticat@mail.ru

Открытый в 2001 году белок тескалцин, принадлежащий к семейству EF-hand Ca^{2+} -связывающих белков, показал свое участие в самых разнообразных процессах в организме: взаимодействие с субъединицей 4 сигнасомы COP9, Na^+/H^+ -антипортом 1 типа, контроль экспрессии факторов транскрипции семейства Ets через РМА-индуцированный ERK-путь, участие в NF- κ B сигнальном пути, связь с высшими когнитивными функциями, а кроме того он является потенциальной онкомишенью, нейрональным маркером и ингибитором гипертрофии сердца. Кроме того, также было показано, что тескалцин вовлечен в процессы дифференцировки и пролиферации клеток, в том числе и стевловых. Однако до сих пор почти ничего не известно о молекулярном механизме действия этого белка в клетках человека. В то же время мезенхимные стевловые клетки из жировой ткани (МСК-ЖТ) нашли свое применение в регенеративной и клеточной медицине благодаря своим качествам и мы прежде уже показали, как изменяются их свойства при эктопической экспрессии тескалцина. Выяснить, через какие сигнальные клеточные пути обуславливается грация экспрессии тескалцина и фенотипические проявления модифицированных МСК-ЖТ и обнаружить новые потенциальные белки-эффекторы стало нашей задачей.

Цель работы — провести транскриптомный анализ мезенхимных стволовых клеток человека (МСК-ЖТ) из жировой ткани человека со сверхэкспрессией и нокдауном белка тескалцина.

Были исследованы четыре клеточных линии МСК-ЖТ с разным уровнем экспрессии тескалцина в результате генной модификации рекомбинантными лентивирусами: МСК-ЖТ с эктопической экспрессией тескалцина, МСК-ЖТ с нокдауном тескалцина, МСК-ЖТ с экспрессией GFP, контрольные немодифицированные МСК-ЖТ. Из всех образцов была выделена мРНК и в дальнейшем проведен анализ транскриптома на платформе RNAseq. Полученные данные о генах каждой клеточной линии были нормализованы и проанализированы с помощью открытых биоинформатического ПО. Три образца модифицированных МСК сравнивались с данными контрольных клеток. Для каждого образца были выделены группы активированных и ингибированных генов по сравнению с контролем. Отбирались гены-кандидаты, уровень значимости изменения экспрессии которых был не менее 0,05. Была проведена функциональная аннотация и функциональная кластеризация генов-кандидатов.

Обработка результатов выявила несколько достоверных функциональных групп генов, активирующихся и ингибирующихся в ответ на изменение экспрессии тескалцина в МСК-ЖТ человека.

Работа финансировалась грантом Российского Фонда Фундаментальных Исследований №15-44-02509.

ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТИ ДВУДОМЕННЫХ ЛАККАЗ РОДА STREPTOMYCES

Коляденко И.А., Костарева О.С., Михайлина А.О., Габдулхаков А.Г., Тищенко С.В.

ФГБУН Институт белка РАН, Россия, Пушкино
kolyadenko_ilya@mail.ru

Лакказа (КФ 1.10.3.2, бензолдиол кислород оксидоредуктаза) – медьсодержащая оксидоредуктаза, катализирующая окисление широкого спектра фенольных субстратов и некоторых неорганических ионов, с сопутствующим восстановлением молекулярного кислорода до воды. В природе встречаются как трехдоменные лакказы, так и двухдоменные. Первые характерны для грибов, растений, насекомых и бактерий, вторые встречаются только в бактериях. В качестве субстратов для лакказ выступают фенолы, метокси-замещенный фенолы, аминифенолы, диамины, сахара, ненасыщенные жирные кислоты и различные неорганические ионы.

Бактериальные двухдоменные лакказы, по сравнению с трехдоменными, обладают уникальными свойствами: высокой устойчивостью к ингибиторам, способностью катализировать окисление фенольных субстратов не только при щелочных, но и кислотных значениях pH, высокой термостабильностью, более широким спектром субстратной специфичности.

Функциональные тесты бактериальных лакказ рода *Streptomyces*: *Streptomyces viridochromogenus*, *S. griseoflaous* и *S. lividans* показали, что лакказа из *S. viridochromogenus* обладает самой высокой термостабильностью (>90°C), тогда как два других фермента были менее устойчивы к действию температуры (85°C и 75°C, соответственно). Мы провели анализ выравнивания последовательностей и наложения пространственных структур исследуемых лакказ. На основе этих данных и данных, полученных при помощи программ и web-сервисов, позволяющих рассчитывать изменение термостабильности белков в результате замен аминокислотных остатков, сделали предположение, что более высокая термостабильность лакказ из *S. viridochromogenus* может быть в основном обусловлена отличиями трех аминокислотных остатков, располагающихся в одной из гидрофобных областей фермента.

Для проверки этой гипотезы нами была сконструирована генетическая конструкция на основе вектора pET32a XaLic, несущая ген лакказы из *S. griseoflaous* со следующими заменами аминокислотных остатков: M54L/A56I/F92V. Получен штамм-продуцент, вырабатывающий необходимый белок слитый с тиоредоксином, который в результате очистки отщепляется с помощью протеазы Xa. В дальнейшем планируется проведение анализа термостабильности мутантной формы лакказы из *S. griseoflaous* и определение ее пространственной структуры.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (проект № 15-04-03002-а) и Программы Президиума МБ РАН.

ВЛИЯНИЕ МУТАЦИИ В ГЕНЕ ND6 МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ I КОМПЛЕКСА ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ МИТОХОНДРИЙ ФИБРОБЛАСТОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НА НИХ ОКИСЛЕННОЙ ВКДНК

Конькова М.С.¹, Цыганкова П.Г.¹, Сергеева В.А.¹, Ершова Е.С.¹, Вейко Н.Н.¹, Костюк С.В.¹

¹ФГБНУ Медико-генетический научный центр, Москва, Россия

mkonkova@gmail.com

Исследовали влияние мутации в гене *ND6* митохондриальной ДНК (мтДНК) на экспрессию генов I комплекса дыхательной цепи митохондрий фибробластов при воздействии на них окисленной вкДНК. В исследовании использовали фибробласты кожи пациента с Ли-подобным синдромом с мутацией m14441T>C в гене *ND6* мтДНК и модельную окисленную ДНК. Показали, что мутация m14441T>C в гене *ND6* мтДНК (в сравнении с другими мутациями в мтДНК) значительно влияет на сигнальные пути, регулирующие ответ клеток на окислительный стресс, ингибируя антиокислительные сигнальные пути в клетках при действии ДНКокси (экспрессия генов *NRF2*, *NOX4* и *SOD1* снижена по сравнению со здоровым контролем в 5-8 раза). В данной работе исследовали уровень экспрессии генов *NDUFA1*, *NDUFA4*, *NDUFA5*, *NDUFA10*, *NDUFB10*, *NDUFC2*, *NDUFS7*, *NDUFS2*, *NDUFV1*, *NDUFS1*, *NDUFA9*, *ACAD9* ядерной ДНК и генов *ND5*, *ND4L*, *ND4*, *ND2*, *ND1* митохондриальной ДНК, белковые продукты которых входят в состав и/или регулируют работу I комплекса дыхательной цепи митохондрий. Показали, что в фибробластах больного с синдромом Ли повышена экспрессия *NDUFA4*, *NDUFC2*, *ACAD9* ядерной ДНК и гена *ND4* митохондриальной ДНК, но снижена экспрессия генов *ND1* и *ND5* митохондриальной ДНК по отношению к уровню экспрессии соответствующих генов в фибробластах здорового донора. Окисленная вкДНК в концентрации 50 нг/мл через 24 часа в фибробластах кожи здорового донора увеличивала экспрессию антиапоптотических генов *BCL2*, *BCL2A*, *BCL2L* в 2- 2,5 раза, и снижала уровень экспрессии проапоптотического гена *BAX* в 1,8 раз, что свидетельствует о снижении уровня апоптоза в ответ на ДНКокси. В фибробластах с мутацией ДНКокси в концентрации 50 нг/мл через 24 часа, наоборот, снижает уровень экспрессии антиапоптотических генов *BCL2*, *BCL2A*, *BCL2L* в 1,5 - 2 раза, увеличивая при этом уровень экспрессии проапоптотического гена *BAX* в 2 раза. Это свидетельствует о том, что мутация m14441T>C в гене *ND6* мтДНК не только снижает митохондриальный потенциал, но и изменяет транскрипционный ответ генов, работа которых тесно связана с функционированием митохондрий на добавление к клеткам окисленной ДНК. Таким образом, в экспериментах *in vitro* воздействие ДНКокси на клетки с известной мутацией позволяет выявить аномальный ответ клеток на развитие окислительного стресса и определить гены, экспрессия которых регулируется иначе, чем в нормальных клетках.

ИЗУЧЕНИЕ ПРЕСТАЦИОНАРНОЙ КИНЕТИКИ РЕАКЦИИ ТРАНСЛОКАЦИИ РИБОСОМ *ESCHERICHIA COLI*, СОДЕРЖАЩИХ БЕЛОК L5 С УКОРОЧЕННОЙ ПЕТЛЕЙ В2-В3

Коробейникова А.В.¹, Максимова Е.М.², Корепанов А.П.¹, Коневега А.Л.², Гарбер М.Б.¹

¹ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия; ²ФГБУ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П.

Константинова НИЦ Курчатовский институт, Гатчина, Россия

kav-20@rambler.ru

Эволюционно консервативный 5S рРНК-связывающий белок L5 расположен на вершине центрального протуберанца большой рибосомной субчастицы, где, согласно кристаллографическим данным, может образовывать функционально важные контакты. Ряд петель, составляющих половину структуры этого белка, участвуют во взаимодействии с компонентами рибосомы и лигандами трансляции. Так, петля β2-β3 белка L5 простирается до тРНК в Р-участке бактериальной рибосомы. При этом некоторые консервативные аминокислотные остатки белка L5 (S73 и R80 в белке *Escherichia coli*) могут формировать водородные связи с нуклеотидами (G19 и C56) D- и Т-шпилек тРНК. На основании этих и других данных была предложена возможная модель участия белка L5 в транслокации тРНК в рибосоме, однако детали этого процесса неясны. Ранее нами была начата работа, посвященная изучению роли петли β2-β3 белка L5 в функционировании рибосомы *E. coli*. Было установлено, что одиночная (S73A или R80A) или двойная (S73A/R80A) замена в исследуемой петле белка не влияют на рост клеток и активность их аппарата трансляции. Однако удаление восьми или только четырех остатков (ΔS73-R80 или ΔA75-K78) в петле β2-β3 белка L5 приводит к замедлению роста клеток (в 2 и 1.5 раза, соответственно) и снижению эффективности работы их аппарата трансляции. Таким образом, исключение прямых контактов белка L5 с тРНК не влияет на функционирование бактериальной рибосомы *in vivo*, однако присутствие в белке торцевой части петли β2-β3 оказывается для этого очень важным. Учитывая литературные данные о возможном участии белка L5 в процессе транслокации, в данной работе мы начали изучение престабионарной кинетики реакции транслокации рибосом, содержащих белок L5 с делецией

половины петли $\beta 2$ - $\beta 3$ ($\Delta A75$ -K78), с помощью метода остановленного потока. Как оказалось, укорочение петли белка L5 не изменяет скорость транслокации в стандартных условиях (37°C , 7 mM Mg^{2+}). Однако при увеличении концентрации магния (до 20 mM) скорость транслокации мутантными рибосомами увеличивается в два раза. Такой же эффект наблюдается и при добавлении антибиотика спектиномицина. Все это может указывать на изменение конформации тРНК в Р участке рибосом, содержащих белок L5 с укороченной петлей $\beta 2$ - $\beta 3$. В дальнейшем мы планируем изучить престабионарную кинетику реакции транслокации рибосом, содержащих белок L5 с делецией всей исследуемой петли ($\Delta S73$ -R80). Работа поддержана Программой МКБ РАН.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЛАККАЗЫ ИЗ *STREPTOMYCES GRISEOFLOAVUS* AC-993 С ЗАМЕНОЙ ГИСТИДИНА В ПОЛОЖЕНИИ 165 НА АЛАНИН

Костарева О.С.¹, Габдулхаков А.Г.¹, Михайлина А.О.¹, Лисов А.В.², Гарбер М.Б.¹, Тищенко С.В.¹

¹ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия; ²ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино, Россия
oskostareva@gmail.com

Лакказы (ЕС 1.10.3.2) - медь-содержащие оксидоредуктазы, катализирующие окисление фенольных соединений кислородом. Предметом наших исследований являются двухдоменные (малые) лакказы, обладающие высокой термостабильностью, способностью катализировать окисление фенольных субстратов при щелочных значениях pH и высокой устойчивостью к ингибиторам. Ранее мы определили кристаллическую структуру двухдоменной лакказы из *Streptomyces griseoflavus* (SgfSL).

Анализ структуры позволил предположить, что гистидин в положении 165, расположенный во второй координационной сфере T2/T3 центра, может служить «воротами» продукт/субстратного канала. Для проверки этой гипотезы, мы получили генетическую конструкцию и выделили мутантную форму лакказы с заменой гистидина 165 на маленький аминокислотный остаток аланин. Белок был закристаллизован, его структура определена с разрешением 2,35 Å.

Оказалось, что в структуре наблюдается отсутствие иона меди в T2-центре и пониженная (0,66%) занятость T3_β ионами меди. Известно, что неполная занятость медью T2/T3 центра приводит к понижению функциональной активности лакказ. Тем не менее, замена His165 на аланин привела к тому, что белок при недостаточной заполняемости медью T2/T3 центра проявлял на порядок большую активность, чем лакказа дикого типа, в структуре которой также практически отсутствовала медь T2 центра (0,11%) и наблюдался дефицит (0,69%) ионов меди T3_β. Данные исследования подтвердили наши предположения о наличии продукт/субстратного канала и важной роли гистидина 165.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (проект № 15-04-03002-а) и Программы Президиума МКБ РАН.

Tishchenko SV, Gabdulkhakov AG, Trubitsina LI, Lisov AV, Zakharova MV, Leontievsky AA.

Crystallization and X-ray diffraction studies of a two-domain laccase from *Streptomyces griseoflavus*// *Acta Cryst.* (2015). F71, 1200–1204

КЛОНИРОВАНИЕ ЛЮЦИФЕРАЗЫ ГРИБА *NEONOTHOPANUS NAMBI*

Котлобай А.А.¹, Маркина Н.М.¹, Мокрушина Ю.А.¹, Ямпольский И.В.¹

¹ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия
lillllk@mail.ru

Биолюминесценция – это явление, обусловленное способностью некоторых живых организмов испускать свет. В процессе химической реакции молекула субстрата, люциферина, окисляется кислородом воздуха. Процесс катализируется белком люциферазой, которая способствует превращению люциферина с помощью кислорода в молекулу оксильюциферина в возбужденном состоянии, которая затем переходит в нормальное состояние, испуская при этом квант видимого света. Из четырех выделяемых ныне царств живых организмов биолюминесцентных видов нет только среди царства растений.

Методы биологических и медицинских исследований, различные анализы и технологии, основанные на люциферин-люциферазных реакциях играют огромную роль в современной науке. Спектр их применения огромен - от аналитических методов *in vitro* и *in vivo*, включающих в себя тесты на различные вещества, до биоимиджинга живых систем в режиме реального времени. Однако наличие различных недостатков и ограничений, сужающих возможности использования и применения этих методик, стимулирует дальнейшее

изучение природных биолуминесцентных систем с целью поиска новых люциферин-люцифераз для расширения спектра методов и улучшения уже существующих инструментов анализа.

На данный момент известно около 100 видов светящихся грибов, все они относятся к классу базидиомицетов. Очень важно, что люминесценция грибов – это процесс, способный идти сутками без внесения дополнительных компонентов. К примеру 0.2 г плодовых тел гриба *P. stipticus* испускают $1-2 \times 10^{10}$ фотонов в секунду в течении многих дней. Люциферин-люциферазная система грибов обладает огромным потенциалом для ее применения в различных практических приложениях, в первую очередь, для биологии и медицины, сравнимым с аналогичным применением люциферин-люциферазной системы светлячка.

Попытки идентифицировать компоненты биолуминесцентной системы грибов продолжаются на протяжении последних 50-ти лет. Несколько лет назад в нашей лаборатории удалось расшифровать структуру люциферина грибов и разработать метод его синтеза (1). Теперь же в нашей работе нам удалось обнаружить и клонировать ген люциферазы гриба *Neonothopanus nambi*, а так же добиться его экспрессии в клетках дрожжей *P. pastoris*, бактерий *E. coli*, и в линии клеток млекопитающих HEK293.

1. Purtov, K.V.; Petushkov, V.N.; Baranov, M.S.; Mineev, K.S.; Rodionova, N.S.; Kaskova, Z.M.; Tsarkova, A.S.; Petunin, A.I.; Bondar, V.S.; Rodicheva, E.K.; Medvedeva, S.E.; Oba, Yuichi; Oba, Yomiko; Arseniev, A.S.; Lukyanov, S.; Gitelson, J.I.; Yampolsky, I.V. The chemical basis of fungal bioluminescence. *Chem. Int. Ed.* **2015**, 54, 8124–8128.

2.

ИЕРАРХИЯ УРОВНЕЙ КОМПАКТИЗАЦИИ ХРОМАТИНА В МИТОТИЧЕСКИХ ХРОМОСОМАХ *NIGELLA DAMASCENA*

Кузнецова М.А.

ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия
mak1989@yandex.ru

Организация генома и механизмы его компактизации в составе живой клетки являются одними из основных вопросов современной биологии. Большая часть экспериментальных данных о структурной организации митотических хромосом относится к нескольким видам млекопитающих с относительно маленьким геномом. Но у некоторых растений и животных хромосомы имеют многократно больший размер. Структурные механизмы, позволяющие увеличить размер хромосом, изучены слабо. Целью настоящей работы является изучение уровней компактизации хроматина в составе митотических хромосом *Nigella damascena* L. Изучение компактизации хромосом требует мечения дискретных локусов хромосом, что сложно сделать при работе с растениями. Мы разработали новый метод мечения реплицирующегося хроматина в клетках корешков растений. Для этого использовали введение нуклеотида EdU в поздней S-фазе, когда метка выявлялась в виде обособленных блоков. Выявление EdU проводилось с помощью click-реакции на полутонких срезах корешков, заключенных в акриловую смолу LR White, что позволило добиться высокого разрешения по оси z (в 3-4 раза выше, чем в конфокальной микроскопии). Мы обнаружили, что при переходе от ранней к поздней профазе меченные локусы хромосом теряют линейность расположения, что свидетельствует о сворачивании (фолдинге) “ранне-профазной” хромосомы. Более детальная характеристика уровней компактизации была проведена с использованием электронно-микроскопической морфометрии. Мы обнаружили, что в ранней профазе хромосомы, контуры которых выявляются плохо, образованы фибриллами диаметром ~150 нм (хромонемами). При переходе к средней профазе обособляются “ранне-профазные” хромосомы диаметром ~500 нм, образованные хромонемами. В поздней профазе эти хромосомы сворачиваются в хромосомы диаметром ~800 нм, что сопровождается уменьшением диаметра “ранне-профазных” хромосом до ~300 нм и к невозможности выявить хромонемы в их составе. В телофазе происходит деконденсация хроматид, что приводит к обособлению компонентов, соответствующих “ранне-профазным” хромосомам (~400 нм), и хромонем. При этом в осевой области хроматиды формируются полости, что говорит о принципиально ином принципе организации фибриллы, соответствующей “ранне-профазной” хромосоме, чем у животных, для которых характерна повышенная плотность хроматина в осевой области. Таким образом, использование сочетания методов позволило выявить иерархию уровней компактизации хроматина у растения с большим геномом. Дальнейшие исследования позволят уточнить принцип фолдинга хроматиновых фибрилл у видов с большим геномом.

ВЛИЯНИЕ rs2619364, rs2583988 ГЕНА АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА (SNCA) НА РИСК РАЗВИТИЯ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА И УРОВЕНЬ АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА В CD45+ КЛЕТКАХ КРОВИ

Кулабухова Д.Г.^{1,2}, Гараева Л.А.^{1,2}, Улитина А.С.^{1,2}, Емельянов А.К.^{1,2}, Пчелина С.Н.^{1,2}

¹ФГБУ Петербургский институт ядерной физики НИЦ Курчатовский институт, Гатчина, Россия; ²ФГБОУ ВО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия
KulabuhovaDarya@gmail.com

Накопление альфа-синуклеина и его агрегация в нейрональных клетках является ключевым этапом в развитии болезни Паркинсона (БП). Ранее в нескольких полногеномных ассоциативных исследованиях была показана ассоциация ряда однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) в гене альфа-синуклеина (*SNCA*) с риском развития БП.

Целью настоящего исследования являлась оценка ассоциации полиморфных вариантов гена *SNCA* (rs2619364 (A/G), rs2583988 (C/T)) с БП в Северо-Западном регионе России, а также их влияния на уровень альфа-синуклеина в однородной CD45+ клеточной фракции крови как в группе пациентов с БП, так и в контроле.

Идентификацию ОНП проводили в группе пациентов с БП (n=314) и контроля (n=340) методом ПЦР с последующим рестрикционным анализом. Сортинг CD45+ клеток крови осуществлялся с использованием магнитного ручного сепаратора MACS (Miltenyi Biotec, США) и колонок miniMACS типа MS (Miltenyi Biotec, США). Использование метода магнитного сортирования после центрифугирования периферической крови в градиенте фиколла и получения однородной фракции CD45+ клеток позволило исключить контаминацию образцов альфа-синуклеином эритроцитов. Лизис CD45+ клеток крови осуществлялся с использованием набора Total Protein Extraction Kit (Chemicon (Millipore), США). Измерение уровня общего белка в клеточных лизатах было проведено с использованием набора Pierce BCA Protein Assay kit (Thermo Scientific, США). Уровень альфа-синуклеина оценивался методом ИФА с использованием набора Human alpha-synuclein ELISA kit (Invitrogen, США). Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы SPSS версия 12.0. Значения $p < 0.05$ считались статистически значимыми. Оценка сцепления ОНП проводилась с использованием программы HaploView (<https://www.broadinstitute.org/haploview/haploview>).

Статистически значимая ассоциация с БП была показана для ОНП rs2619364 (A/G): носительство генотипа GG увеличивало риск развития БП в 3,5 раза [95%CI:1,39-8,97], $p=0,008$. При этом влияния на уровень белка обнаружено не было. Показано высокое неравновесное сцепление для rs2619364 и rs2583988 ($N = 658$, $D' = 0.87$ (95% ДИ: 0.83-0.91), $r^2 = 0.72$). Полученные данные позволяют говорить о том, что аллельный вариант rs2619364 (A/G) ассоциирован с риском развития БП в Северо-Западном регионе России.

Исследование поддержано грантом РФФИ №16-54-76009 ЭРА_a

ИДЕНТИФИКАЦИЯ АЛЛЕЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ГЕНА КОРОТКОСТЕБЕЛЬНОСТИ RHT-B1 В ОБРАЗЦАХ ОЗИМОЙ ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЫ

Купрейшвили Н. Т.¹

¹ФГБНУ Аграрный Научный Центр "Донской", Зеленоград, Россия
kupreyshvilin@mail.ru

В России основной продовольственной культурой является пшеница. Короткостебельность пшеницы - полезный признак, способствующий технологичности уборки и устойчивости к полеганию. Одним из приоритетных направлений селекции пшеницы является создание таких сортов. Определение генов молекулярными маркерами способствует ускорению селекционного процесса.

Цель работы состояла в определении аллелей гена Rht B1 в образцах озимой твердой пшеницы с помощью молекулярных маркеров.

Исследования проводились в лаборатории маркерной селекции ФГБНУ «АНЦ «Донской»» (ранее ФГБНУ ВНИИЗК им. И. Г. Калининко) в 2016 году. Материал исследования - 119 коллекционных и селекционных образцов озимой твердой пшеницы. ДНК выделяли из 5-7-дневных проростков по методу Plaschke [1]. Идентификация генов осуществлялась методом ПЦР со специфическими праймерами, маркирующими аллели гена Rht-B1. Для определения аллелей Rht-B1a и Rht-B1b были использованы 3 праймера в двух сочетаниях: BF+MR1 и BF+WR1 [2]. Для определения аллели Rht B1e - 2 праймера - NH.BF.2 и Me.R. [3]. Продукты амплификации разделяли электрофорезом в 2% агарозном геле, затем проводили окраску бромистым этидием и фотографировали в ультрафиолетовом свете прибором BioRad Gel Doc XR+. Оценку образцов проводили в программе BioRad ImageLab 5.1.

В результате анализа выявлено 24 образца с аллелью Rht-B1a, незначительно снижающей высоту растений; 4 образца с аллелью Rht B1b (Степной Янтарь, Шулындинка, 840/12, 521/13), снижающей высоту

растений на 10-15 см.; 3 образца, имеющие сочетание аллелей Rht-B1a и Rht-B1b (776/10, 301/12, 80/13), а также 2 образца с мутантной аллелью Rht-B1e (Новинка 4, Яхонт), значительно снижающей высоту. Рекомендуем использовать выявленные образцы озимой твердой пшеницы с аллелями Rht-B1b и Rht-B1e в селекционных программах, направленных на формирование короткого стебля.

Литература:

1. Plaschke J., Ganai M. W., Roder M. S. Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using microsatellite markers – Theor. Appl. Genet. 1995. V. 91. pp. 1001-1007.
2. Ellis M. H. “Perfect” markers for the Rht-B1b and Rht-D1b dwarfing genes in wheat / M. H. Ellis, W. Spielmeyer, K. R. Gale et. al. // Theor. Appl. Genet. – 2002. – V. 105. – pp. 1038-1042. doi: 10.1007/s00122-002-1048-4
3. Li A. Isolation of a gibberellins-insensitive dwarfing gene, Rht-B1e, and development of an allele-specific PCR marker / A. Li, W. Yang, X. Guo, D. Liu et. al. // Mol. Breeding – 2012. – V. 30. – pp. 1443-1451. doi: 10.1007/s11032-012-9730-y
- 4.

ВЛИЯНИЕ ДОФАМИНА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА IN VITRO ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Лавринова А. О.¹, Емельянов А. К.^{1,2,3}, Литусова Е. М.¹, Николаев М. А.^{1,2,3}, Пчелина С. Н.^{1,2}

¹ФГБУ Петербургский институт ядерной физики НИЦ Курчатовский институт, Гатчина, Россия; ²ФГБОУ ВО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия; ³ФГБУ ВОиН Санкт-Петербургский национальный исследовательский Академический университет РАН, Санкт-Петербург, Россия
lavrinova.anna@gmail.com

Развитие болезни Паркинсона (БП) обусловлено гибелью дофаминергических нейронов черной субстанции головного мозга. Сейчас считается, что агрегация пресинаптического белка альфа-синуклеина связана с нейродегенерацией при БП. Предполагается, что гибель дофаминергических нейронов может быть опосредована влиянием дофамина на процесс олигомеризации альфа-синуклеина через эпигенетические пути регуляции экспрессии гена *SNCA*.

Целью нашей работы являлось изучение влияния дофамина на экспрессию гена *SNCA in vitro* у пациентов с БП и в контроле.

В данном исследовании было рассмотрено изменение уровня экспрессии *SNCA* в лимфоцитах, выделенных из периферической крови (ЛПК), у 20 пациентов (средний возраст 65,5±5,32 лет) с БП, не принимающих Л-ДОФА препараты и 15 индивидуумов (средний возраст 62,38±7,97 лет) контрольной группы. Было проведено культивирование на протяжении трех суток в CO₂ – инкубаторе (5% CO₂, 37°C) ЛПК указанных групп в присутствии хлорида дофамина (Sigma-Aldrich, США) в количестве 100мкМ. С использованием ПЦР в режиме реального времени и интеркалирующего красителя SYBR Green 1 (SsoAdvanced Universal SYBR Green Supermix, Bio-Rad, США) был оценен уровень мРНК гена *SNCA* в культивированных ЛПК как в присутствии хлорида дофамина, так и без него. Относительный уровень мРНК гена *SNCA* оценивался относительно двух референсных генов (*18S rRNA*, *GNB2L1*) с использованием метода 2^{-ΔΔCt}. Сравнение вариационных рядов между исследуемыми группами проводилась с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни. Все расчеты были проведены с использованием программы SPSS версия 12.0. Значения p<0.05 считались статистически значимыми.

Значения уровня мРНК гена *SNCA* составили: при культивации клеток без хлорида дофамина - группа пациентов с БП – (n=18, медиана (мин-макс): 0,28 (0,0033-0,71)), контроль – (n=15, медиана (мин-макс): 0,16 (0,08-0,97)); при культивации клеток с добавлением в питательную среду хлорида дофамина - в группе с БП – (n=19, медиана (мин-макс): 0,07 (0,0013-0,32)), в контроле – (n=14, медиана (мин-макс): 0,07 (0,02-0,32)). Было обнаружено снижение уровня мРНК гена *SNCA* для клеток, культивированных в присутствии хлорида дофамина, как в случае группы пациентов с БП (p=0,02), так и в контроле (p=0,003).

Полученные данные, свидетельствующие о снижении уровня мРНК гена *SCNA* при воздействии дофамина на ЛПК *in vitro*, позволяют предполагать его участие в регуляции экспрессии гена *SNCA* при БП.

Исследование поддержано грантом РФФИ 16-04-01187.

ИССЛЕДОВАНИЕ РНК-СВЯЗЫВАЮЩИХ СВОЙСТВ НАТИВНОЙ И МУТАНТНОЙ ФОРМ БЕЛКА SmAP ИЗ АРХЕИ *SULFOLOBUS ACIDOCALDARIUS*

Леконцева Н.В.¹, Михайлина А.О.¹, Балобанов В.А.¹, Никулин А.Д.¹

¹ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия

natalja-lekontseva@rambler.ru

Sm и Sm-подобные (Lsm) белки представляют собой большое семейство белков, участвующих в метаболизме РНК. Представители данного семейства были обнаружены во всех трех доменах жизни: бактериях, археях и эукариотах. Принадлежность к данному семейству определяется наличием Sm-фолда, состоящего из N-концевой α -спирали и пяти β -тяжей.

Бактериальный Lsm белок Hfq связывает РНК в трех сайтах на поверхности образуемых ими гексамеров: основной и дополнительный (боковой) уридин-связывающие сайты (узнают У-богатые последовательности регуляторных РНК и мРНК), а также аденин-связывающий сайт, который взаимодействует с поли(А) участками мРНК. Архейные SmAP белки сохраняют способность связывать олиго(У) в аналоге основного уридин-связывающего сайта. Анализируя их пространственные структуры, мы показали, что аденин-связывающий сайт в SmAP прикрыт длинной петлей L4, что должно мешать взаимодействию белка с поли(А) РНК. Для проверки нашего предположения был выбран белок SmAP из археи *Sulfolobus acidocaldarius*, который является типичным представителем этого класса архейных белков с протяженной петлей L4 и формирующий гептамеры в растворе.

Нами получены генетические конструкции, кодирующие гены нативного белка Sac SmAP и его мутантной формы с удаленной петлей L4. Белки выделены с чистотой, пригодной для кристаллизации. Проведен анализ распределения размеров частиц белка в растворе методом динамического рассеяния света. Получены кристаллы белков и определена их структура, что позволило проанализировать их возможные РНК-связывающие свойства.

Работа поддержана Российским научным фондом (грант № 14-14-00496).

НОВЫЙ ЭФФЕКТИВНЫЙ И ЭКОНОМИЧНЫЙ МЕТОД ВЫДЕЛЕНИЯ МИКРОРНК ИЗ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

Летова И.А.¹, Шах М.Р.¹

¹ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

letovairal995@mail.ru

МикроРНК – класс некодирующих 5' – фосфорилированных РНК. МикроРНК посттранскрипционно регулируют экспрессию генов путем специфического связывания мРНК – мишени. Изменения концентрации микроРНК отражают индивидуальную адаптацию организма к конкретным условиям окружающей среды. Целью нашей работы явилось установление ускоренного и экономичного метода выделения микроРНК из клеток человека и животных без примесей других классов РНК.

В ходе исследования были использованы эукариотические клетки: эпителиальные клетки почки собаки и эпителиальные клетки легких человека. Тотальная РНК клеток выделена с помощью коммерческого реагента TRIzol Reagent (Thermo Fisher, США) по рекомендации производителя. При выделении микроРНК из тотальной РНК использовались несколько методов: i) с добавлением 1,8 объема магнитных частиц Agencourt AMPure (Beckman Coulter, США) от образца РНК и очищение от примесей с помощью коммерческого набора mirVana (Thermo Fisher, США); ii) с добавлением магнитных частиц Agencourt AMPure (Beckman Coulter, США), составляющих 0,5 объема РНК, и последовательное очищение от примесей с помощью 100% изопропанола и 75% этанола; iii) второй вариант модифицирован, то есть перед добавлением магнитных частиц образец РНК инкубирован при 70° С в течении 2 мин; iv) удаление рРНК из образцов тотальной РНК было проведено с использованием коммерческого набора RiboMinus (Invitrogen, США) по инструкции производителя. Изменения концентрации РНК в каждом образце контролировались при помощи флюорометра Qubit 2.0 (Thermo Fisher, США). Качественный анализ выделенных РНК был проведен с помощью реагентов “Agilent RNA 6000 Pico Kit” и “Agilent Small RNA Kit” (Agilent Technologies, США) на приборе Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies, США).

При исследовании концентрации в образцах (i) и (ii) РНК не была обнаружена. Концентрация РНК в образце (iii) составляла 2 нг/мкл, концентрация исходных РНК составляла 56 нг/мкл. В образце (iv) концентрация РНК составляла 268 нг/мкл. При анализе размера РНК из выделенных образцов установлено, что в образце (iv) были обнаружены РНК размером более 4000 оснований, также найдены значительные количества рРНК. В образце (iii) РНК размером более 500 оснований не обнаружено. Таким образом, установлено, что метод обработки образцов с тотальной РНК, термически инкубированными в течении двух минут и

последовательно очищенными магнитными частицами, составляющими 0,5 от объема РНК, изопропанолом и этанолом, является наиболее экономичным и эффективным для выделения микроРНК эукариотических клеток.

ЗАМЕНА АМИНОКИСЛОТ БЕЛКА SUP35 В ПОЛОЖЕНИИ 46-47 ВЕДЕТ К ИЗМЕНЕНИЮ МОРФОЛОГИИ АМИЛОИДНЫХ АГРЕГАТОВ

Лихолетова Д.В.¹, Бондарев С.А.¹, Журавлева Г.А.¹

¹ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия
dary.spb@gmail.com

Прион [*PSI⁺*] – амилоидная форма фактора терминации трансляции Sup35 дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Агрегация этого белка приводит к снижению эффективности терминации трансляции и, как следствие, к нонсенс-супрессорному фенотипу [*PSI⁺*] клеток. Белок Sup35 состоит из трех доменов: аминотерминального домена, обуславливающего поддержание приона; карбокситерминального домена, необходимого для терминации трансляции; а также среднего домена. В составе агрегатов белок Sup35 образует параллельную супер-складчатую β -структуру.

Ранее мы продемонстрировали влияние замен полярных аминокислот на заряженные в N-домене Sup35 на свойства фактора [*PSI⁺*]: в частности, замены Q46K и Q47K (Sup35-M1) приводили к потере приона, в то же время Q70K и Q71K (Sup35-M3) не оказывали подобного эффекта. В представленной работе мы проследили за изменением морфологии агрегатов Sup35 *in vivo* при сверхпродукции прионного домена Sup35 с упомянутыми заменами. Для этого были получены плазмиды, содержащие конструкцию *SUP35NM-GFP* с мутациями под контролем индуцибельного промотора гена *CUP1*. Кратковременная сверхпродукция Sup35NM-M1-GFP приводила к изменению количества и формы агрегатов Sup35, детектируемых с помощью флуоресцентной микроскопии, а именно, мы наблюдали образование одного относительно крупного агрегата. Конструкция с прионным доменом «дикого типа», либо с заменами Q70K и Q71K не обладали подобным эффектом, в клетках наблюдалось по несколько мелких агрегатов.

Работы выполнены при поддержке грантов СПбГУ (1.37.291.2015 и 15.61.2218.2013), грантов РФФИ (16-04-00202, 16-34-00582), а также ресурсного центра «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ.

АНАЛИЗ АССОЦИИРОВАННЫХ С GAGA-ФАКТОРОМ БЕЛКОВ D. MELANOGASTER

**Ломаев Д.В.¹, Михайлова А.В.¹, Ерохин М.М.¹, Шапошников А.В.¹, Шидловский Ю.В.¹,
Георгиев П.Г.¹, Шедл П.^{1,2}, Четверина Д.А.¹**

¹ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, Россия; ²Department of Molecular Biology Princeton University, Princeton, USA
lomaevdv@gmail.com

GAGA-фактор (GAF) – фактор транскрипции *D. melanogaster*, вовлеченный в широкий ряд клеточных процессов. Первоначально в экспериментах *in vitro* GAF был идентифицирован как активатор транскрипции генов *Ultrabithorax (Ubx)* и *engrailed (en)*. Кроме того, GAF участвует в формировании свободных от нуклеосом областей хроматина и в привлечении на хроматин ремоделирующих комплексов. В то же время установлена роль фактора GAF в Polysomb-зависимом сайленсинге генов, в конденсации и сегрегации хромосом во время митоза и в инсуляции. На данный момент остаётся непонятным за счёт чего достигается такое разнообразие противоположных функций фактора GAF. Одним из возможных объяснений является способность GAF взаимодействовать напрямую или через посредников с партнёрами, входящими в различные белковые комплексы.

В данной работе с помощью методов иммунопреципитации и масс-спектрометрии были идентифицированы белки, ассоциированные с фактором GAF в ядерном экстракте *D. melanogaster*. В результате был выявлен ряд белков, среди которых компоненты комплексов АТФ-зависимых ремоделеров хроматина; факторы групп Polysomb/Trithorax; факторы, ассоциированные с инсуляторами; субъединицы комплексов Когезин и Конденсин. С помощью двугибридной дрожжевой системы найдены новые прямые партнёры GAF; выявлены домены GAF, необходимые для взаимодействия.

В результате работы показано, что GAF взаимодействует с большим числом партнёров, входящих в различные белковые комплексы, что может служить объяснением участия фактора GAF в разных процессах.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНА *Rpv3* В СОРТАХ ВИНОГРАДА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДНК-МАРКЕРОВ

Макаркина М. В.¹, Ильницкая Е. Т.¹, Токмаков С. В.¹

¹ФГБНУ Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства,
Краснодар, Россия
ilnitskaya79@mail.ru

Милдью – одно из наиболее распространенных и вредоносных грибных заболеваний виноградной лозы, вызывается биотрофным оомицетом *Plasmopara viticola*. У сортов европейского винограда *V. vinifera* (основы современного высококачественного виноградарства) практически не наблюдается устойчивости к милдью. Генотипы, обладающие устойчивостью к *P. viticola*, в основном происходят из Северной Америки. Поиск доноров устойчивости к грибным патогенам является актуальной задачей генетики и селекции винограда. Крупный локус устойчивости *Rpv3* впервые был обнаружен на 18 хромосоме межвидового гибрида Бианка D. Bellin et al. в 2009 г. Известно семь гаплотипов *Rpv3* гена, определяющих устойчивость к патогену. Идентификация гаплотипов возможна сцепленными фланкирующими микросателлитными маркерами UDV305, UDV737.

Цель работы - идентификация гена *Rpv3* в генофонде Российской ампелографической коллекции с использованием ДНК-маркеров.

Нами проанализированы 23 сорта по микросателлитным локусам UDV305 и UDV737 с использованием автоматического генетического анализатора ABI Prism 3130 и специального программного обеспечения Gene Mapper и Peak Scanner. Были изучены генотипы межвидового происхождения зарубежной и российской селекции, аборигенные российские сорта и сорта отечественной селекции *V. vinifera*. Образцы ДНК выделяли методом ЦТАБ из листьев молодых побегов винограда. ПЦР проводили согласно стандартной процедуре. Сорта Бианка, Ноа и Молдова использованы в работе в качестве референсных генотипов. Результаты анализа ДНК показали, что сорта Надежда АЗОС, Кристалл, Кутузовский, Лидия несут *Rpv3* ген: первые три сорта имеют *Rpv3*²⁹⁹⁻²⁷⁹ гаплотип, Лидия - *Rpv3*^{null-287}. Анализ родословных сортов подтверждает полученные данные: Надежда АЗОС унаследовала локус *Rpv3*²⁹⁹⁻²⁷⁹ *V. rupestris* от сорта Молдова, Кристалл и Кутузовский – от сложных межвидовых гибридов Сейв Виллара. Источником гаплотипа *Rpv3*^{null-287} считают *V. rupestris* или *V. labrusca*, сорт Лидия – сеянец *V. labrusca* и может обладать гаплотипом *Rpv3*^{null-287}.

Таким образом, к настоящему времени ген устойчивости к милдью *Rpv3* определен в семи сортах Российской ампелографической коллекции: Бианка, Ноа, Молдова, Надежда АЗОС, Кристалл, Кутузовский, Лидия. Исследования выполняются при финансовой поддержке гранта 16-44-230314 p_a Российского фонда фундаментальных исследований и администрации Краснодарского края.

АМИКУМАЦИН А: НЕОБЫЧНЫЙ МЕХАНИЗМ ИНГИБИРОВАНИЯ ТРАНСЛЯЦИИ

**Максимова Е.М.^{1,2}, Виноградова Д.С.^{1,2}, Полесскова Е.В.¹, Касацкий П.С.^{1,2}, Остерман И.А.³,
Донцова О.А.³, Сергиев П.В.³, Коневега А.Л.^{1,2}**

¹ФГБУ Петербургский институт ядерной физики НИЦ Курчатовский институт, Гатчина, Россия; ²ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия; ³ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия
maksimova_em@npi.nrcki.ru

Амикумацин А является одним из малоизученных антибиотиков, для которого были выявлены антимикробные, противовоспалительные и даже противоопухолевые эффекты. Однако, на сегодняшний день, о молекулярном механизме его действия мало что известно. Согласно данным рентгеноструктурного анализа рибосомного комплекса с амикумацином А, антибиотик связывается в Е сайте 30S субчастицы рибосомы, образуя контакты с 16S рРНК и мРНК, но не взаимодействуя с тРНК [1]. Кроме того, были выявлены мутации (ins544K, G542V и G581A) в IV домене элонгационного фактора EF-G, катализирующего транслокацию рибосомы, которые компенсируют ингибирующее действие антибиотика. В нашей работе мы показали, что, связываясь в Е сайте рибосомы, амикумацин А значительно снижает эффективность образования инициаторного комплекса, препятствуя встраиванию инициаторной тРНК. На этапе транслокации он значительно снижает скорость перемещения пептидил-тРНК из А в Р сайт рибосомы. Присутствие антибиотика в рибосоме приводит и к увеличению аффинности деацилированной тРНК к Е сайту. Однако, амикумацин А не меняет скорость встраивания аминоксил-тРНК в А сайт рибосомы и не оказывает влияние на образование пептидной связи. Нами также были начаты исследования по изучению действия компенсаторного механизма мутаций ins544K, G542V и G581A элонгационного фактора EF-G на присутствие амикумацина А в рибосоме. Как оказалось, указанные мутации приводят к существенному замедлению движения D-петли пептидил-тРНК при ее перемещении из А в Р сайт рибосомы и не влияют на передвижение ее акцепторного конца в

пептидилтрансферазном центре. Таким образом, механизм ингибирования трансляции бактериальной рибосомы амикумацином А, вероятно, связан со стабилизацией мРНК на 30S субчастице, которая приводит к нарушению конформации тРНК в Р сайте, что, в свою очередь, приводит к нарушению передвижения мРНК-тРНК комплекса при транслокации. 1. Polikanov et al., Mol. Cell, 56, 531-540 (2014). 2. Работа выполнена при поддержке РФФИ 14-34-00023 и РФФИ 13-04-40212, 13-04-40211.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РАЙОНА TRNL-TRNF ГЕНОМА ХЛОРОПЛАСТОВ ПРИ ИЗУЧЕНИИ СТЕПЕНИ РОДСТВА ВИДОВ РОДА STIPA (КОВЫЛЬ)

Матейкович П.А.^{1,2}, Носов Н.Н.², Пунина Е.О.²

¹ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; ²ФГБУН Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия
sandhani@yandex.ru

Род *Stipa* (сем. Poaceae – Злаки) – сложная в систематическом отношении группа, включающая много морфологически промежуточных форм между близкими видами. Для определения филогенетических связей и выявления возможных путей видообразования внутри рода *Stipa*, был секвенирован регион хлоропластной ДНК trnL-trnF, включающий часть кодирующей последовательности trnL, интрон гена trnL и спейсер между генами trnL и trnF. Общая длина секвенированного участка составила 943 нуклеотида. В анализ были включены 4 вида рода *Stipa*: *S. orientalis* Trin. ex Ledeb. (1 образец), *S. praecapillata* Alechin (2 образца), *S. pulcherrima* K.Koch (1 образец), *S. zalesskii* Wilensky (1 образец). Использовали гербарные образцы 2008-2014 гг. сбора на территориях Алтайского края, республики Алтай и республики Тувы. Помимо вышеперечисленных видов рода *Stipa*, в матрицу данных были импортированы следующие нуклеотидные последовательности из базы данных GenBank: *S. pennata* L. GU254967; *S. capillata* L. JF697787; *S. iberica* Martinovsky EU200927; *S. caucasica* Schmalh. GI692788.

В результате анализа была выявлена высокая гомогенность последовательностей региона trnL-trnF. Отличий в нуклеотидном составе секвенированных нами последовательностей хлоропластной ДНК обнаружено не было, что указывает на генетическую близость видов *S. orientalis* Trin. ex Ledeb., *S. praecapillata* Alechin, *S. pulcherrima* K.Koch, *S. zalesskii* Wilensky, и возможно выявляет наличие общего предка по материнской линии родства, а также относительно недавнюю дивергенцию данных видов.

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Клеточные и молекулярные технологии изучения растений и грибов» Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (БИН РАН) на средства грантов РФФИ 15-04-06438 и 14-04-01416 в соответствии с планами работ по Госзаданию «Кариологическое и молекулярно-филогенетическое исследование дивергенции таксонов цветковых растений». Номер государственной регистрации 01201255614.

АНАЛИЗ IN VIVO РЕГУЛЯТОРНЫХ СВОЙСТВ РИБОСОМНОГО БЕЛКА L1 В БАКТЕРИЯХ THERMUS THERMOPHILUS И THERMOTOGA MARITIMA

Михайлина А.О.¹, Костарева О.С.¹, Тищенко С.В.¹, Гарбер М.Б.¹

¹ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия
alisamikhaylina15@gmail.com

Экспрессия генов рибосомных белков (р-белков) в большинстве оперонов регулируется по принципу «обратной связи» белками-регуляторами. Эти р-белки взаимодействуют со специфическими участками на мРНК и координируют синтез р-белков, находящихся в их опероне. Двухдоменный р-белок L1, являющийся составной частью L1-выступа рибосомы, в клетках *E. coli* регулирует трансляцию бицистронной мРНК, кодирующей р-белки L11 и L1. При недостатке рибосомной 23S РНК он связывается со специфическим участком в последовательности своей мРНК и мешает ее трансляции. Несмотря на важность процесса регуляции синтеза р-белков, интенсивный анализ регуляторных участков мРНК в других организмах начался лишь в последнее время. Наша работа направлена на исследование регуляции L11 оперона эубактерий *Thermus thermophilus* и *Thermotoga maritima*. Недавно мы определили участки связывания двухдоменного р-белка L1 на мРНК этих бактерий. Белок L1 *T. maritima* (TmaL1) взаимодействует с лидерным участком мРНК белка L11, а L1 *T. thermophilus* (TthL1) – с участком, содержащим стартовый кодон мРНК белка L1. Также показано взаимодействие доменов I белков TthL1 и TmaL1 с данными участками мРНК.

Для того, чтобы исследовать, являются ли полученные нами фрагменты мРНК *T. thermophilus* и *T. maritima* участками связывания р-белка L1 в системе *in vivo*, мы проведем анализ регуляторных свойств белка с помощью репортерного гена зелёного флуоресцентного белка (GFP). Мы получили две плазмиды, несущие «слитые» гены специфического фрагмента мРНК и следующего за ним гена белка GFP, под контролем ИПТГ-

индуцибельного промотора. В нашем распоряжении имеется штамм *E. coli*, в котором нокаутирован ген белка L1 и плазмиды, несущие под контролем L-арабиноза индуцибельного промотора гены белков ThL1 и его домена I (Kogepanov et al., 2015). Недавно мы получили аналогичные плазмиды, несущие гены TmaL1 и его домена I. Для анализа регуляции в системе *in vivo* мы планируем исследовать изменение экспрессии GFP по уровню его флуоресценции в присутствии или отсутствии синтеза белков TthL1 или TmaL1 L1 (или доменов I этих белков) *in trans*. В качестве отрицательного контроля мы планируем использовать плазмиды, несущие фрагменты мРНК с изменённым L1-связывающим участком. Эти эксперименты позволят оценить регуляторные свойства белка L1 и его домена I в бактериях *T. thermophilus* и *T. maritima*.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 16-34-01056 мол_а) и Программы МКБ РАН.

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕЖДУ БЕЛКАМИ SU(HW) И CP190 В РЕКРУТИРОВАНИИ SU(HW)-ЗАВИСИМОГО КОМПЛЕКСА НА ХРОМАТИН

Молодина В.В.¹, Мельникова Л.С.¹, Костюченко М.В.¹, Головнин А.К.¹

¹ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, Россия
molodina_varvara@mail.ru

Инсуляторы – это регуляторные элементы генома, организующие структуру хроматина в ядре эукариотической клетки. У *Drosophila* наиболее изучен инсулятор Su(Hw). Рекрутирование Su(Hw)-зависимого комплекса на хроматин является результатом сложного взаимодействия между белками Su(Hw), Mod(mdg4) и CP190.

Для изучения активности инсуляторов *in vivo* часто используют локус *yellow*, отвечающий за окраску кутикулярных структур дрозофилы. Энхансеры активируют транскрипцию *yellow* в теле и крыльях. Инсулятор Su(Hw), расположенный между энхансерами и промотором гена *yellow*, полностью блокирует их взаимодействие. В случае экспрессии белка Su(Hw) с мутацией в 10-ом «цинковом пальце» (мутация *su(Hw)^f*), несмотря на наличие доменов белка Su(Hw), необходимых для его взаимодействия с CP190 и Mod(mdg4), инсуляция отсутствует. Мы предположили, что разрушение 10-ого цинкового пальца в мутации *su(Hw)^f* меняет конформацию белка Su(Hw), что препятствует его связыванию с белком CP190 и рекрутированию Su(Hw)-зависимого комплекса на хроматин.

Тестируя прямые межбелковые взаимодействия в дрожжевой двугибридной системе и используя метод соосаждения белков на глутатионсефарозе, мы показали, что белок Su(Hw)-f не способен взаимодействовать с белком CP190. Однако полная делеция 10-ого цинкового пальца или одновременная с мутацией *su(Hw)^f* делеция С-концевого района Su(Hw) восстанавливали взаимодействие между белками Su(Hw) и CP190. Фенотипически это выражалось в восстановлении инсуляции. Этот результат подтверждает возможность возникновения интерференции между CP190 связывающим N-концевым доменом Su(Hw) и его С-концевым районом в присутствии мутации *su(Hw)^f*.

Геномные сайты связывания белка Su(Hw) условно делятся на «сильные» (62D, 50A, 87E) и «слабые» (1A2, *gypsy*). С помощью ChIP-анализа мы показали, что как мутация *su(Hw)^f*, так и полная делеция 10-ого цинкового пальца Su(Hw), почти не влияют на сборку инсуляторного комплекса на «сильных» сайтах. Однако на «слабых» сайтах связывание Su(Hw) с делецией 10-ого цинкового пальца лишь несколько снижалось, тогда как белок Su(Hw)-f не связывался совсем. Таким образом, фактором, определяющим возможность формирования инсуляторного комплекса на «слабых» сайтах является не присутствие 10-ого цинкового пальца белка Su(Hw), а взаимодействие между белками Su(Hw) и CP190. Вероятно, для «сильных» сайтов такое взаимодействие не является критичным, а в формировании функционального комплекса на «сильных» сайтах участвуют дополнительные, пока не идентифицированные белки.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда - проект № 14-14-01067.

ФЕНОТИПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АГРЕГАЦИИ АМИЛОИДОВ ЧЕЛОВЕКА В ДРОЖЖАХ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Нужина Ю. В.¹, Качкин Д. В.¹, Рубель А. А.¹, Чернов Ю. О.²

¹ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; ²Georgia Institute of Technology, Atlanta, USA
julia.nuzhina@gmail.com

Амилоидозы — это группа неизлечимых заболеваний, вызванных нарушениями укладки белков, в результате которых белки утрачивают свои функции или приобретают токсичность для организма. К наиболее известным амилоидозам относят болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, болезнь Хантингтона, боковой

амиотрофический склероз, а также прионные заболевания. Все эти болезни на данный момент неизлечимы и в большинстве случаев летальны, поэтому поиск агентов, предотвращающих образование амилоидных агрегатов, является важной задачей и имеет большое социальное и экономическое значение.

В качестве модельного объекта для изучения амилоидов особыми преимуществами обладают дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. В большинстве случаев амилоидные агрегаты не токсичны для дрожжей, что позволяет исследовать их свойства и взаимодействие *in vivo*. Агрегацию амилоидных белков в живых клетках можно визуализировать, используя гибридные конструкции, в которых изучаемый амилоидный белок слит с репортерной последовательностью.

В нашей лаборатории в качестве репортерных последовательностей были использованы МС-домены дрожжевого белка Sup35, являющегося прионом дрожжей и выполняющего роль вспомогательного фактора терминации трансляции. Использование этого белка в совокупности с нонсенс-мутацией *ade1-14* на фоне делеции хромосомной копии Sup35 позволяет визуализировать фенотипическое проявление агрегации амилоидов по росту (или отсутствию роста) дрожжей на селективной среде без аденина.

Используя гибридные конструкции, в которых МС-домены белка Sup35 слиты с разными амилоидными белками, можно проводить фенотипический анализ их агрегации. Так, была получена гибридная конструкция с пептидом амилоид-бета (Аβ), агрегаты которого обнаруживаются при болезни Альцгеймера. В настоящий момент сходный анализ производится для белка PrP, вызывающего прионные заболевания человека и млекопитающих.

ЭФФЕКТ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА, ВЫЗЫВАЮЩИХ АПОПТОЗОПОДОБНУЮ ГИБЕЛЬ *E. COLI*, ЗАВИСИТ ОТ ИХ РАЗМЕРА

Орлов Ю.А.^{1,2}, Соснин И.М.^{1,3}

¹ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия; ²ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия; ³ФГБОУ ВО Тольяттинский государственный университет, Тольятти, Россия
orlov239@gmail.com

Наночастицы серебра (НЧС) – один из самых популярных наноматериалов в силу широкого спектра их свойств, которые можно задавать на этапе синтеза. Цель данной работы – оценить токсический эффект различных НЧС на штаммы *E. coli*. Работа выполнена на штамме *E. coli* BL21 (DE3), трансформированном плазмидой, несущей ген GST, или плазмидой, несущей участок ДНК, соответствующий эктодомену белка CTR1 человека, который транспортирует ионы меди в клетку, с 5'-конца слитый с геном GST.

В работе использовали 2 типа НЧС, синтезированные различным способом, со средним размером 25 нм и 35 нм. 25-нм частицы получены методом восстановления ионов Ag (I) смесью флавоноидов с последующей кристаллизацией в клатратах, образованных β-циклодекстрином. 35-нм частицы синтезировали методом восстановления ионов Ag (I) в клатратах, образованных олеатом калия, в качестве восстановителя использовали гидразин. Размер НЧС определяли на лазерном дифрактометре. В обоих типах НЧС наличие кристаллической решетки, образованной атомами Ag, было подтверждено методами UV/vis спектроскопии, рентгеновской дифрактометрии и рентгеновской спектрометрии. По данным атомно-силовой и просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) НЧС имели форму близкую к сферической.

НЧС обоих типов вызывали время- и дозозависимую гибель *E. coli*. Выживаемость бактерий оценивали по количеству колониеобразующих единиц (КОЕ) в суспензии после инкубации с НЧС. После 24 часов инкубации *E. coli* в 10 мкМ растворе 25-нм НЧС титр бактерий снижался меньше предела определения (<100 КОЕ/мл), тогда как инкубация в растворе 35-нм НЧС той же концентрации не приводила к снижению титра. На ПЭМ микрофотографиях бактерий после инкубации с НЧС видно, что наночастицы равномерно распределены по клетке и не смываются с неё центрифугированием. Проточная цитометрия бактерий с использованием красителей FITC-Annexin V и йодида пропидия после инкубации с НЧС показала, что сначала происходит экстернализация фосфатидилсерина, а затем нарушение целостности клеточных мембран, что схоже с явлениями, сопровождающими апоптоз эукариотических клеток. Клетки *E. coli*, синтезирующие слитый белок GST-NdCTR1, хелатирующий ионы меди и серебра, были менее подвержены токсичному эффекту НЧС, что свидетельствует о существенном вкладе ионов Ag(I) в механизм бактериотоксичности НЧС.

Полученные данные свидетельствуют о наличии у НЧС выраженного бактерицидного эффекта, который уменьшается с увеличением размера частиц.

Работа поддержана грантом РФФИ #15-04-06770

ОЦЕНКА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ФАГОВЫХ МОДУЛЯТОРОВ АКТИВНОСТИ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ ДЛЯ УВЕЛИЧЕНИЯ ВЫХОДА РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ

Пилигримова Э.Г.^{1,2}, Шадрин А.М.¹

¹ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов РАН, Пущино, Россия; ²ФГБОУ ВО Вятский государственный университет, Киров, Россия
kanzleranemone@gmail.com

Одна из важных задач микробной биотехнологии — разработка новых штаммов, несущих генно-инженерные конструкции, позволяющие клеткам синтезировать нужные белки в больших количествах. Различными исследователями предложено большое разнообразие экспрессионных систем. У одной из наиболее часто применяемых экспрессионных систем, основанной на использовании РНК-полимеразы бактериофага Т7, существует множество модификаций. Например, некоторые авторы предлагают применять антибиотики рифампицинового ряда, взаимодействие которых с бактериальной ДНК-зависимой РНК-полимеразой приводит к ингибированию транскрипции генов клетки-хозяина, но не влияет на активность РНК-полимеразы бактериофага Т7. Таким образом, использование рифампицина позволяет привлечь дополнительные ресурсы клетки для синтеза целевого белка.

В геноме некоторых бактериофагов закодирован ряд молекул — модуляторов активности РНК-полимеразы — выступающих в роли «переключателей» транскрипции фагового генома. Некоторые из этих регуляторных белков способны к специфичному ингибированию активности ДНК-зависимой РНК-полимеразы клетки-хозяина, что приводит к остановке экспрессии бактериальных генов и играет решающую роль в развитии бактериофага, обеспечивая сборку функциональных фаговых частиц. В данной работе мы оцениваем возможность использования ряда модуляторов активности РНК-полимеразы из бактериофага Т7 в качестве ингибиторов бактериальной РНК-полимеразы для увеличения выхода рекомбинантных белков. Мы представляем анализ влияния коэкспрессии ряда модуляторов на продукцию GFP в клетках *E. coli* при различных условиях культивирования.

ГУАНОЗИН-5'-МОНОФОСФАТ ВЛИЯЕТ НА ЭКСПРЕССИЮ ОСНОВНЫХ ГЕНОВ, ОТВЕЧАЮЩИХ ЗА РЕАЛИЗАЦИЮ КЛЕТОЧНОГО ОТВЕТА НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС, ИНДУЦИРОВАННОГО ИОНИЗИРУЮЩИМ ИЗЛУЧЕНИЕМ IN VITRO

Попова Н.Р.¹, Попов А.Л.¹, Ермаков А.М.¹

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия
nellipopovaran@gmail.com

Нуклеотидный пул клетки необходим для транскрипции РНК и репликации как ядерной, так и митохондриальной ДНК. Установлено, нуклеотиды и нуклеозиды в нуклеотидном пуле клетки являются основной мишенью для активных форм кислорода (АФК), поскольку они не защищены от внешних окислительных воздействий. Окислительное повреждение предшественников ДНК в нуклеотидном пуле может привести к ее повреждению, мутациям в процессе репарации как результате увеличения образования ошибочных нуклеотидных пар, так и при нарушении синтеза антиоксидантных ферментов, и, как следствие, развитие патологий. Была проведена оценка уровня экспрессии определенного набора генов методом полимеразной цепной реакции в реальном времени, ассоциированных с антиоксидантной, антиапоптотической и репарационной системами, а также путями дифференцировки и пролиферативной активности. Было отобрано 96 ключевых генов-мишеней, ответственных за 25 ключевых клеточных процессов, для проведения комплексного скринингового анализа и построения генетической карты активации внутриклеточных систем при совместном воздействии гуанозин-5-монофосфата и ионизирующего излучения. Эксперименты проводили на мезенхимальных стволовых клетках (МСК) человека, выделенных из пульпы зуба 3 маяра. Нами было выделено 4 группы: 1-контрольная группа, не облученные клетки 0 Гр; 2-не облученные МСК человека, инкубированные в течение 1 ч с GMP (1мМ); 3- облученные при 15 Гр МСК человека; 4- облученные МСК человека, инкубированные 1 ч с GMP (1 мМ). Установлено, что GMP модулирует эффект, индуцированный воздействием ионизирующего излучения, уменьшая экспрессию генов KAT2A, RB1, HDAC2, ALPL, IGF1, IGF1R, SMAD2, SMAD5, SPP1, TNF, VDR, MSX1, WEE1, CCNA2, WNT1, ALDH1A1, BMP7, TRAF2, CCDC103, по сравнению с группой клеток облученных в дозе 15 Гр. В то же время, GMP увеличивает экспрессию генов HSPA9, AXIN, MCM2, NOS2, FOXI1, CFLAR, TNFRSF10, по сравнению со второй группой. Полученные результаты показывают, что GMP является сигнальной молекулой. При инкубации с МСК GMP влияет на активацию дифференцировки, самообновления клеток.

Работа выполнена при поддержке стипендии Президента Российской Федерации молодым ученым и аспирантам.

БЫЧИЙ ИНТЕРФЕРОН-ТАУ КАК РЕГУЛЯТОР РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ КРС

Потапович М.И.¹, Прокулевич В.А.¹

¹Белорусский государственный университет, Минск, Белоруссия
tipatapovich@gmail.com

Интерфероны (ИФН) – это семейство сигнальных молекул, продуцируемых разными видами клеток в ответ на различные раздражители, такие как воздействие вирусов, бактерий или других антигенов.

В 1960-е гг. был открыт новый тип ИФН, а именно, ИФН-тау(τ). Это ключевой цитокин, участвующий в поддержании беременности у жвачных животных. Он продуцируется в оплодотворенной яйцеклетке животных, приблизительно начиная со времени ее имплантации. ИФН-τ относят к семейству ИФН I типа, но в отличие от других членов этой группы, он не является вирус-индуцируемым и его экспрессия является временной и ограничена трофобластами оплодотворенной яйцеклетки жвачного животного. У человека, данный тип ИФН не выявлен.

Эмбриональная смертность коров является важной проблемой ветеринарии нашего времени. Из-за этого уменьшается поголовье скота и количество выдоенного молока, а значит, сельское хозяйство несет значительные убытки. Эмбриональная смертность чаще всего происходит в предимплантационный и имплантационный периоды и обусловлена большим количеством факторов. Именно в это время активность ИФН-τ наиболее высока. В этом плане препараты рекомбинантного ИФН-τ являются хорошими кандидатами для улучшения сложных механизмов поддержания беременности, благодаря способности этого типа ИФН усиливать продукцию прогестерона.

Несмотря на то, что ИФН-τ отвечает только за поддержание беременности у жвачных животных, в оплодотворенной яйцеклетке коровы (*Bos taurus*) идентифицировано по меньшей мере 16 различных кДНК для ИФН-τ. Пока остается неясным, сколько из этих кДНК соответствуют аллельным формам генов ИФН-τ, поскольку количество генов еще точно не выяснено. Гены ИФН-τ у коровы расположены на восьмой хромосоме вместе с генами ИФН-омега и ИФН-альфа.

Цель данной работы заключается в клонировании гена бычьего ИФН-τ в клетках *Escherichia coli*.

С использованием программы «DNASar» была сконструирована последовательность гена бычьего ИФН-τ, оптимизированная для экспрессии в клетках *E. coli*. Синтез оптимизированной последовательности был проведен методом ПЦР с использованием сконструированных специфических праймеров, и амплифицированная последовательность клонирована в составе вектора pET24b(+) по сайтам рестриктаз *Nde* I и *Eco* RI.

После этого рекомбинантной конструкцией были трансформированы клетки *E. coli* XL-1 Blue. В результате рестрикционного и ПЦР-анализа были отобраны унаследовавшие гибридную конструкцию клоны.

ИССЛЕДОВАНИЕ САМООРГАНИЗАЦИИ СЛОЖНЫХ ОЛИГОМЕРНЫХ БЕЛКОВ *in vitro*: СБОРКА МОЛЕКУЛЯРНОГО ШАПЕРОНА GroEL ИЗ ШАПЕРОННОЙ СИСТЕМЫ GroEL/GroES *E.coli*

Рябова Н.А.¹, Селиванова О.М.¹, Семисотнов Г.В.¹

¹ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия
ryabova@phys.protres.ru

Молекулярный шаперон GroEL и его ко-шаперон GroES составляют шаперонную систему клеток *Escherichia coli* GroEL/GroES, участвуют в сворачивании многих клеточных белков, взаимодействуя с их ненативными конформационными состояниями и предотвращая их неспецифическую агрегацию. Процесс самоорганизации GroES происходит быстро и без дополнительных факторов, а процесс самоорганизации GroEL изучен недостаточно. Полная молекула GroEL *in vitro* может собраться из 14 субъединиц по 57 кДа каждая только в присутствии целого ряда факторов.

В результате равновесных и кинетических исследований процесса лиганд-индуцируемой сборки GroEL была предложена модель этого процесса, согласно которой сборка полной частицы GroEL происходит через формирование промежуточного олигомера – однокольцевой гептамерной структуры, стабилизированной взаимодействием с гептамерным ко-шапероном GroES.

В данной работе проведена визуализация процесса сборки GroEL-частицы для подтверждения или опровержения предложенной модели. В ходе кинетических экспериментов по сворачиванию шаперона GroEL отбирались образцы, которые были исследованы с помощью просвечивающего электронного микроскопа методом негативного контрастирования. На первом этапе олигомеризации GroEL были обнаружены кольцевые структуры свободные и занятые ко-шапероном GroES. Исследования кинетики сворачивания GroEL с помощью рассеяния света и электрофореза в неденатурирующих условиях показывают, что на этой стадии процесса

сборки шаперона GroEL полных частиц нет или их количество незначительно. На основании чего сделан вывод, что на микрофотографии видны в основном однокольцевые молекулы GroEL.

Таким образом, найдено подтверждение, что сборка двухкольцевой GroEL-частицы происходит через формирование однокольцевой гептамерной частицы, которая способна взаимодействовать с ко-шапероном GroES.

Работа поддержана грантом РФФИ № 16-34-00252 мол_а.

ИЗОФЕРМЕНТНЫЙ СОСТАВ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДЕТЕРМИНАЦИЯ ФУМАРАТГИДРАТАЗЫ В СЕМЯДОЛЯХ ПОДСОЛНЕЧНИКА

Сазонова О.В.¹, Черкасских М.В.¹, Сэтре Тиме Л.Й.¹, Нгуен Тхань Н.Н.¹

¹ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

oksana_ragik@mail.ru

Фумаратгидратаза (ФГ, КФ 4.2.1.2.), по мнению многих исследователей, считается маркерным ферментом митохондрий, катализируя одну из реакций цикла Кребса. Однако в ряде исследований показано, что фумараза обнаруживается и в цитозоле животных тканей, дрожжей и некоторых растений. Установлено, что геномы тополя и риса содержат только 1 ген, кодирующий фумаратгидратазу. В то же время у арабидопсиса и у кукурузы имеются 2 отдельных гена, кодирующих митохондриальную и цитозольную ФГ. В связи с этим интересным представляется исследование фумаратгидратазы в подсолнечнике, накапливающим большое количество фумарата.

Объектом исследования являлись семядоли семян подсолнечника в течение 10 дней прорастания. Специфическое проявление фумаразы осуществляли тетразолиевым методом с использованием вспомогательного фермента малатдегидрогеназы. Поиск нуклеотидных последовательностей генов фумаразы осуществляли в базе данных GeneBank. Множественное выравнивание последовательностей проводили в программе Alibee – Multiple Alignment.

Анализ специфического проявления фумаразной активности в семядолях подсолнечника на третий день прорастания выявил две формы ФГ с электрофоретической подвижностью R_f 0,265 и 0,28. По аналогии с данными из арабидопсиса можно предположить, что быстро движущаяся форма фумаразы является митохондриальной и обеспечивает функционирование ЦТК, а медленно движущаяся, по-видимому, локализована в цитоплазме и участвует в метаболизме дикарбоновых органических кислот. Для выяснения генетической детерминации обнаруженных форм ФГ в подсолнечнике нами проанализирована база GeneBank и установлено, что в ней отсутствуют аннотированные последовательности генов. Разработку праймеров для идентификации генов ФГ в подсолнечнике проводили на основе сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей мРНК растений, аннотированных в базе данных. Для гена *fum1* показана высокая степень гомологии (более 70%) и разработаны праймеры: прямой – ccctctctccctgtggaagcc, обратный – cgtsaaggtggaacaggttcg. Для гена *fum2* выявлена низкая степень гомологии (менее 45%) и разработаны вырожденные праймеры: прямой -ttgttcwarctycgvgaccg, обратный - cgakggyscyagraaskgrcc. Результаты обратнотранскриптной ПЦР с разработанными праймерами показали наличие ампликонов нужного размера, что, вероятно указывает на наличие двух генов, кодирующих фумаратгидратазу в геноме подсолнечника.

Таким образом, нами установлено, что в семядолях подсолнечника присутствуют две формы фумаразы. Применение разработанных нами вырожденных праймеров позволило обнаружить два вида мРНК ФГ в семядолях подсолнечника.

АНАЛИЗ АМИЛОИДНЫХ СВОЙСТВ БЕЛКОВ ТОН1 И YGP1 ДРОЖЖЕЙ SACCHAROMYCES CEREVISIAE

Сергеева А.В.¹, Синюкова В.А.¹, Рыжова Т.А.^{1,2}, Задорский С.П.^{1,2}, Галкин А.П.^{1,2}

¹ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; ²ФГБУН Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Санкт-Петербург, Россия

alexghost21a@mail

Амилоиды представляют собой белковые фибриллы, образующие кросс-β-структуру. Традиционно в литературе фигурируют преимущественно патологические амилоиды, ассоциированные с десятками неизлечимых заболеваний человека. Однако в последнее время выявлены некоторые амилоиды, которые в норме присутствуют в клетках широкого спектра живых организмов и выполняют жизненно важные функции, от образования биопленки бактерий и до участия в синтезе меланина у млекопитающих и человека. В нашей лаборатории был разработан универсальный метод протеомного скрининга амилоидов (PSIA HPLC-MALDI), основанный на устойчивости амилоидных фибрилл к ионным детергентам. С его помощью были выявлены

белки, являющиеся кандидатами на роль функциональных дрожжевых амилоидов. Значительную часть этого списка составили белки клеточной стенки, в том числе белки Toh1 и Ygp1. Toh1 - GPI-заякоренный белок клеточной стенки, при повреждении которой экспрессия Toh1 увеличивается. Ygp1 - секреторный гликопротеин, связанный с клеточной стенкой дрожжей и участвующий в формировании биопленок, экспрессия белка увеличивается при понижении концентрации глюкозы в среде. Биоинформатический анализ аминокислотных последовательностей Toh1 и Ygp1 выявил потенциально амилоидогенные участки. Для подтверждения амилоидных свойств мы показали, что гибридные белки Toh1-YFP и Ygp1-YFP при эндогенном уровне продукции (а в случае белка Toh1 и под контролем индуцибельного промотора *CUP1*) формируют агрегаты, детектируемые при помощи флуоресцентной микроскопии. Используя методы SDD AGE и GelEntry, мы показали, что агрегаты Toh1-YFP и Ygp1-YFP характеризуются чрезвычайно высокой устойчивостью к SDS. Мы также показали, что фрагмент белка Ygp1 (72-354 а.а.) при продукции в культуре *E. coli* формирует фибриллы, которые окрашиваются амилоид-специфичным красителем. На основании полученных данных можно утверждать, что, по крайней мере, белок Ygp1 является функциональным амилоидом дрожжей *S. cerevisiae*, участвующим в стабилизации структуры клеточной стенки.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 14-50-00069 и РФФИ №15-04-08159 и №15-04-06650. Для выполнения исследований использовалась приборная база ресурсных центров «ЦКП ХРОМАС» и «МиКТ» научного парка СПбГУ.

НОВОЕ ВОДОРАСТВОРИМОЕ ПРОИЗВОДНОЕ ФУЛЛЕРЕНА C60 ТОКСИЧНО ДЛЯ РАКОВЫХ КЛЕТОК ЛИНИИ MCF-7

Сергеева В.А.¹, Ершова Е.С.¹, Конькова М.С.¹, Чудакова Ю.М.¹, Малиновская Е.М.¹, Каменева Л.В.¹, Вейко Н.Н.¹, Костюк С.В.¹

¹ФГБНУ Медико-генетический научный центр, Москва, Россия
tracytheplane@gmail.com

Наночастицы на основе производных фуллеренов [C60] являются достаточно перспективными соединениями в связи с их потенциальной противовирусной, антиокислительной и противораковой активностью. Кроме того, они могут быть использованы в качестве вектора для доставки лекарств в клетку. Так, было показано, что активность некоторых общеизвестных противораковых препаратов повышалась при использовании в конъюгате с фуллеренами.

В данной работе было исследовано влияние нового водорастворимого производного фуллерена [C60] F-243 на раковые клетки линии MCF-7. Было обнаружено, что F-243 обладает собственной флуоресценцией в водных растворах и внутри клетки, что позволяет детектировать его в цитоплазме без применения флуоресцентных меток. Несмотря на то, что химическая структура F-243 позволяет ему быть хорошим акцептором электронов вне клетки, в цитоплазме соединение вызывает повышение количества активных форм кислорода (АФК), активируя транскрипцию оксидазы NOX4, и приводит к окислительному стрессу. Повышенный уровень АФК вызывает повреждения ДНК и влечет за собой снижение мембранного потенциала митохондрий и остановку клеточного цикла. Кроме того, исследуемое соединение повышает активность про-апоптотических генов, приводя к повышенному апоптозу.

СОПРЯЖЕНИЕ ИНИЦИАЦИИ И ТЕРМИНАЦИИ ЭУКАРИОТИЧЕСКОЙ ТРАНСЛЯЦИИ НЕ ЗАВИСИТ ОТ СПОСОБА ИНИЦИАЦИИ

Согорин Е.А.¹, Агаларов С.Ч.¹

¹ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия
sogorin@vega.protres.ru

Недавно нами был открыт новый способ регуляции терминации трансляции через инициацию (Sogorin et al., Scientific Reports, 2016). Оказалось, что в модельной бесклеточной системе биосинтеза белка на основе экстракта зародышей пшеницы процесс инициации трансляции на одной мРНК стимулирует освобождение полноразмерного белка (терминация) из рибосом, транслирующих другую мРНК. Это явление мы назвали как сопряжение инициации и терминации трансляции. Считается, что нормальный процесс терминации у эукариот является процессом унифицированным, тогда как известны разные механизмы инициации, зависящие в основном от структуры 5'-нетранслируемой области мРНК. Ранее мы уже показали, что инициация по классическому механизму (строго зависящая от кэп-структуры и от ряда белковых факторов) может стимулировать терминацию. Теперь было важно определить может ли кэп/фактор независимая инициация по механизму внутренней посадки рибосомы стимулировать освобождение синтезируемого белка из транслирующих рибосом. Для этого были проведены серии опытов с использованием межгенной

последовательности (CrPV-IRES) бицистронной мРНК вируса паралича сверчка. Оказалось, что инициация на мРНК с CrPV-IRES также стимулирует терминацию на ранее транслируемой мРНК. Отсюда следует, что даже безфакторная инициация по внутреннему механизму посадки рибосомы поддерживает сопряжение с терминацией трансляции. Более того, скорее всего, факторы инициации не участвуют в этом процессе.

СОЗДАНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ CD14+ МОНОЦИТОВ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ГЕН ДИСФЕРЛИНА ЧЕЛОВЕКА, КАК ПОТЕНЦИАЛЬНОЕ СРЕДСТВО ТЕРАПИИ ДИСФЕРЛИНОПАТИЙ

Старостина И.Г.¹, Соловьева В.В.¹, Шаймарданова А.А.¹, Аглиуллина Д.Р.¹, Яковлев И.А.¹, Деев Р.В.², Ризванов А.А.¹

¹ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань, Россия; ²ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, Рязань, Россия
fairin@mail.ru

Дисферлинопатии характеризуются дефектом экспрессии мРНК или белка дисферлина и представляют собой группу аутосомно-рецессивных нейромышечных заболеваний. Актуальной задачей остается разработка новых методов лечения данного заболевания, в частности с применением генной терапии. Согласно литературным данным CD14+ клетки играют ключевую роль в патогенезе дисферлинопатий человека, участвуют в воспалительных реакциях и патологическом ангиогенезе. В настоящей работе, с применением разработанного нами ранее рекомбинантного аденовируса, кодирующего кДНК гена дисферлина человека (патент на изобретение РФ №2527073), была проведена генетическая модификация CD14+ моноцитов. CD14+ клетки были выделены из свежеприготовленного лейкоцитарного слоя периферической крови пациента с дисферлинопатией при помощи EasySep™ Human Buffy Coat CD14 Positive Selection Kit. После вирусной трансдукции анализ экспрессии мРНК рекомбинантного белка дисферлина в модифицированных клетках проводили с помощью белкового иммуоблота. Для оценки эффективности вирусной трансдукции в качестве положительного контроля использовали аденовирус Ad5-EGFP. Анализ экспрессии GFP проводился с помощью флуоресцентной микроскопии на инвертированном флуоресцентном микроскопе исследовательского класса AxioObserver.Z1 (Carl Zeiss). Далее было проведено исследование уровня секреции цитокинов/хемокинов и факторов роста CD14+ моноцитами в норме, при дефиците дисферлина и в условиях коррекции генотипа методом мультиплексного анализа с использованием набора 27-plex фирмы BioRad (набор Bio-Plex Pro Human Cytokine 27-plex Assay, BioRad). Таким образом, проведена эффективная генетическая модификация клеток-мишеней и показана экспрессия рекомбинантного белка дисферлина в трансфицированных CD14+ моноцитах. Анализ цитокинового профиля в сыворотке крови пациента с дисферлинопатией выявил значительное повышение уровней интерлейкина 16 (ИЛ-16) и ИЛ-18, а также понижение содержания ИЛ-3 в сравнении с контрольными сыворотками здоровых людей. Поскольку молекулярные механизмы, происходящие в CD14+ клетках, мало изучены, полученные нами результаты, в дальнейшем, планируется применить при разработке технологии генно-клеточной терапии дисферлинопатии и в целом нейромышечных заболеваний.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №16-34-00657

ПОДАВЛЕНИЕ ТРАНСПОЗОНОВ В КЛЕТКАХ ЗАРОДЫШЕВОЙ ЛИНИИ: ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ рiРНК-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА РiWi И БЕЛКОВ ГЕТЕРОХРОМАТИНА

Столяренко А.Д.¹, Лейнсоо Т.А.¹, Абрамов Ю.А.¹, Кленов М.С.¹

¹ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия
mailstol@yandex.ru

Подавление экспрессии транспозонов играет важную роль в поддержании стабильности генома герминальных клеток и обеспечении фертильности животных. Было показано, что в яичниках плодовой мушки дрозофилы репрессию транспозонов на уровне транскрипции осуществляет белок Рiwi благодаря связыванию с гомологичными транспозонам короткими рiРНК. Известно также, что ключевым репрессором экспрессии генов на уровне транскрипции является главный белок гетерохроматина HP1a. Однако взаимодействие белков Рiwi и HP1a при репрессии транспозонов остается неясным.

Для выяснения этого вопроса мы применили генетический подход, избирательно в герминальных клетках подавив с помощью РНК-интерференции (нокдаун) одновременно оба гена белков Рiwi и HP1a, а также этих генов по отдельности. Затем методом РНК-секвенирования сравнили уровни экспрессии транспозонов в

яичниках. Нами было выделено 4 группы транспозонов в соответствии с их ответом на нокдауны Piwi и HP1a. К первым двум группам мы отнесли транспозоны, репрессия которых снимается при нокдауне одного из двух генов. Было показано, что транспозоны, репрессия которых зависит от HP1a, также дерепрессируются при нокдауне гистонметилтрансферазы Su(Var)3-9, создающей сайты посадки для HP1a. Подавленное состояние третьей группы транспозонов приблизительно в равной степени снимается при нокдауне либо Piwi, либо HP1a, что указывает на возможность взаимодействия этих белков в одном пути репрессии. Наконец, у четвертой группы транспозонов дерепрессия наступает только при нокдауне обоих генов, что указывает на контроль со стороны двух независимых систем, в которых участвуют Piwi и HP1a. Интересно, что хроматин таких транспозонов обогащен гистоновой меткой неактивного хроматина – триметилированным по девятому положению гистон H3, что говорит о преимущественной локализации этих транспозонов в гетерохроматине. Наши результаты показывают, что в герминальных клетках яичника дрозофилы существуют две системы подавления транспозонов – Piwi-зависимая и HP1a-зависимая, которые могут репрессировать транспозоны как во взаимодействии, так и независимо.

Работа поддержана грантом РФФИ № 16-04-01524.

ГЕН ГОРОХА ПОСЕВНОГО *SYM31* УПРАВЛЯЕТ ДИФФЕРЕНЦИРОВКОЙ БАКТЕРИЙ ВНУТРИ СИМБИОТИЧЕСКИХ КЛУБЕНЬКОВ.

Сулима А.С.¹, Афонин А.М.¹, Жернаков А.И.¹, Жуков В.А.¹, Тихонович И.А.^{1,2}

¹ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия; ²ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия
asulima@arriam.ru

Развитие симбиотических азотфиксирующих клубеньков у представителей семейства Бобовые (Fabaceae) контролируется комплексной системой растительных генов. Мощным инструментом для изучения данной системы является мутационный анализ. Мутант гороха посевного (*Pisum sativum* L.) Sprint-2Fix⁻, несущий мутацию в гене *Sym31*, демонстрирует уникальный фенотип, не описанный для других модельных бобовых: остановку развития клубенька, сопряжённую с блоком дифференцировки бактерий с специализированную симбиотическую форму под названием бактериоды.

Целью данной работы было сопоставить совместную экспрессию генов обоих симбиотических партнёров в клубеньках мутантов Sprint-2Fix⁻ и растений дикого типа. С применением нового подхода 5'MACE были секвенированы совместные бактериальные и растительные транскриптомы мутантных клубеньков и клубеньков дикого типа, а также транскриптом свободноживущей бактериальной культуры. Только в клубеньках дикого типа у бактерий наблюдалось увеличение экспрессии ряда генов, связанных с циклом Кребса, ассимиляцией азота и транспортом нитратов. При этом экспрессия генов, вовлечённых в контроль чувства кворума, хемотаксиса и синтеза антибиотиков, достоверно снижалась. Гены, ответственные за метаболизм сульфит-аниона, были активны у бактерий из клубеньков дикого типа, в то время как в мутантных клубеньках экспрессия данных генов была значительно ниже, чем даже у свободноживущей культуры. Эти данные хорошо согласуются со сниженной экспрессией растительных генов, ответственных за транспорт соединений серы, у мутанта Sprint-2Fix⁻.

Работа поддержана грантами РНФ (14-24-00135 и 16-16-00118), НШ-6759.2016.4.

ПОИСК РЕГУЛЯТОРНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ, НЕОБХОДИМЫХ ДЛЯ ТРАНС-СПЛАЙСИНГА У *DROSOPHILA MELANOGASTER*.

Уткина М.В.¹, Максименко О.Г.¹, Георгиев П.Г.¹

¹ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, Россия
mv.utkina@yandex.ru

Транс-сплайсинг – это процесс, при котором происходит объединение экзонов, принадлежащих к разным молекулам РНК. Транс-сплайсинг есть у простейших (трипаносом, эвглен), круглых червей, включая *C. elegans*, плоских червей, а также в митохондриях, хлоропластах и безрибосомных пластидах высших растений. Транс-сплайсинг у трипаносом и нематод представляет собой процесс, при котором происходит присоединение лидерной РНК к 5'-концам первичных транскриптов-предшественников зрелых мРНК. Транс-сплайсинг не был найден в большинстве хорошо изученных групп живых организмов, таких как грибы, растения, позвоночные и большинство членистоногих. Однако он был обнаружен у некоторых насекомых, включая семейство плодовых мушек, комаров и настоящих шелкопрядов. У *Drosophila melanogaster* транс-сплайсинг происходит у двух гомологичных генов: *mod(mdg4)* и *lola*. Наше исследование посвящено изучению механизма транс-сплайсинга локуса гена *mod(mdg4)*, так как его структура наиболее интересна. Было выявлено, что данный локус кодирует

31 изоформу белка, отличающихся по С-концевому домену. Транс-сплайсинг в локусе *mod(mdg4)* происходит между 5' транскриптом, который содержит четыре общих для всех изоформ экзона, и одним из альтернативных экзонов, транскрибируемых с независимых промоторов, в том числе и находящихся в противоположной ориентации относительно основного транскрипта.

В ходе наших исследований было выяснено, что для осуществления транс-сплайсинга необходим интрон, расположенный после последнего базового экзона. Для поиска элементов, необходимых для транс-сплайсинга были созданы генетические конструкции, получены трансгенные линии *Drosophila melanogaster* с различными вариантами делеций интрона. Определялся уровень транскрипции при делеции разных участков интрона *in vivo*. Было обнаружено, что в интроне происходит терминация транскрипции, что выбивается из общего правила супрессии терминации транскрипции в интронах. Был обнаружен участок, отвечающий за данный процесс. В интроне был также картирован регуляторный элемент, который необходим для осуществления транс-сплайсинга. Предварительные результаты показывают, что транс-сплайсинг в локусе *mod(mdg4)* происходит по-новому ранее неопisanному механизму.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ №14-24-00166

КРИСТАЛЛИЗАЦИЯ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТРУКТУРЫ ФАКТОРА ЗАПУСКА ГИБЕРНАЦИИ РИБОСОМЫ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

**Фатхуллин Б.Ф.¹, Габдулхаков А.Г.^{1,2}, Тищенко С.В.¹, Аюпов Р.Х.², Хусаинов И.Ш.³,
Юсупов М.М.³**

¹ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия; ²ФГАОУ ВПО Казанский федеральный (Приволжский) университет, Казань, Россия; ³Institut de génétique et de biologie moléculaire et cellulaire, Strasbourg, France
morgenstern100@mail.ru

В настоящее время существует большое разнообразие антибиотиков, которые борются с бактериями, атакуя разные механизмы, необходимые для их жизнедеятельности. При этом более 50% из препаратов нацелены на аппарат трансляции, в частности – рибосому. Однако, известны бактерии, обладающие мощной устойчивостью к подавляющему большинству антибиотиков. Один из них исследуемый нами объект – *Staphylococcus aureus*. Живучесть данной бактерии обусловлена механизмом димеризации своих рибосом, переводящим их в неактивное состояние, в котором антибиотики не могут связаться с ними, и быстрой их реактивации, для восстановления трансляции на прежний уровень. В процессе димеризации важную роль играет двухдоменный фактор запуска гибернации – *SaHPRF*. Ранее, при помощи криоэлектронной микроскопии было показано, что N-концевой домен связывается с малой субъединицей рибосомы в области взаимодействия тРНК и мРНК, а С-концевой домен выведен наружу, который и является связующим звеном между двумя рибосомами. Однако, из-за низкого качества плотности в области димеризации фактора гибернации не удалось установить пространственную структуру взаимодействующих С доменов.

В проведенных нами исследованиях удалось выделить и подобрать условия кристаллизации для С-концевого домена белка *SaHPRF* и получить кристаллы. Дифракционные данные с этих кристаллов получены на синхротроне Soleil (Франция) с разрешением 1.65 Å. Для обработки данных использован программный пакет XDS, решение структуры проводилось методом молекулярного замещения в программе Phaser. В качестве модели использовался белок Lmo2511 из *Listeria monocytogenes*, PDB код 3k2t. Уточнение проводилось в программе phenix.refine. В ходе решения структуры было обнаружено, что белок кристаллизуется в форме димеров, что позволяет предположить пространственную упаковку двух взаимодействующих доменов в димеризованных рибосомах.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 16-14-10014) и Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 16-34-60001).

РОЛЬ микро-РНК В РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА DAPK1 ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Филиппова Е.А.¹, Пронина И.В.², Бурденный А.М.¹, Логинов В.И.^{1,2}

¹ФГБНУ Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия; ²ФГБНУ Медико-генетический научный центр, Москва, Россия
p.lenyxa@yandex.ru

МикроРНК(миРНК) – это класс малых некодирующих РНК длиной 18-24 нуклеотида, выполняющих функцию посттранскрипционного регулятора экспрессии белок-кодирующих генов, участвующих в различных биологических процессах внутри клетки. Одним из таких генов является ген *DAPK1*, инактивация которого приводит к повышенной выживаемости и увеличению инвазивного потенциала опухолевых клеток.

Целью нашей работы являлось изучение роли микроРНК в регуляции экспрессии белок-кодирующего гена *DAPK1*.

Материалы и методы. С использованием баз данных miRBase, miRGen, TargetScan, CpGcluster и др. были отобраны 15 генов микро-РНК, предположительно участвующих в регуляции экспрессии гена *DAPK1*. Оценка содержания мРНК и микроРНК выполнена с применением метода ПЦР в реальном времени, на выборке из 38 случаев рака молочной железы. Учитывали изменения количества мРНК в опухоли по сравнению с нормой в 2 или более раз. Нами были сопоставлены данные по изменению экспрессии микроРНК и их потенциального гена-мишени *DAPK1*. Конкордантность данных оценивали с помощью коэффициента корреляции Спирмена.

Результаты. При раке молочной железы нами было показано статистически значимое снижение уровня экспрессии белоккодирующего гена *DAPK1* ($P=0,0002$) и четырех генов микроРНК – miR-125b-5p ($P=0,0001$), miR-132-3p ($P=0,0001$), miR-193a-5p ($P<0,0001$) и miR-34b-3p ($P=0,0008$). На уровне тенденции обнаружено более частое снижение уровня экспрессии miR-193a-5p у пациенток с III-IV стадией РМЖ. Выявлена обратная отрицательная корреляция для пар miR-9 – *DAPK1* ($R_s = -0,368$; $p = 0,023$; $FDR = 0,05$) и miR-127-5p – *DAPK1* ($R_s = -0,426$; $p = 0,008$; $FDR = 0,05$), что позволяет предполагать прямое взаимодействие между микроРНК и мРНК в этих парах.

Выводы. Таким образом, полученные нами данные расширяют спектр генов микроРНК, изменяющих профиль экспрессии в опухолях молочной железы, что важно для развития представлений о свойствах микроРНК, способах регуляции их экспрессии и роли в онкогенезе. Полученные сведения могут быть использованы для отбора новых диагностических и прогностических маркеров рака молочной железы, а в дальнейшем, возможно, и для разработки лекарственных средств на основе микроРНК для лечения РМЖ.

Работа выполнена при поддержке гранта Russian Science Foundation (RSF) № 14-15-00654.

СОЗДАНИЕ ШТАММА-ПРОДУЦЕНТА ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА NAHR, «КЛАССИЧЕСКОГО» РЕГУЛЯТОРА ДЕГРАДАЦИИ НАФТАЛИНА И САЛИЦИЛАТА

Фунтикова Т.В.¹, Филатова И.Ю.¹, Захарова М.В.¹

¹ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино, Россия
irafilatova24@gmail.com

Большинство описанных к настоящему времени генов деградации нафталина и салицилата *Pseudomonas* spp. обладают консервативной организацией и высокой степенью гомологии (около 90%) с *nah*-генами архетипической плазмиды NAH7. Поэтому, обычно их называют «классическими *nah*-подобными генами». Такие гены зачастую организованы в два оперона. Продукты генов *nah1*-оперона связаны с деградацией нафталина до салицилата (так называемый «верхний путь»), *nah2*-оперона – с деградацией салицилата до ЦТК через образование катехола, с дальнейшим его расщеплением по мета-пути («нижний путь»). «Классические» опероны катаболизма нафталина и салицилата находятся под позитивным контролем единственного транскрипционного регулятора LysR-семейства (LTTR) - белка NahR.

Штамм *Pseudomonas putida* AK5, первый описанный природный штамм, в котором присутствует как «классические» *nah1*-оперон и ген *nahR*, так и гены, продукты которых отвечают за менее охарактеризованный путь деградации салицилата через гентизат (*sgp*-оперон, *salicylate*–*gentisate* pathway). Нуклеотидная последовательность амплифицированного фрагмента ДНК (размером 540 п.н.) *nahR* гена из штамма *P. putida* AK5 была на 100% идентична аналогичному региону детально исследованных плазмид деградации нафталина pDTG-1 и pND6-1.

Целью данной работы было создание штамма-продуцента регуляторного белка NahR, для дальнейшего выделения, очистки и характеристики белка, «классического» регулятора деградации нафталина и салицилата.

В качестве вектора использовалась коммерческая плазида pQE30. Данная векторная система, посредством присоединения шести остатков гистидина к концу целевого белка, позволяет выделять исследуемый белок на хроматографической колонке в одну стадию. Ген *nahR* (905 п.н.) был амплифицирован из *P. putida* AK5 с использованием специфичных праймеров *nahR* Bamf (5'-CTCGGATCCATGGAAGTGCATGAT3') и *nahR* H3r (5'-TGCAAGCTTATCAGAAAACAGGTCTGAAC3') и клонирован в плазмидный вектор pQE30 (Qiagen, Germany) по сайтам рестрикции BamHI и HindIII. ПЦР анализ клонов, полученных при трансформации векторной конструкции в компетентные клетки, показал наличие вставки (гена *nahR*) в 9, 12 и 21 клон. Индукция изопропил-β-D-1-тиогалактопиранозидом (ИПТГ) подтвердила работоспособность полученных конструкций. Нуклеотидная последовательность *nahR* была определена и показана как идентичная известной.

ВЛИЯНИЕ ГИПЕРПРОДУКЦИИ ПРОТЕИНАЗЫ HtrA НА ОБРАЗОВАНИЕ БИОПЛЕНКИ КЛЕТКАМИ *BACILLUS SUBTILIS*

Чернова Л.С.¹, Павлова А.С.¹, Шарафутдинов И.С.¹, Каюмов А.Р.¹

¹ФГАОУ ВПО Казанский федеральный (Приволжский) университет, Казань, Россия
LSCh-888@live.com

HtrA (high temperature requirement A) – это индуцируемые тепловым шоком мембрано-ассоциированные сериновые протеиназы. Они осуществляют качественный белковый контроль, гидролизуя поврежденные белки. У многих патогенных микроорганизмов HtrA является фактором патогенности. У млекопитающих снижение активности HtrA связано с такими тяжелыми заболеваниями, как артрит, рак, болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера. Целью данной работы являлось оценить влияние гиперпродукции белка HtrA на образование биопленки клетками *Bacillus subtilis*.

Ранее окрашиванием кристаллическим фиолетовым была установлена способность штаммов с гиперпродукцией протеиназы образовывать более плотные биопленки. Также было обнаружено различной степени роение колоний клетками *B. subtilis* с гиперпродукцией белка HtrA. Предполагается, что роение связано с кворум-зависимыми процессами, включая образование биопленок и синтез внеклеточного матрикса. Чтобы оценить участие протеиназы HtrA в синтезе внеклеточного матрикса, клетки выращивались на твердой питательной среде с красителем Конго Красный. В результате, колонии клеток с повышенным содержанием белка HtrA характеризовались красным окрашиванием, что свидетельствует о синтезе в матриксе амилоидов, а толщина окрашенной красителем колонии оказалась в 1,5 раза больше, чем у исходного штамма.

Чтобы установить влияние HtrA на уровень экспрессии оперонов, участвующих в синтезе внеклеточного матрикса биопленки, нами были получены рекомбинантные штаммы с репортерными конструкциями *eps-LacZ* и *uqxM-LacZ*. Уровень активности β-галактозидазы в прикрепленных клетках показал повышенную экспрессию *eps* оперона и гена *uqxM* и образование более плотной биопленки клетками гиперпродуктора HtrA.

Таким образом, повышенный синтез протеиназы HtrA способствует образованию биопленки клетками *B. subtilis* и синтезу ее внеклеточного матрикса.

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

ФРАГМЕНТЫ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК УСИЛИВАЮТ ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС В ЛИМФОЦИТАХ БОЛЬНЫХ АУТИЗМОМ.

**Чудакова Ю.М.¹, Ершова Е.С.¹, Шмарина Г.В.¹, Пороховник Л.Н.¹, Вейко Н.Н.¹, Сергеева В.А.¹,
Долгих О.А.¹, Костюк С.В.¹**

¹ФГБНУ Медико-генетический научный центр, Москва, Россия
julia.chudakova@yandex.ru

На выборке детей 4 до 12 лет с расстройствами аутистического спектра (n=62), (сформированной на основании критериев диагностики F 84.0, 84.1, 84.5 Международной классификации болезней (МКБ-10) и Американского общества психиатров (DSM-IV-TR), проходивших стационарное лечение на базе НПЦ детской психоневрологии ДЗ г. Москвы), показали, что концентрация внеклеточной ДНК (вкДНК) в плазме крови больных аутизмом в 2,5 раза выше, чем в контрольной группе, а нуклеазная активность в 1,8 раз ниже, чем в контрольной группе (сформированной из здоровых детей (n=54) того же возрастного диапазона, что и пациенты клинической группы). Это свидетельствует о снижении эффективности систем элиминации вкДНК у больных с расстройством аутистического спектра (РАС).

Предположили, что накапливающаяся вкДНК в плазме крови аутистов играет роль в активации ряда сигнальных путей. Исходно у пациентов с диагнозом РАС повышен уровень синтеза активных форм кислорода (АФК) в лимфоцитах и снижена экспрессия антиоксидантного транскрипционного фактора NRF2 и на уровне белка, и на уровне гена более, чем в 2 раза по сравнению со здоровым контролем.

При действии *in vitro* фрагментов вкДНК (в концентрации 50 нг/мл) в лимфоцитах больных аутизмом увеличивается уровень экспрессии гена *NOX4*, относящегося к семейству NADPH-оксидаз и участвующего в синтезе активных форм кислорода (АФК) в клетках, при этом продукция АФК клетками усиливается. В лимфоцитах здоровых доноров при действии фрагментов вкДНК также кратковременно усиливается синтез АФК, но при этом более, чем в 2 раза возрастает уровень экспрессии гена транскрипционного фактора *NRF2* и гена *SOD1*, что свидетельствует об эффективном антиоксидантном ответе лимфоцитов здоровых доноров на присутствие в среде фрагментов вкДНК. Эффективный антиоксидантный ответ приводит к снижению уровня АФК в лимфоцитах здоровых доноров до первоначальных значений уже через 3 часа после добавления фрагментов вкДНК. В лимфоцитах пациентов с РАС при добавлении фрагментов вкДНК не активируются антиоксидантные системы – не регистрируется повышение уровня экспрессии генов *NRF2* и *SOD1* через 3 и 24 часа после начала инкубации лимфоцитов аутистов с фрагментами вкДНК. Уровень экспрессии *NRF2* ниже в

3,2 и 2,4 раза, а уровень экспрессии *SOD1* ниже в 2 и 1,5 раза по сравнению с лимфоцитами здоровых доноров, соответственно, через 3 и 24 часа после добавления фрагментов вкДНК.

Таким образом, мы показали, что фрагменты вкДНК обладают способностью усиливать окислительный стресс в лимфоцитах больных аутизмом.

Работа поддержана грантом РФФИ 16-04-01541 А.

СПЛАЙС-ФОРМЫ ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗЫ (GPX) *POLYPEDILUM VANDERPLANKI*

**Шайхутдинов Н.М.¹, Завгарова А.У.¹, Девятяров Р.М.¹, Гусев О.А.¹, Корнетт Р.², Кикавада Т.²,
Несмелов А.А.¹**

¹ФГАОУ ВО Казанский федеральный (Приволжский) университет, Казань, Россия; ²Национальный институт агробиологических наук, Цукуба, Япония
nurislam.schaihutdinov@yandex.ru

Разработка новых методов сохранения живых клеток, тканей и органов в течение длительного времени является необходимым для их клинического использования. Современные технологии криозаморозки, которые широко используются в настоящее время, имеют ряд недостатков и ограничений, в связи с чем возникла необходимость разработки более эффективных методов сохранения биоматериала на протяжении длительного времени. Одним из перспективных способов сохранения биоматериала может служить хранение его в обезвоженном состоянии при комнатной температуре, основанный на ангидробиозе характерный для ряда организмов, включая личинку комара *Polypedilum vanderplanki*. В геноме *P. vanderplanki* присутствует всего один ген GPx (глутатионпероксидаза) в отличие от большинства геномов других организмов. Во время обезвоживания личиночной стадии продуцируется большое количество активных форм кислорода, которые служат источником окислительного стресса. Анализ EST баз данных показал, что во время ангидробиоза *P. vanderplanki* экспрессируется большое количество генов, связанных с окислительным стрессом и одним из наиболее экспрессируемых антиоксидантных ферментов является GPx. По данным RNA-seq, для данного фермента установлено наличие альтернативного сплайсинга с восемью альтернативными вариантами последнего экзона и возможным исключением одного из экзонов транскриптов. Большой интерес представляют данные о наличии четырёх сплайс-форм GPx, кодирующих белки с заменой одного из каталитических остатков активного центра фермента. Несмотря на вероятное отсутствие GPx активности у таких сплайс-форм GPx, их относительное содержание увеличивается в ходе цикла ангидробиоза более чем наполовину в общем пуле GPx транскриптов.

Целью настоящей работы было клонирование восьми сплайс-форм GPx с последующей проверкой их последовательности секвенированием и анализом их потенциальной активности. Из высушенных личинок *P. vanderplanki* выделялась РНК, и после синтеза кДНК производилось выделение целевых транскриптов с помощью NestedPCR с использованием специфических пар праймеров для каждой сплайс-формы. Исследовались нуклеотидные последовательности полученных транскриптов путём получения рестрикционных карт и секвенирования по Сенгеру. Проводился анализ потенциальной ферментативной активности.

В результате было подтверждено присутствие всех восьми сплайс-форм GPx, существующих по данным RNA-seq, в том числе – сплайс-форм, кодирующих белки с заменой каталитических аминокислотных остатков. Проведена оценка потенциальной ферментативной активности данных форм GPx.

СЕКЦИЯ «БИОХИМИЯ»

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВ КИСЛОРОДА НА АКТИВНОСТЬ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ МЕМБРАН СИНАПТОСОМ МОЗГА КРЫС

Алибекова Д.М.¹, Юсупова С.А.¹

¹ФГБОУ ВО Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия
albina19764@mail.ru

Ацетилхолинэстераза (АХЭ) - это фермент, который регулирует временной профиль концентрации медиатора ацетилхолина в синаптической щели и является одним из основных компонентов холинергической нейромедиаторной системы мозга. Ранее при исследовании активности и кинетических характеристик АХЭ синаптических мембран мозга крыс при ишемии и реперфузии были обнаружены значительные изменения, характер которых указывал на то, что они связаны с модификацией структуры фермента. Известно, что при ишемии с последующей реперфузией одной из причин повреждения нейронов является окислительный стресс, связанный с интенсификацией процессов, сопровождающихся генерацией активных форм кислорода (АФК). В связи с этим можно предположить, что обнаруженные изменения активности АХЭ связаны с окислительной модификацией фермента под действием свободных радикалов. Для проверки этой гипотезы нами было предпринято исследование влияния АФК на активность АХЭ синаптических мембран мозга крыс *in vitro*.

Для индукции свободных радикалов использовали среду Фентона, содержащую аскорбиновую кислоту (4 мМ); перекись водорода (4 мМ) и FeSO₄ (5мкМ). Суспензию синаптических мембран мозга крыс добавляли в среду Фентона. Среду инкубировали в термостате при 37°C и через равные промежутки времени (10 мин) отбирали аликвоты, в которых процесс генерации СРП тормозился добавлением ЭДТА. Ровно через 1 мин в отобранных аликвотах определяли активность АХЭ.

Исследование показало, что инкубирование суспензии синапсом в среде Фентона приводит к снижению активности АХЭ. Причем, с увеличением времени инкубации степень ингибирования АХЭ увеличивалась. Так через 10 мин инкубации активность АХЭ снижалась на 30,8%, через 20 мин - на 41,2%, через 30 мин на 59,8%, через 40 мин на 68,4% относительно контроля. При этом инкубирование суспензии синапсом в том же временном интервале в фосфатном буфере (рН 7,4), не содержащем компонентов среды Фентона, не влияло на активность АХЭ. Можно предположить, что эффекты АФК на фермент обусловлены влиянием их на состояние тиол-дисульфидной системы фермента. Известно, что каталитические субъединицы АХЭ связаны между собой дисульфидными мостиками. Кроме того, они содержат три внутрицепочечные дисульфидные связи и одну свободную тиоловую группу. АФК могут приводить к инактивации фермента в результате химической модификации свободной тиоловой группы, расположенной в гидрофобной области белка вблизи с серином активного центра, результатом которого может явиться снижение эффективности катализа.

ПЕРЕДАЧА ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО СИГНАЛА ПРИ ИНДУКЦИИ АПОПТОЗА В КЛЕТКАХ ФЕОХРОМОЦИТОМЫ РС12 N-АЦИЛДОФАМИНАМИ

Ашба А.М.¹, Акимов М.Г.¹, Грецкая Н.М.¹, Безуглов В.В.¹

¹ФГБУН Институт биоорганической химии РАН им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Москва, Россия
alyafonya@mail.ru

N-ацилдофамины (NADA) - биогенные конъюгаты дофамина с длинноцепочечными жирными кислотами. NADA индуцируют гибель раковых клеток различного гистологического происхождения с полулетальными дозами в диапазоне 2-50 мкМ (установлено с помощью МТТ и LDH-тестов). Активность зависит от структуры остатка жирной кислоты и модификации дофамина, и является специфической. NADA проявляют свойства агонистов рецепторов каннабиноидно-ванилоидной системы, однако молекулярная мишень NADA, обеспечивающая индукцию гибели клеток, до сих пор неизвестна. Цель данной работы – идентифицировать рецептор NADA в клеточной линии феохромоцитомы РС12 и изучить пути передачи внутриклеточного сигнала при индукции клеточной гибели.

Мы установили, что мишенью NADA является рецептор non-CB1/CB2 GPR55 (подтверждено с помощью фармакологической блокады под действием ингибитора O-1918 и известных агонистов, а также путем нокадауна shRNA). Этот рецептор передает сигнал на фосфолипазу C (установлено, с помощью использования специфического ингибитора и измерения уровня NO), которая генерирует инозиттрифосфат (IP3), вызывающий высвобождение Ca²⁺ из внутриклеточных пулов через IP3-рецептор (специфический ингибитор рецептора, измерение уровня NO). Ca²⁺ (измерение концентрации кальция, использован хелатор кальция, анализ экспрессии мРНК nNOS на фоне хелатора) через кальмодулин (ингибитор кальмодулина) и

протеинкиназу CaMKIV (ингибитор CaMKIV) активирует фактор транскрипции CREB (измерен уровень АФК на фоне ингибитора CREB, анализ экспрессии мРНК nNOS на фоне ингибитора), который обеспечивает экспрессию нейрональной NO-синтазы (анализ экспрессии мРНК nNOS, iNOS, eNOS, использование ингибитора nNOS), последующую генерацию NO (измерение уровня NO, использование хелатора NO) и АФК (измерение АФК, ингибирование цистеином и аскорбатом для подтверждения окислительного стресса). Далее сигнал через чувствительную к АФК протеинкиназу ASK1 передается на протеинкиназу JNK (установлено с помощью ингибиторов данных киназ) и происходит запуск внутреннего пути апоптоза (измерение активности каспаз, использование панкаспазного и ингибитора аутофагии, анализ фрагментации ДНК, с помощью флуоресцентного красителя ApoTRACE и окраски аннексином) с активацией каспаз 9 и 3.

Таким образом, нам впервые удалось полностью и детально охарактеризовать передачу сигнала NADA при индукции клеточной смерти.

ПРОТЕОМНЫЙ АНАЛИЗ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СТАБИЛЬНОГО ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНОГО БЕЛКОВОГО КОМПЛЕКСА ПЛАЦЕНТЫ ЧЕЛОВЕКА

Буркова Е.Е.¹

¹ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия
burkova_evgeniya_e@mail.ru

Многочисленные биологические функции плаценты осуществляются не просто индивидуальными белками, а различными олигомерными структурами и комплексами, которые образуются при взаимодействии разных компонентов друг с другом. При этом активности комплексов могут значительно отличаться от активностей индивидуальных белков. Идентификация и характеристика мультибелковых комплексов плаценты может быть важным шагом в исследовании функциональных особенностей плаценты человека.

Целью настоящей работы было исследование состава и биологических активностей стабильного высокомолекулярного мультибелкового комплекса плаценты человека.

Из водорастворимой фракции экстракта плаценты человека был выделен белковый комплекс с молекулярной массой порядка 1000 кДа. Показано, что данный комплекс устойчив в концентрированных растворах солей, в присутствии органических растворителей и различных детергентов. Эффективная диссоциация комплекса происходила только в присутствии 8 М мочевины. Согласно электрофоретическому и масс-спектральному анализам комплекс содержит большое число пептидов и белков с молекулярными массами от 4 до 180 кДа. Данный комплекс в основном содержит гликозилированные белки с низкой молекулярной массой 4–14 кДа, несколько белков средней и небольшое количество белков с высокой молекулярной массой. Идентифицировано 5 белковых компонентов комплекса, в том числе серотрансферрин и сывороточный альбумин. Кроме того показано наличие РНК в препаратах данного комплекса.

Показано, что высокомолекулярный белковый комплекс эффективно гидролизует суперскрученную плазмидную ДНК в широком диапазоне pH и содержит минимум два сайта связывания ДНК с различным сродством к 12-звенному олигонуклеотиду. Кроме того показано, что данный комплекс обладает каталазной активностью. Исследование цитотоксического эффекта на линиях раковых клеток человека показало, что данный комплекс проявляет высокую цитотоксичность по отношению к клеткам аденокарциномы молочной железы человека линии MCF-7 и множественной миеломы RPMI-8226.

Таким образом, изучение структуры и свойств подобных комплексов позволит изучить новые биологические функции плаценты, которые реализуются на надмолекулярном уровне.

Работа поддержана Базовым проектом ПФНИ ГАН на 2017-2020 гг. (VI.62.1.5, 0309-2016-0003), грантом РФФИ № 16-04-00609, именной стипендией Правительства Новосибирской области.

СОСТАВЛЕНИЕ ПЕПТИДНЫХ КАРТ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ МОДИФИКАЦИЙ БЕЛКОВ- ФАКТОРОВ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ

Васильева А.Д.¹, Юрина Л.В.¹, Бычкова А.В.¹, Бугрова А.Е.¹, Индейкина М.И.¹, Кононихин А.С.^{1,2,3}, Николаев Е.Н.^{1,2,3}, Розенфельд М.А.¹

¹ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия; ²ФГБУН Институт энергетических проблем химической физики имени В.Л. Тальрозе РАН, Москва; ³ФГАОУ ВО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Московская область, Россия
ms.kadaver@mail.ru

Окислительный стресс является одним из значимых факторов в патогенезе различных заболеваний. Белки, циркулирующие в плазме крови, оказываются мишенями для активных форм кислорода. Несмотря на значительное количество работ по окислительной модификации белков, наблюдается общий дефицит исследований, направленных на идентификацию сайтов окисления в молекулах.

Картирование молекул белков с точным обозначением сайтов модификации обеспечит необходимой информацией для описания структурных изменений в молекулах при окислении, приводящих к потере функциональных свойств, а также для совершенствования методов диагностики группы патологий и создания тест-систем нового поколения.

В качестве объектов исследования нами были выбраны ключевые белки-факторы свертывания крови: фибриноген и плазменный фибринстабилизирующий фактор (рFXIII).

Исследуемые белки были получены из цитратной плазмы крови человека. Свободнорадикальное окисление инициировали озоном. При подготовке проб образцы фибриногена обрабатывались дитиотреитолом (Sigma) для восстановления дисульфидных связей с последующим алкилированием йодоацетамидом и гидролизом. Образцы рFXIII, с целью увеличения покрытия, подвергались последовательному гидролизу с помощью разных ферментов и их комбинаций.

Хромато-масс-спектрометрический анализ (ВЭЖХ-МС/МС) проводился на системе, состоящей из хроматографа Agilent 1100 (Agilent Technologies Inc., Санта-Клара, США) и гибридного масс-спектрометра LTQ-FT Ultra (Thermo, Бремен, Германия). Список из точных масс пептидов и масс их фрагментов использовался для поиска и идентификации белков по базе данных Uniprot при помощи программы PEAKS 8.0 (Bioinformatics Solutions Inc. Waterloo, ON Canada).

При исследовании окислительной модификации каталитической субъединицы в рFXIII методом масс-спектрометрии были обнаружены окислительные сайты во всех структурных элементах белка. Из числа обнаруженных модифицированных аминокислот, Туг442 и Туг482 находятся в области связывания кальция молекулой рFXIII. Это может приводить к частичной и полной потере ферментативной активности.

Также были получены данные о модификациях ряда аминокислотных остатков молекулы фибриногена. Расположение окисленных остатков может оказывать влияние на устойчивость фибринового сгустка к плазминовому гидролизу, препятствовать латеральной агрегации протофибрилл, что сказывается на структуре фибринового сгустка.

Работа проводится при финансовой поддержке РФФИ (гранты № 15-15-04-08188а и № 16-34-60244 мол_а_дж). Масс-спектрометрические данные получены при поддержке гранта Российского Научного фонда, №16-14-00181.

КИНЕТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ИКРОНОЖНОЙ МЫШЦЫ СУСЛИКОВ ПРИ ЗИМНЕЙ СПЯЧКЕ И В ДИНАМИКЕ ИНДУЦИРОВАННОГО САМОСОГРЕВАНИЯ

Гаджимусаева П.Н.¹, Халилов Р.А.¹, Джафарова А.М.¹, Абдуллаев В.Р.¹

¹ФГБОУ ВО Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

albina19764@mail.ru

Зимняя спячка мелких млекопитающих представляет собой комплекс адаптаций к условиям нехватки пищевых ресурсов и низких температур. Спячка длится несколько месяцев и сопровождается, периодическими пробуждениями с разогреванием тела в течение нескольких часов до 37°C. Столь существенные изменения физиологического состояния животного требуют гибких механизмов адаптации гликолитических ферментов. В данной работе нами предпринято исследование кинетических характеристик ключевого фермента гликолиза – лактатдегидрогеназы (ЛДГ) икроножных мышц сусликов при различных физиологических состояниях: летнем бодрствовании, глубоком зимнем сне (середина баута) и в динамике индуцированного согревания.

Исследование показало, что при всех исследованных состояниях значение максимальной скорости (V_m) ЛДГ не изменяется, составляя примерно одну и ту же величину. При этом константа Михаэлиса (K_m) в состоянии торпидности значительно (в 6 раз) увеличивается. Согревание сусликов до 10°C приводит к уменьшению K_m в 2 раза по сравнению со спящими животными. Дальнейшее повышение температуры приводит к уменьшению значения K_m до уровня контрольных животных. При 37°C K_m становится меньше таковой бодрствующих сусликов на 21%. Столь существенные изменения K_m на фоне незначительных колебаний V_m сказываются на значении показателя эффективности катализа ЛДГ при физиологических концентрациях субстрата, определяемого нами как отношение V_m/K_m . Обнаружено, что V_m/K_m в состоянии торпидности в 6,6 раз меньше по сравнению с контролем. Повышение температуры тела животного приводит к постепенному повышению этого показателя до уровня контрольных значений. Исследование показало, что в период зимнего сна сусликов существенные изменения претерпевает и константа ингибирования ЛДГ: она увеличивается в 42,5 раз. Обнаруженные изменения активности и кинетических констант ЛДГ сусликов при зимней спячке и индуцированном согревании, скорее всего, носят адаптивный характер. Известно, что при гибернации сусликов существенно снижается скорости всех метаболических потоков, в том числе и гликолиза. Вместе с тем индуцированное согревание сопровождается большими энергозатратами, что требует высокой эффективности катализа от фермента, ответственного за рециркуляцию анаэробного пути окисления глюкозы. Анализ кинетических характеристик указал на то, что изменения скорости катализа ЛДГ при спячке и

самосогревании скорее связаны не с изменением количества фермента (поскольку значение V_m не изменяется), а с его химической или конформационной модификацией.

ВЛИЯНИЕ СОЛЕВОГО СТРЕССА НА АКТИВНОСТЬ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ И МАЛАТДЕГИДРОГИНАЗЫ В ПРОРОСТКАХ ZEA MAYS L.

Гатауллина М.О.¹, Карабутова Л.А.¹, Анохина Г.Б.¹, Селиванова Н.В.¹, Степанова А.В.¹

¹ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

marina.gataullina@gmail.com

Для 25% почв планеты характерно избыточное содержание минеральных солей. Поэтому изучение механизмов адаптивной реакции к солевому стрессу, в том числе исследование регуляции активности ключевых ферментов ЦТК, является необходимым в таких областях как селекция и геновая инженерия. В связи с этим, целью нашей работы явилось изучение влияния таких стрессового фактора как засоление на активность сукцинатдегидрогеназы и малатдегидрогеназы в проростках кукурузы.

Действие 150 мМ раствора хлорида натрия приводит к увеличению активности сукцинатдегидрогеназы в проростках кукурузы по сравнению с контрольной группой, где, в целом, активность фермента оставалась на одном уровне (изменения в пределах колебаний). В условиях солевого стресса происходила активация фермента, что, наиболее вероятно, связано с тем, что для компенсации негативного влияния хлорида натрия требуется дополнительный приток энергии.

По прошествии трёх часов инкубации активность фермента выросла и имела максимальное значение, что свидетельствует о том, что соль в данном случае выступает в качестве стимулирующего фактора на активность СДГ. Следует отметить, что данный эффект характерен лишь в случае не слишком долго воздействия, так как в дальнейшем активность СДГ упала, но при этом всё же оставалась выше более чем в два раза, в сравнении с контрольной группой. Исходя из этого, изменения в функционировании СДГ в листьях кукурузы, индуцированные солевым стрессом, заключаются в увеличении активности данного фермента, что приводит к энергизации клетки. Дополнительный приток энергии обеспечивает увеличение интенсивности функционирования цикла трикарбоновых кислот, что, в свою очередь, является необходимым условием для адаптации растения к солевому стрессу.

Исследования влияния солевого стресса на функционирование МДГ показали увеличение активности данного фермента спустя 3 часа инкубации примерно в 1,5 раза. В дальнейшем, активность малатдегидрогеназы продолжала расти. Спустя 24 часа инкубации активность МДГ увеличилась в 2,5 раза. Следует отметить, что увеличение активности наблюдается уже в первые часы засоления, что говорит о том, что на МДГ хлорид натрия также оказывает стимулирующее действие. По нашему мнению, это связано с усилением работы МДГ- комплекса и интенсификацией цикла Хэтча-Слейка в условиях стресса.

ГЕНЫ И ФЕРМЕНТЫ СЕРИНОВОГО ЦИКЛА У МЕТАНОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ: ФУНКЦИИ, РАСПРОСТРАНЕНИЕ И ФИЛОГЕНИЯ

Егорова С.В.¹, Бут С.Ю.²

¹ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия; ²ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина, Пушкино, Россия

bohemiahrhapsody12345@gmail.com

Метанотрофы - специализированная группа бактерий, использующих метан или метанол в качестве единственных источников углерода и энергии. Метилотрофы получают энергию, окисляя C_1 -субстрат до углекислого газа в нескольких последовательных реакциях. Углерод при этом фиксируется на уровне формальдегида или углекислого газа в одном из трех путей: рибулозимонофосфатном (метанотрофы I типа), сериновом (метанотрофы II типа) или цикле Кальвина (X тип и филум *Verrucomicrobia*). Анализ секвенированных геномов показывает присутствие генов, кодирующих ферменты серинового пути, у большинства метанотрофов и не растущих на метане метиловых бактерий, включая штаммы, ассимилирующие углерод главным образом через рибулозимонофосфатный путь и/или цикл Кальвина. При этом роль серинового цикла у метанотрофов I и X типов остается невыясненной, в связи с чем, интерес представляет изучение распространения и филогении ключевых генов данного пути, а также свойств кодируемых ими ферментов.

Филогенетический анализ серин-глиоксилаттрансаминаз, оксипируватредуктаз и глицераткиназ указывает на различное происхождение данных ферментов у метанотрофов II типа, реализующих исключительно сериновый путь ассимиляции формальдегида, и у метанотрофных бактерий, относящихся к I и X типам и реализующих также РМФ-путь и цикл Кальвина. Были клонированы оксипируватредуктазы трех метанотрофов, являющиеся модельными объектами изучения метаболизма: *Methylobacterium alcaliphilum* 20Z (I тип), *Methylosinus trichosporium* Ob3b (II тип) и *Methylococcus capsulatus* Bath (X тип). Гетерологичной

экспрессией в *E. coli* были получены рекомбинантные ферменты. Все три фермента катализировали НАДН₂- и НАДФН₂-зависимое восстановление гидроксипировата до глицерата, при этом активность ферменты штаммов Ob3b и Bath была выше в присутствии НАДН₂ и они имели более высокое сродство к данному кофактору. В тоже время оксипироватредуктаза из 20Z имела схожее сродство к НАДН₂ и НАДФН₂. Активность оксипироватредуктазы *Ms. trichosporium* была примерно на порядок выше ферментов из двух других метанотрофов, что согласуется с ее центральной ролью в метаболизме метанотрофов II типа. Интересно, что помимо оксипироватредуктазы, все три фермента использовали также глиоксилат в качестве субстрата. Причем активность оксипироватредуктазы из *Mm alcaliphilum* 20Z была сопоставима, как в присутствии НАДН₂, так и НАДФН₂, в то время, как фермент из *Ms. capsulatus* был активен только в присутствии НАДН₂, а из *Ms. trichosporium* имел активность на два порядка при использовании НАДН₂ в качестве кофактора.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №17-04-01113.

ЮВЕНИЛЬНЫЙ ГОРМОН И ДОФАМИН РЕГУЛИРУЮТ УРОВЕНЬ ТРЕГАЛОЗЫ У *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Еремина М.А.¹, Карпова Е.К.¹, Груntenко Н.Е.¹

¹ ФГБНУ Федеральный Исследовательский Центр Институт Цитологии и Генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

eremina@bionet.nsc.ru

Нейроэндокринная стресс-реакция является универсальным и эффективным способом защиты животных от воздействующих на них стрессоров. В стресс-реакцию насекомых вовлечены различные гормоны, в частности, биогенные амины (дофамин (ДА), октопамин) и ювенильные гормоны (ЮГ).

ДА у насекомых выполняет функции не только нейрогормона, но и нейромедиатора и нейромодулятора. Кроме того, он участвует в формировании кутикулы и задействован в регуляции поведенческих реакций, репродуктивной и двигательной активности.

ЮГ – очень важная группа гормонов, которые, помимо участия в стресс-реакции, контролируют развитие и размножение насекомых. Кроме того, для некоторых видов хрущаков, пчел и комаров обнаружено, что ЮГ регулирует гомеостаз трегалозы.

Дисахарид трегалоза, построенный из двух молекул глюкозы, представляет собой основной циркулирующий сахар у *Drosophila* и главный источник энергии для полета. Правильное регулирование углеводного гомеостаза имеет решающее значение для поддержания нормальной физиологии.

Повышение уровней ДА и ЮГ, вызванное стрессом, является механизмом защиты, направленным на адаптацию к действию неблагоприятных факторов окружающей среды. В связи с этим особый интерес представляет изучение влияния теплового стресса на углеводный обмен в сочетании с изменением уровня ЮГ и ДА.

Мы показали, что у самок линии дикого типа Canton S *Drosophila melanogaster*, так же как у пчел и комаров, ЮГ участвует в регуляции уровня сахаров: обработка экзогенным ЮГ приводит к снижению уровня трегалозы, но не влияет на уровень глюкозы.

Мы также продемонстрировали, что ДА обладает ингибирующим эффектом по отношению к метаболизму углеводов: кормление самок дрозофилы L-ДОФА, предшественником ДА, вызывает у них снижение уровня обоих углеводов.

Таким образом, полученные данные позволяют заключить, что гормоны, задействованные в нейроэндокринной стресс-реакции *D. melanogaster*, участвуют и в регуляции углеводного обмена.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 15-04-02934.

ЗАВИСИМОСТЬ ЗАЩИТНОГО ЭФФЕКТА ИНСУЛИНА ОТ ЕГО КОНЦЕНТРАЦИИ И МОДУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ERK1/2 В НЕЙРОНАХ КОРЫ МОЗГА ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ

Зорина И.И.¹, Захарова И.О.¹, Баюнова Л.В.¹, Аврова Н.Ф.¹

¹ ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия

zorina.inna.spb@gmail.com

В последнее время широко изучается нейропротекторный эффект инсулина. Экспериментальные исследования и клинические испытания инсулина показали его перспективность как лекарства для лечения нейродегенеративных и других болезней, связанных с поражением мозга. Но, механизм его защитного действия на нейроны пока далек от понимания. Целью нашей работы было изучение зависимости защитного действия инсулина на нейроны коры мозга от его концентрации и возможный вклад модуляции инсулином активности

протеинкиназы, регулируемой внеклеточными сигналами (ERK1/2), и повышение им жизнеспособности этих нейронов.

С помощью МТТ метода показано, что защитный эффект инсулина против повреждающего действия H_2O_2 на первичную культуру нейронов коры мозга крыс носит дозозависимый характер в диапазоне от 1 до 100 нМ ($1 \text{ нМ} < 10 \text{ нМ} < 100 \text{ нМ}$), тогда как различий между эффектом 100 нМ и 1 мкМ инсулина не выявлено. Важную роль в защитном действии инсулина на нейроны играет активация им PI-3-киназы/Akt. В отношении влияния инсулина на активность ERK1/2 в нейронах получены противоречивые данные. В ряде работ не выявлено изменения активности ERK1/2 при действии инсулина, но в других работах показана активация ERK1/2 инсулином. Благодаря определению модуляции активности ERK1/2 в нейронах в динамике развития окислительного стресса методом иммуноблоттинга (на 8 временных точках после добавления H_2O_2) нами показано, что инсулин, не отменяя активацию фермента на ранних этапах действия прооксиданта, способен предотвращать ярко выраженную активацию ERK1/2 (увеличение уровня pERK1/2) на поздних этапах развития окислительного стресса. Так, через 4 ч после начала действия H_2O_2 активность ERK1/2 в $1,77 \pm 0,23$ раза выше, а через 6 ч - в $2,3 \pm 0,21$ раза выше, чем в контроле. Но при преинкубации со 100 нМ или 1 мкМ инсулина до действия H_2O_2 активность ERK1/2 сильно и достоверно снижается по сравнению с эффектом одного прооксиданта. Интересно, что сходное воздействие на активность ERK1/2 оказывают альфа-токоферол и N-ацетил-L-карнозин. Краткая активация ERK1/2 повышает жизнеспособность нейронов, но ее активация на поздних этапах развития окислительного стресса или ее персистентная активация при ишемии мозга, напротив, приводят к гибели нейронов. По-видимому, способность инсулина предотвращать активацию ERK1/2 в нейронах коры мозга на поздних этапах развития окислительного стресса вносит вклад в повышение им жизнеспособности этих клеток.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 16- 04-00408.

КАТАЛИТИЧЕСКАЯ ПОЛИРЕАКТИВНОСТЬ АНТИТЕЛ КРОВИ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ БОЛЬНЫХ

Зубкова А. Д.¹, Баранова С. В.²

¹ФГАОУ ВО Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия; ²ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

swb@niboch.nsc.ru

Открытие каталитически активных антител (абзимов) является одним из ярких достижений последних десятилетий в биохимии и иммунологии. В настоящее время эта область исследований является одним из перспективных направлений науки.

Ранее нами показано, что в крови ВИЧ-инфицированных больных образуются абзимы против основного белка миеллина (ОБМ) и гистонов. Согласно литературным данным антитела против какого-либо белка, очищенные на колонке с иммобилизованным белком, специфически гидролизуют только этот белок, но не другие контрольные белки. Оказалось, что электрофоретически гомогенные препараты IgG против гистонов ВИЧ-инфицированных больных при использовании в качестве контрольного белка ОБМ эффективно гидролизуют этот белок и наоборот антитела против ОБМ расщепляют гистоны. Полученные данные свидетельствуют о том, что антитела человека против гистонов, содержат фракцию антител против ОБМ, а антитела против ОБМ содержат фракцию иммуноглобулинов против гистонов.

Так как гистоны и основной белок миеллина в существенной степени обладают гомологичными белковыми последовательностями, то важно установить механизмы взаимодействия антител с гистонами и ОБМ. Показано, что абзимы расщепляют гистон H1 и ОБМ по одним и тем же основным сайтам.

В целом, полученные результаты по исследованию взаимодействия IgG крови ВИЧ-инфицированных больных с гистонами и ОБМ демонстрируют не только полиспецифичность антител в связывании гистонов и ОБМ, но и перекрестную каталитическую полиреактивность.

Работа поддержана грантами РФФИ №№ 16-34-00079, 15-04-03245, 16-04-00604.

СОЗДАНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ИНТЕРЛЕЙКИНА-36 (IL-36R) СВЯЗАННЫХ С Fc- ФРАГМЕНТОМ IGG1 ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ЛИГАНД-РЕЦЕПТОРНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ

Калинин Р.С.^{1,2}, Кондратьева Е.В.², Монахова В.С.², Колобов А.А.^{1,2}

¹ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург, Россия; ²ФГУП
Государственный Научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов ФМБА России, Санкт-
Петербург, Россия

Roman.Kalinin.93@yandex.ru

В патогенез псориаза вовлечены интерлейкины-36 (IL-36). Это семейство включает в себя три агониста – IL-36 a, b и g, и один рецепторный антагонист IL-36Ra. Агонисты рецептора интерлейкина-36 связывают рецептор интерлейкина-36 (IL-36R), этот комплекс привлекает ко-рецептор интерлейкина-1 (IL-1AcP). Этот гетеродимер передает сигнал по NF-κB или MAPK пути. Антагонист IL-36Ra связывает IL-36R, и мешает его димеризации с IL-1AcP, блокируя передачу сигнала. Дисбаланс в сторону агонистов IL-36 приводит к хроническому воспалению, в частности к псориазу.

В разработанной нами модели псориаза мышам подкожно вводят агонист IL-36g человека, что вызывает у них псориазоподобный дерматит. Целью данной работы стало подтвердить на молекулярном уровне взаимодействие IL-36g человека с IL-36R мыши, а также сравнить силу связывания IL-36g человека с IL-36R мыши с IL-36R человека. Для этого мы создали химерные IL-36R мыши и человека, связанные с Fc-фрагментом IgG1 человека (далее Fc) и химерные IL-1AcP мыши и человека, также связанные с Fc.

Fc необходим для димеризации IL-36R с IL-1AcP. Кроме того, при изучении *in vitro* взаимодействия лиганда с рецептором методом функционального ИФА или поверхностного плазмонного резонанса, использование белка А, связывающего Fc, помогает правильной ориентации химерного рецептора с Fc при сорбции на носитель.

Сконструированы плазмиды, несущие ген внеклеточной части IL-36R человека, или несущие ген внеклеточной части IL-1AcP человека. Оба гена рецепторов связаны с геном Fc-фрагмента антитела. Между генами IL-36R и Fc введена последовательность нуклеотидов, кодирующая шарнир (hinge) из аминокислот с малым хиральным радиусом радикалов. Благодаря наличию шарнира Fc не мешает фолдингу и взаимодействию рецептора с лигандом. Полученными плазмидами, одной или обеими, трансфицировали суспензионную культуру клеток CHO. Отбирали клетки, несущие плазмиды. Белок секретируется во внеклеточную жидкость, она наносилась на колонку с иммобилизованным белком А. Элюировались гомодимерные рецепторы, либо гетеродимерные в случае коэкспрессии. Аналогичные действия проведены с рецепторами мыши.

Получены рекомбинантные химерные рецепторы человека и мыши, гетеродимерные IL-36R / IL-1AcP, либо гомодимерные IL-36R или IL-1AcP, сшитые с Fc-фрагментом человека.

Полученные рецепторы можно использовать для оценки лиганд-рецепторного взаимодействия *in vitro* методами функционального ИФА или поверхностного плазмонного резонанса

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ МУТАЦИИ УСИЛИВАЮТ ИНГИБИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ БЕТА-АМИЛОИДА НА ПРОТЕОЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ПУТИ "N-КОНЦЕВОГО ПРАВИЛА"

Кечко О.И.^{1,2}, Макаров А.А.¹

¹ФГБУН Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН; ²ФГБОУ ВО Московский
государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

olga.kechko@gmail.com

Согласно «амилоидной гипотезе» ключевым событием развития болезни Альцгеймера (БА) является процесс олигомеризации бета-амилоида (Абета). Аминокислотные замены в данном пептиде приводят к развитию наследственных случаев БА. Такие мутантные пептиды обладают большей нейротоксичностью и склонностью к агрегации, чем немодифицированный Абета. С помощью метода проточной цитометрии мы показали, что пептиды, имеющие наследственные «английскую» (H6R-Абета) и «тайваньскую» (D7N-Абета) мутации, обладают более выраженным апоптогенным эффектом на клетки нейробластомы Neuro-2a, чем Абета. Апоптотический эффект данных пептидов ассоциирован с увеличением доли клеток со сниженным митохондриальным потенциалом, что свидетельствует об активации митохондриального пути апоптоза.

Основной антиапоптозной системой в клетках млекопитающих является путь «N-концевого правила». Данный путь включает в себя ряд ферментов – N-концевые аминогидролазы, аргинил-трансферазы и убиквитин-лигазы, – распознающих белки с различными дестабилизирующими аминокислотными остатками на

N-конце. После взаимодействия с такими ферментами к белку присоединяется цепь убиквитинов, являющаяся сигналом для протеасомной деградации белка.

Было показано, что Абета является субстратом пути «N-концевого правила». Мы установили, что мутантные пептиды оказывают более сильное ингибирующее действие на антиапоптозный путь «N-концевого правила», чем Абета. Помимо этого, используя пептиды с различными N-концевыми аминокислотными остатками, мы показали, что мишенью действия амилоидных пептидов являются аргинил-трансферазы. Таким образом, способность амилоидных пептидов ингибировать протеолитическую активность пути «N-концевого правила» может обуславливать их нейротоксическое действие, наблюдаемое при БА.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 14-24-00100.

КАЛЬЦИЕВАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ПЕПТИДОГЛИКАНГИДРОЛАЗЫ БАКТЕРИОФАГА T5

Коваленко А.О.^{1,2}, Чернышов С.В.¹, Прохоров Д.А.³, Молочков Н.В.³, Микулинская Г.В.¹

¹Филиал ФГБУН Института биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пушкино, Россия; ²ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; ³ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия
gertrude-mcfuzz@mail.ru

Вирулентный колифаг T5 для выхода фагового потомства из бактериальной клетки использует Ca^{2+} -зависимую цинксодержащую пептидогликангидролазу семейства M15 – эндолизин (EndoT5). Данный фермент является важным с точки зрения биотехнологии: эндолизины бактериофагов могут служить альтернативой антибиотикам, что актуально в связи с распространением большого числа антибиотикорезистентных патогенов.

В структуре EndoT5 имеется консервативный цинк-связывающий сайт, характерный для пептидаз семейства M15. Он включает аминокислотные остатки H66, D73, D130 и H133. Однако способ связывания Ca^{2+} и его роль в регуляции активности фермента ранее не исследовались. В работе мы изучали роль ряда полярных а.о. в связывании Ca^{2+} эндолизином с помощью сайт-направленного мутагенеза.

Были получены белки с единичными мутациями по полярным остаткам, входящим в состав длинной подвижной петли фермента: D113A, N115A, N115D, D130A и S117A. Мутантные белки были очищены до гомогенного состояния хроматографическими методами. Полученные ферменты значительно отличаются по гидролитической активности: мутант N115D имеет удельную активность, приблизительно в 5 раз меньшую, чем у нативного белка EndoT5; мутанты N115A и S117A имеют активность, которая примерно в 40 раз ниже, чем у EndoT5; мутант D113A обладает остаточной активностью; мутант D130A лишен ферментативной активности, но способен связывать субстрат. Все мутантные белки проявляют свойственную природному ферменту температурную устойчивость. Это доказывает сохранение ферментативной активности после прогрева при 90°C в течение 30 минут. В случае неактивного D130A наблюдается сходство спектров кругового дихроизма (КД) до и после прогрева, что свидетельствует о восстановлении структуры после температурной денатурации.

Для полного ингибирования активности N115A и D113A требуется на порядок большая концентрация металлохелатора ЭДТА, чем для EndoT5 и мутантов N115D и S117A. Активность EndoT5, мутантов N115D и S117A после ингибирования восстанавливается полностью, а N115A и D113A – лишь на 20 – 30%. Таким образом, замены N-D в положении 115 и S-A в положении 117 уменьшают прочность связывания кальция; потеря полярности в положениях 113 и 115 изменяет специфичность связывания. Аспарагиновая кислота в позиции 130 критична для катализа.

Мы полагаем, что регуляторная роль Ca^{2+} заключается в стабилизации структуры длинной подвижной петли в молекуле фермента, в результате чего образуется каталитически активная «открытая» конформация белка.

СТРУКТУРА И БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ ОЛИГОСАХАРИДОВ И ЛИПИДОВ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ МОЛОКА ЧЕЛОВЕКА

Компанеец И.Ю.¹

¹ФГАОУ ВО Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия
kompaneecivan@mail.ru

Защита желудочно-кишечного тракта новорожденных от бактериальных и вирусных инфекций в значительной степени обеспечивается иммуноглобулинами материнского молока. Ранее было показано, что иммуноглобулины молока нековалентно прочно связаны с олигосахаридами и липидами. Гликозилирование белков является важной посттрансляционной модификацией, и от особенностей гликозилирования существенно зависят биологические функции белков.

Наряду с каноническими функциями, такими как связывание антигена, некоторые молекулы антител молока человека обладают также каталитической активностью. Ранее была показана возможность фосфорилирования эндогенных олигосахаридов и липидов иммуноглобулинами молока. В отличие от всех известных киназ, антитела молока могут использовать в качестве субстрата не только АТР, но и ортофосфат. Вероятно, липиды и олигосахариды иммуноглобулинов молока могут иметь другую структуру по сравнению со свободными олигосахаридами и липидами молока. В связи с этим, исследование состава олигосахаридов и липидов, прочно связанных с иммуноглобулинами молока человека, представляет научный интерес.

Олигосахариды и липиды выделяли из препаратов иммуноглобулинов молока смесью хлороформ : метанол. MALDI-TOF масс-спектрометрический анализ полученных препаратов олигосахаридов и липидов выявил наличие компонентов с молекулярными массами от 1200 до 8600 Да. В литературе олигосахаридов и липидов с такой молекулярной массой не описано. Биохимическим анализом показано, что полученные препараты олигосахаридов и липидов не содержат пептиды, аминокислоты и сложные эфиры.

Работа поддержана грантами: Проект 1.7.15 Комплексной программы Сибирского отделения РАН (III.2П.1), РФФИ № 16-04-00603.

ДИНАМИКА ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ У КРЫС ПРИ ОВАРИОЭКТОМИИ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ

Корнеева К.О.¹

¹Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь
karinakorneeva21@gmail.com

Активация свободнорадикальных процессов лежит в основе повреждения мембран клеток через нарушения липидного состава. Одной из причин развития окислительного стресса является дефицит женских половых гормонов, формирующийся у женщин на фоне естественной или хирургической менопаузы. Достоверно известно, что гормональная заместительная терапия оказывает антиоксидантный эффект, однако, эффективность фармакологической коррекции другими биологически активными веществами точно не выявлена.

В данном исследовании рассматривалось влияние лактоферрина (человеческого) и спиртового экстракта ириса болотного на крыс после экспериментальной овариоэктомии.

Известно, что лактоферрин препятствует образованию свободных гидроксильных радикалов, тем самым ингибирует перекисное окисление липидов. Это обеспечивается за счет связывания белком железа, которое катализирует реакцию образования ·ОН.

Основанием для изучения эффективности действия экстракта ириса болотного явилось высокое содержание в нем изофлавоноидов, которые проявляют антиоксидантное действие, ингибируя окисление соединений различных классов.

Для оценки уровня ПОЛ у животных контрольных и опытных групп определяли исходную концентрацию вторичных продуктов ПОЛ (малонового диальдегида) в гемолизате эритроцитов тиобарбитуровым методом. Сравнение средних показателей производили с помощью стандартных методов вариационной статистики. Различия в показателях считались статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

Полученные результаты отражают общие закономерности липидной перекисидации во всем организме. Эстрогендефицитное состояние привело к значительному увеличению показателей активности ПОЛ, так как количество МДА выросло на 31,33% по сравнению с контролем. Была подтверждена эффективность гормонозаместительной терапии (снижение количества МДА на 18,45% при введении этинилэстрадиола). Было выявлено: введение лактоферрина и экстракта ириса эффективно снижает процессы ПОЛ как в случае интактных крыс, так и животных после овариоэктомии. Для оперированных крыс эффективность терапии с использованием лактоферрина выше, чем экстракта ириса (понижение показателей на 33,9% и 23,6% соответственно). Совместное же применение этих веществ приводит к снижению количества МДА всего на 9,44%. Данный факт позволяет предположить, что лактоферрин и экстракт ириса ингибируют действие друг друга.

Таким образом, полученные данные позволяют считать человеческий лактоферрин и экстракт ириса болотного перспективными для дальнейшего изучения проблем фармакологической коррекции эстрогендефицитных состояний биологически активными веществами.

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ИФА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИТЕЛ К ЦВС-2 В СЫВОРОТКЕ СВИНЕЙ

Кудин К.В.¹, Кудина И.В.¹, Полегенькая Н.В.¹, Прокулевич В.А.¹

¹ Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

kiryl.kudin@gmail.com

Цирковирус свиней типа 2 является экономически значимым свиным патогеном. В связи с этим одно из актуальных направлений исследований в области ветеринарии направлено на разработку средств диагностики и профилактики цирковиральных инфекций свиней. Ранее была получена открытая рамка считывания, кодирующая белок капсида штамма ЦВС-2b дикого типа из образца ткани лимфатического узла животного с симптомами СПМИ. Наработанный в клетках бактериального продуцента рекомбинантный белок, содержащий аффинную метку из 6 гистидиновых остатков, был очищен с помощью металл-хелатной хроматографии (HisPurTM Ni-NTA, Thermo Fisher Scientific). Фракции белка со степенью чистоты >50% объединяли и дополнительно очищали методом гель-фильтрации (Toyopearl HW-55, Tosoh Bioscience). Полученная степень очистки рекомбинантного белка составила >95% по данным денситометрического анализа изображения геля, окрашенного кумасси бриллиантовым синим R-250, после электрофореза в полиакриламидном геле в денатурирующих условиях.

Для исследования возможности использования полученного рекомбинантного антигена в иммуноферментном анализе и определения оптимальной концентрации компонентов реакции проводили эксперименты по титрованию антигена и вторичных меченых пероксидазой хрена антител к свиному IgG (Abcam).

Основываясь на данных кривых титрования в дальнейшей работе при иммобилизации антигена, использовали раствор очищенного белка капсида ЦВС-2 с концентрацией 20 мкг/мл, и разведение вторичных антител в концентрации 0,2 мкг/мл. С помощью разработанной схемы анализа были проверены доступные коммерческие сыворотки: положительная контрольная сыворотка фирмы Accurate Chemical&Scientific corporation (лот J1323), положительная контрольная сыворотка фирмы ООО «Ветбиохим» из набора реагентов «ЦИРКО-СЕРОТЕСТ» (серия 04, контроль 04), отрицательная контрольная сыворотка фирмы ООО «Ветбиохим» из набора реагентов «ЦИРКО-СЕРОТЕСТ» (серия 04, контроль 04). Результаты исследования коммерческих сывороток показали возможность использования полученного рекомбинантного белка и испытанной схемы анализа для определения специфических антител к ЦВС-2 в сыворотке свиней.

Дальнейшее изучение данного метода ИФА будет проводиться с использованием образцов сывороток свиней, проверенных диагностическими ветеринарными лабораториями или любым доступным референсным методом обнаружения ЦВС-2. Исследование будет направлено на установление областей положительных и отрицательных значений, определение коэффициентов межсерийной и внутрисерийной вариации, а также оценку специфичности и чувствительности метода.

ИЗМЕНЕНИЕ РЕЦЕПТОРНОЙ ФУНКЦИИ Na,K-АТФАЗЫ В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ И ИШЕМИИ

Лакунина В.А.¹, Бурнышева К.М.¹, Митькевич В.А.¹, Макаров А.А.¹, Петрушанко И.Ю.¹

¹ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

lakunina.va@gmail.com

Na,K-АТФаза поддерживает гомеостаз натрия и калия в клетке, необходимый для жизнедеятельности любой животной клетки, а также является единственным известным рецептором кардиотонических стероидов, в частности, убаина. Эндогенный убаин в наномолярной концентрации был обнаружен в плазме крови позвоночных животных, и предполагают, что он выполняет роль гормона, активирующего сигнальные пути апоптоза, пролиферации и других клеточных процессов. Передача сигнала при связывании убаина осуществляется вследствие активации Src-киназы, находящейся в комплексе с Na,K-АТФазой.

Активность Na,K-АТФазы зависит от редокс-статуса клетки и содержания кислорода. В условиях гипоксии и ишемии транспортная и гидролитическая активность Na,K-АТФазы снижается, однако остается неизвестным, как при этом меняется рецепторная функция фермента.

Влияние низкого содержания кислорода на рецепторную функцию Na,K-АТФазы изучали на клетках фибробластов мышцы линии SC-1 при инкубации их с убаином в условиях гипоксии и ишемии. Было оценено действие различных концентраций убаина на жизнеспособность клеток, внутриклеточный уровень активных форм кислорода (АФК) и восстановленного глутатиона (GSH), а также на активацию сигнальных каскадов. Цитотоксическое действие убаина оценивали с помощью МТТ-теста. Уровень АФК и GSH определяли методом проточной цитометрии. Активацию сигнальных каскадов, индуцируемых убаином, оценивали по уровню активирующего фосфорилирования (Y416) Src-киназы методом вестерн-блот. Было показано, что

цитотоксическое действие убаина на клетки в условиях гипоксии и ишемии снижается. В условиях низкого содержания кислорода убаин не вызывает возрастания уровня АФК, наблюдаемого в случае 20% кислорода. Было установлено, что в то время как добавление убаина при 20% pO_2 приводит к увеличению уровня активирующего фосфорилирования Src киназы p(Y416)-Src, обработка убаином в условиях гипоксии не приводит к активации Src-киназы. Таким образом, при низком содержании кислорода рецепторная функция Na,K-АТФазы изменяется, клетки становятся менее чувствительными к действию кардиотонических стероидов, что следует учитывать при их терапевтическом использовании. С другой стороны, в присутствии убаина клетки становятся менее чувствительными к низкому содержанию кислорода. Это указывает на то, что кардиотонические стероиды способны оказывать протекторное действие при острых ишемических состояниях.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-14-01152).

ОЧИСТКА L-ЛАКТАТ: ЦИТОХРОМ C-ОКСИДОРЕДУКТАЗЫ ИЗ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА PISUM SATIVUM

Ларченков В.М.¹, Комарова Н.Р.¹, Ковалёва Е.В.¹, Миткевич А.В.¹

¹ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

larchenkoff.vladimir@yandex.ru

В условиях гипоксии у растений, когда электрон-транспортная цепь митохондрий не функционирует, образующийся в ходе гликолиза NADH может окисляться в реакциях молочнокислого и спиртового брожения. Однако при этом могут накапливаться токсичные продукты данных реакций, одним из которых является лактат. Возникло предположение о существовании у растений специальных ферментов, ответственных за быстрое удаление лактата из внутренней среды клеток.

В связи с этим целью работы было выявление и изучение L-лактат: цитохром c-оксидоредуктазы (ЛЦО) у растений и изучение её свойств у проростков гороха посевного.

В качестве объектов исследований были выбраны проростки риса посевного *Oryza sativa* и гороха посевного *Pisum sativum*. Активность фермента определялась спектрофотометрическим методом при длине волны 420 нм по уменьшению концентрации гексацианоферрата калия (III) в реакционной смеси. Очистка ЛЦО из проростков гороха проводилась с использованием ионообменной хроматографии на DEAE-Sephacel. Анализ молекулярной массы очищенного фермента осуществлялся методами гель-хроматографии на сефадексе G-200 и денатурирующего электрофореза с SDS по Лэмбли.

При изучении активности ЛЦО у двухдневных проростков риса выявлено повышение активности данного фермента после инкубации в течение 45 минут под водой и 5 минут на воздухе по сравнению с контролем, что указывает на активацию ЛЦО в условиях выхода растения из состояния гипоксии. При исследовании функционирования фермента у гороха максимальная активность была выявлена на вторые сутки прорастания семян. Был получен препарат ЛЦО из зародышей семян гороха с удельной активностью 12,02 Е/мг белка, очищенный 58,7 раз. Молекулярная масса фермента составила 185 кДа, масса одной субъединицы – 45 кДа. Значение константы Михаэлиса ЛЦО по лактату составило 5 мМ, что указывает на высокую аффинность ЛЦО к этому субстрату. Полученный препарат сохранял стабильность при хранении в 30%-м растворе глицерина в течение месяца.

АДСОРБЦИЯ ИММУНОГЛОБУЛИНА G И СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА НА НАНОЧАСТИЦАХ МАГНЕТИТА

**Бычкова А.В.¹, Лопухова М.В.¹, Данилова Т.А.¹, Милютин А.Н.¹, Пронкин П.Г.¹,
Розенфельд М.А.¹**

¹ФГБУН Институт биохимической физики имени Н. М. Эмануэля РАН, Москва, Россия

mahlop1@yandex.ru, anna.v.bychkova@gmail.com

В настоящее время магнитные наночастицы (МНЧ) обладают высоким потенциалом применения в медицине и биологии – для тераностики опухолей (проведения магнитно-резонансных исследований в сочетании с гипертермией и доставкой лекарственных веществ к клеткам-мишеням), в иммунологических исследованиях, для клеточной и молекулярной сепарации. Покрытие на поверхности МНЧ определяет характер их взаимодействия с биологическими средами и продолжительность циркуляции в организме. Функциональная доработка поверхности наночастиц биовекторами (антителами) обеспечивает их нацеливание на клетки-мишени.

В работе исследованы факторы, влияющие на адсорбцию белков крови – сывороточного альбумина и иммуноглобулина G – на поверхности МНЧ магнетита. Оба белка могут выступать в качестве составляющих покрытия на МНЧ для решения современных задач биологии и медицины. Сшивание покрытий из альбумина на поверхности наночастиц проведено с использованием подхода, основанного на свойстве белков вступать в

реакции свободнорадикального окисления и образовывать межмолекулярные сшивки в присутствии свободных радикалов.

Обнаружена зависимость устойчивости покрытий из сывороточного альбумина, а также зависимость процессов адсорбции иммуноглобулина G на поверхности МНЧ и кластеризации в системе «иммуноглобулин G + МНЧ» от продолжительности инкубации; соотношения белок/наночастицы; влияния температуры; pH среды; ионной силы и концентрации буфера. Сделаны выводы о предпочтительных условиях получения устойчивых покрытий. Доказано сохранение сывороточным альбумином на поверхности наночастиц способности к связыванию с флуоресцентными красителями-зондами.

Работы выполняются при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Москвы в рамках научного проекта № 15-33-70019 «мол_а_мос» и при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-03-00735.

ВЫДЕЛЕНИЕ И ОЧИСТКА НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОЙ РИБОНУКЛЕАЗЫ *BACILLUS LICHENIFORMIS*

Надырова А.И.¹, Сокурено Ю.В.¹, Ульянова В.В.¹, Ильинская О.Н.¹

¹ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

alsu.nadyrova@yandex.ru

Традиционные методы химиотерапии, применяемые сегодня в борьбе со злокачественными новообразованиями, оказывают негативное воздействие на здоровые клетки человека. В связи с этим идет активный поиск таргетных препаратов, и исследуется такой класс микробных ферментов, как рибонуклеазы (РНКаза). Было показано, что РНКаза могут избирательно воздействовать именно на злокачественные клетки, вызывая их апоптотическую гибель. Дополнительным преимуществом РНКаз бактерий, по сравнению с млекопитающими, является их нечувствительность к действию цитозольного ингибитора, который защищает клетки млекопитающих от воздействия собственных РНКаз.

Нами впервые была выделена и очищена новая секретируемая низкомолекулярная РНКазы *Bacillus licheniformis* (ATCC 14580) семейства T1. Все описанные в литературе методики выделения бациллярных РНКаз являются трудоемкими и не позволяют получить препарат высокого качества, ведь его чистота подтверждалась лишь электрофоретически. Мы же предлагаем трехстадийный метод, в который на первом этапе входит сорбция ненужных отрицательно заряженных белков культуральной жидкости на ДЭАЭ-целлюлозе, уравновешенной 0,01 М Na-ацетатным буфером с pH 5, на втором – сорбция на фосфоцеллюлозе P11, также уравновешенной 0,01 М Na-ацетатным буфером до pH 5. Элюцию проводили 0,2 М Na-фосфатным буфером, выход белка по РНКазной активности после двух этапов составил 75%, степень очистки – 353. Для получения гомогенного препарата белка на третьем этапе использовали высокоэффективную жидкостную хроматографию FPLC (Biologic DuoFlow system) на колонке UnoS6 (BioRad, США), уравновешенной 20 mM Na-ацетатным буфером, pH 5. Для лучшего разделения белковых фракций элюцию проводили в линейном градиенте 0-1 М NaCl. Выход белка по РНКазной активности составил 50%, степень очистки – 2353. Чистота препарата была подтверждена как электрофоретически с помощью ДСН-ПААГ-электрофореза в денатурирующих условиях, так и с использованием масс-спектрометрического анализа, который подтвердил присутствие в растворе исключительно РНКазы *B. licheniformis* (AAU25168.1).

Таким образом, мы получили гомогенный препарат РНКазы *B. Licheniformis* (ATCC 14580), который впоследствии будет протестирован на наличие избирательной цитотоксичности в отношении различных линий опухолевых клеток.

ВЛИЯНИЕ ЭКСПЕРЕМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРИНСУЛИНЕМИИ НА ПРОЦЕСС ОБРАЗОВАНИЯ МОЛЕКУЛ СРЕДНЕЙ МАССЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС

Никольская В.А.¹, Лютослав И.С.¹

¹ФГАОУ ВО Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского, Симферополь, Россия

marach-ira@mail.ru

Общеизвестно, что в зависимости от патологического состояния организма изменяется содержание молекул средней массы и, в какой-то степени, является прогностическим критерием нарушения обменных процессов. В связи с этим, целью данной работы явилось исследование влияния гиперинсулинемии на процесс образования молекул средней массы в сыворотке крови лабораторных крыс.

Лабораторные животные были разделены на следующие группы: контрольная (интактная) группа, группа №1 – лабораторные животные, подверженные однократному воздействию инсулинового шока (1 раз в сутки, 1 сутки); группа №2 – 1 раз в сутки, 2 суток; группа №3 – 1 раз в сутки, 3 суток.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что в сыворотке крови лабораторных крыс групп №1 и №2 уровень молекул средней массы в отличие от интактной группы достоверно понижается в 2-3 раза при всех длинах волн регистрации.

Достоверное снижение молекул средней массы в сыворотке крови лабораторных животных обеих опытных групп при всех длинах волн регистрации по сравнению с контрольной может быть связано с уменьшением триптофансодержащих средномолекулярных олигопептидов или с их агрегацией.

На третьи сутки уровень молекул средней массы в сыворотке крови лабораторных животных повышается в 2 раза по сравнению с опытной группой №2 при $\lambda=275$ нм и $\lambda=280$ нм, а при $\lambda=254$ нм прослеживается тенденция к дальнейшему повышению этого показателя.

Возможно, данные изменения выявляют определенного рода закономерности трансформации белковых биомолекул с дальнейшим появлением олигопептидов при воздействии стрессорного фактора, которым для организма является гиперинсулинемия. Это вписывается в расширение концепции о биорегуляторной роли молекул средней массы в организме при возникновении отклонений вплоть до развития патологии.

Полученные в работе результаты позволяют расширить уже имеющиеся в литературе данные о развитии гиперинсулинемии и могут быть использованы в предиктивной медицине в качестве одного из диагностических критериев в прогнозировании дальнейшего развития изменений при данном состоянии.

ДЕТЕКЦИЯ АНТИТЕЛ, СПЕЦИФИЧНЫХ К ПЕПТИДАМ НУКЛЕОКАПСИДА И ГЛИКОПРОТЕИНОВ ПУУМАЛА ВИРУСА, СОДЕРЖАЩИХСЯ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ, СТРАДАЮЩИХ ЭПИДЕМИЧЕСКОЙ НЕФРОПАТИЕЙ

Гаранина Е.Е.¹, Мартынова Е.В.¹, Иванова В.В.¹, Охезин Е.В.^{1,2}, Шакирова В.Г.², Анохин В.А.³, Морзунов С.П.⁴, Ризванов А. А.¹, Хайбуллина С.Ф.^{1,4}

¹ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия;; ²ГБОУ ДПО Казанская государственная медицинская академия, Казань, Россия; ³ГБОУ ВПО Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия; ⁴Невадский центр биомедицинских исследований, Рено, США

oe-74@mail.ru

Эпидемическая нефропатия (ЭН) – лёгкая форма геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС) – зоонозная природно-очаговая вирусная инфекция, возбудителем которой является вирус Пуумала, (род *Hantavirus*, семейство *Bunyaviridae*). Инфицирование происходит путём вдыхания аэрозоля, контаминированного выделениями грызунов. Республика Татарстан является наиболее подверженным влиянию зоонозов регионом европейской части РФ.

ЭН характеризуется повышенной температурой тела, головной болью, болью в животе. Клинически хантавирусная инфекция характеризуется как динамично развивающаяся с дальнейшей почечной недостаточностью, угрожающей жизни и здоровью пациента.

Наиболее высокой иммуногенностью вируса обладают белки нуклеокапсид (N-белок) и белки гликопротеида (G1 и G2). Было показано, что антитела к каждому из них обнаруживаются на ранней стадии заболевания ЭН. Антитела к белкам циркулируют в течение 6 месяцев в организме, формируя тем самым стойкий гуморальный иммунитет.

Рядом исследователей были выявлены наиболее иммуногенные эпитопы нуклеокапсидного белка и гликопротеинов, индуцирующие продукцию большинства противовирусных антител. Пептиды, содержащие в себе эти эпитопы, могут использоваться в исследованиях, направленных на изучение механизмов формирования противовирусной защиты.

Было проанализировано 10 образцов сыворотки крови пациентов, страдающих ЭН. Диагноз был поставлен на основании клинко-лабораторных данных и серологических исследований. В качестве контроля выступали образцы 10 здоровых людей, не имеющих в анамнезе почечных патологий.

Выявление антител осуществлялось методом иммуноферментного анализа с использованием в качестве антигена пептидную библиотеку вируса Пуумала (n=154) в расчёте 1 мкг на лунку 384-луночного планшета. Пептидная библиотека представлена 16 аминокислотными пептидами с областью перекрытия 5 аминокислот. Scramble пептид использовался в качестве отрицательного контроля. ИФА проводили по стандартным протоколам. Статистическую обработку данных осуществляли с помощью программного обеспечения Minitab, различия между медианами сравниваемых групп были посчитаны с использованием критерия Манна-Уитни и считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

В результате мы обнаружили 11 наиболее иммуногенных эпитопов вируса, расположенных на С-конце N белка (а. о. 351-405) и впервые идентифицированных в нашем исследовании у Пуумала вируса G2 гликопротеина (а. о. 1021-1085).

Таким образом, полученные нами данные о наиболее иммуногенных эпитопах белков вириона, в перспективе могут быть использованы в разработке эффективной противовирусной вакцины.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ГИПЕРГЛИКЕМИИ *IN VITRO*

Пестрякова А.А.¹, Грунюшкин И.П.², Кленова Н.А.¹, Ревин В.В.², Садыхова А.В.¹, Сюсин И.В.²

¹ФГАОУ ВО Самарский национальный исследовательский университет им. акад. С.П.Королева, Самара, Россия; ²ФГБОУ ВПО Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П.

Огарёва, Саранск, Россия

anpestryakova@yandex.ru

Различные физиологические и патологические состояния сопровождаются увеличением содержания глюкозы в плазме крови. Рост уровня глюкозы ускоряет вероятность протекания реакций неферментативного гликозилирования белков, что ведет к дестабилизации мембраны (изменение асимметрии мембранных фосфолипидов (ФЛ), изменяет вязкоэластические свойства клеток и их форму. Все это может сопровождаться изменениями ФЛ бислоя, морфологии клеток и приводить к снижению кислородтранспортной функции эритроцитов (Ег) и уменьшению времени их жизни.

Целью данного исследования стало изучение действия гипергликемии (ГГ) различной степени на ФЛ состав и морфологическое состояние Ег человека.

Исследования проводили на фракции чистых Ег, полученных из свежесобранной с антикоагулянтом донорской крови. Средний возраст доноров составил 28,4±1,7 лет. Инкубацию отмытых Ег проводили в растворе Рингера-Локка в соотношении 2:1 при 37°C в течение 30 минут. Используемый раствор Рингера-Локка различался содержанием глюкозы (нормогликемия (НГ) – 5 мМ/л глюкозы; ГГ – 10; 15 и 20 мМ/л глюкозы). Для сохранения осмолярности увеличение содержания глюкозы компенсировали эквимоллярным снижением концентрации NaCl. Структуру эритроцитов анализировали методом лазерной интерференционной микроскопии (ЛИМ) в условиях *in vitro* на приборе МИИ-4м (Россия), регистрируя среднюю величину оптической разности хода (ОРХ), площадь фазового изображения. Количество фракций ФЛ в мембранах Ег определяли на денситометре TCL Scanner 3 (Gatag, Швейцария) в режиме поглощения при длине волны 360 нм с использованием дейтериевой лампы и программным обеспечением winCATS.

На уровне ГГ 15 и 20 мМ/л наблюдается увеличение в мембране Ег лизофосфатидилхолина (ЛФХ) на 34 и 64% соответственно, содержание фосфатидилхолина (ФХ) достоверно снижается уже при росте ГГ до 10 мМ/л (на 57%). Также фиксируется уменьшение сфингомиелина (СМ), фракции фосфатидилинозит + фосфатидилсерин (ФИ + ФС). На уровне сильной ГГ (20 мМ/л) происходит нарастание ЛФХ и уменьшение отношения ФЭА/ФХ, что ведет к снижению микровязкости мембран и последующей сферизации Ег.

При увеличении содержания глюкозы в инкубационной среде наблюдается накопление в популяции клеток эхиноцитов, на профиле клеток четко становятся видны выросты на поверхности Ег. Наиболее набухшими выглядят Ег в условиях ГГ 15 мМ/л. При 20 мМ/л глюкозы клетка немного сжимается относительно предыдущего, однако отмечается достоверный рост площади, фазовой высоты и толщины Ег. Подобные изменения в условиях ГГ 15-20 мМ/л характеризуют увеличение вероятности гемолитического разрушения Ег.

БТШ70 СНИЖАЕТ ПРОДУКЦИЮ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА КЛЕТКАМИ МИКРОГЛИИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ РАЗНОЙ СТРУКТУРЫ

Погодина Е. И.^{1,2}, Юринская М. М.², Винокуров М. Г.^{1,2}

¹ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия; ²ФГБУН

Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия

pogodinakatya@yandex.ru

В нейродегенеративных процессах важную роль играет воспаление. Ключевую роль в нейровоспалении играют фагоциты центральной нервной системы (ЦНС) – клетки микроглии. Их активация приводит к повреждению и гибели нейронов ЦНС. При различных патологических процессах (сепсис, травмы) происходит нарушение целостности гематоэнцефалического барьера, что приводит к поступлению в ткани ЦНС различных соединений, активирующих клетки микроглии (липополисахариды (ЛПС), цитокины и другие медиаторы воспаления).

ЛПС является основным компонентом грамотрицательных бактерий человека и сильным индуктором воспалительных процессов в организме человека. Клеточный ответ на ЛПС включает увеличение продукции активных форм кислорода (АФК) и цитокинов. Структура ЛПС включает три основных части: О-специфический антиген, центральный олигосахарид (кор) и липид А. При изменении длины кора в бактериальных клетках могут синтезироваться ЛПС разной длины (хемотипы ЛПС).

При воспалительных заболеваниях и действии ЛПС увеличивается экспрессия белка теплового шока БТШ70. БТШ70 играет важную роль в механизмах защиты организма от теплового и других видов стресса. Целью данной работы являлось изучение влияния БТШ70 на продукцию АФК клетками микроглии при действии разных хемотипов ЛПС *E.coli* (Re, Rd, Rc и Ra).

Работа выполнена на клетках микроглии человека А-172. Использовали рекомбинантный человеческий БТШ70. Клетки А-172 выращивали в культуральной среде (КС) RPMI 1640 с 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС), 2 mM L-глутамина, 1% стрептомицина, 100 ед. пенициллина при 37°C и 5% CO₂. Клетки рассеивали в 24-луночные планшеты по 300 тыс. клеток на лунку в 1 мл КС с 5% ЭТС. К клеткам добавляли 2 мкг/мл БТШ70, инкубировали 30 минут при 37°C, затем в пробы, где необходимо добавляли хемотипы ЛПС (1 мкг/мл) и культивировали 24 часа при 37°C и 5% CO₂.

Образование АФК в клетках определяли с использованием нитросинего тетразолия (НСТ). По окончании культивирования к клеткам на 2 ч при 37°C и 5% CO₂ добавляли раствор 0,1% НСТ. Затем клетки 2 раза отмывали PBS, фиксировали этанолом и сушили. Внутриклеточный формазан растворяли в 2 М КОН и DMSO, оптическую плотность полученного раствора измеряли при длине волны 620 нм на планшетном ридере «Униплан» (Россия).

В результате проведения данной работы установлено, что БТШ70 снижает продукцию АФК клетками микроглии, индуцированную действием всех хемотипов ЛПС. Защитное действие БТШ70 максимально для Ra- и Re-хемотипов ЛПС. Эффективность защиты клеток микроглии белком БТШ70 от действия Rc- и Rd-хемотипов ЛПС менее выражена.

АКТИВНОСТЬ КЛЮЧЕВЫХ ФЕРМЕНТОВ ЦИКЛА ТРИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ И ГЛИОКСИЛАТНОГО ПУТИ В БАКТЕРИЯХ *SPHAEROTILUS NATANS* ШТАММ Д-507 И Д-380 ПРИ РАЗНЫХ ТИПАХ ПИТАНИЯ

Селиванова Н.В.¹, Ахмед А.Х.А.¹, Орлова М.В.¹, Климова С.Е.¹, Епринцев А.Т.¹

¹ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия
bc366@bio.vsu.ru

Изучение механизмов регуляции метаболических процессов, осуществляемых в живых организмах, является важнейшим направлением биохимии. В нашей работе в качестве объекта исследования использовали бактерии *Sphaerotilus natans* штамма Д-507, которые в зависимости от источника углерода обладали органотрофным или миксотрофным типом питания, и штамма Д-380, способного только к органотрофному росту. Целью исследования явилось сравнение уровней активности ключевых ферментов цикла Кребса и глиоксилатного пути в бактериях *S. natans* штамм Д-507 и д-380 при разных типах питания.

Функционирование сукцинатдегидрогеназы и фумаратгидратазы мало зависело от типа питания. Следует отметить, что данные ферменты считаются маркерными, то есть функционирующими исключительно в цикле трикарбонных кислот (ЦТК). Поэтому высокие значения активности этих энзимов могут свидетельствовать об интенсивном функционировании цикла Кребса у всех объектов. Активность маркерных ферментов глиоксилатного пути изоцитратлиазы и малатсинтазы в несколько раз меньше у *S. natans* при органотрофном росте по сравнению с миксотрофным типом питания. Анализ полученных результатов может свидетельствовать о функционировании глиоксилатного цикла в исследуемых бактериях при миксотрофном питании.

Таким образом, у бактерий *Sphaerotilus natans* выявлен профиль активности маркерных и общих ферментов ЦТК и глиоксилатного цикла при разных типах питания. Анализ полученных данных свидетельствует о переключении метаболических потоков при миксотрофном росте у штамма Д-507. При миксотрофном росте в клетках этих бактерий функционирует глиоксилатный шунт и ЦТК. При органотрофном типе питания у штаммов Д-507 и Д-380 функционировал только цикл Кребса.

ДВУХДОМЕННАЯ ЛАККАЗА ИЗ БАКТЕРИИ *STREPTOMYCES ANULATUS* AC-728: ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ФЕРМЕНТА

Трубицина Л.И.¹, Трубицин И.В.¹, Лисов А.В.¹, Леонтьевский А.А.¹

¹ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино, Россия
lyubov_yurevich@mail.ru

Лакказы, относящиеся к семейству голубых медьсодержащих белков, принято подразделять на двух- и трёхдоменные ферменты. Трёхдоменные (3д) лакказы распространены у грибов, бактерий, растений, насекомых, и достаточно хорошо изучены. Двухдоменные (2д) лакказы встречаются только у бактерий. На данный момент исследовано только девять ферментов из группы 2д лакказ. 3д лакказы активно используются в практических целях (текстильная, пищевая, целлюлозно-бумажная промышленность). Исследование новых 2д лакказ расширит представление о ферментах данной группы, а также позволит выявить их биотехнологический потенциал. Цель данной работы – характеристика двухдоменной лакказы, не исследованной ранее.

В геноме бактерии *Streptomyces anulatus* Ac-728 был идентифицирован ген 2д лакказы. Ген лакказы был клонирован без последовательности сигнального пептида (без первых 35 аминокислот) в вектор pQE-30 по

СЕКЦИЯ «БИОХИМИЯ»

сайтам эндонуклеаз рестрикции BamHI и HindIII. Для экспрессии фермента в культуру *E.coli* M15 (pRep4), трансформированную плазмидами со вставкой, вносили индуктор 0,1 мМ ИПТГ, а также 0,25 мМ CuSO₄. Клетки культивировали в микроаэробных условиях 18 ч. Индуцированный белок накапливался внутриклеточно и был детектирован в цитоплазматической фракции. Очистку лакказы проводили в две стадии: 1) аффинная хроматография (колонка HisTrapTMFF с Ni-сефарозой); 2) гель-фильтрация (колонка HiLoad 26/60 Superdex 200). Лакказа была получена в электрофоретически гомогенном состоянии. Молекулярная масса фермента, согласно данным электрофореза в денатурирующих условиях, составила 39 кДа, что хорошо согласуется с теоретически рассчитанной величиной (35,6 кДа). Спектр поглощения лакказы имел пик при 590 нм, а также плечо при 330 нм, что является характерной чертой всех 2д лакказ. Фермент окислял типовой субстрат лакказ АБТС при pH 4,0. Был более стабилен при значениях pH 5-11 (после 3 ч инкубирования сохранял более 80% начальной активности). Температурный оптимум лакказы составил 75°C. Остаточная активность фермента после часа инкубирования при 70°C, 80°C и 90°C составила 50%, 40% и 15%, соответственно.

Таким образом, полученная нами и исследованная 2д лакказа представляет собой термостабильный фермент, стабильный при кислых-щелочных значениях pH. Дальнейшая характеристика лакказы позволит выявить возможность использования фермента в практических целях.

РЕГУЛЯЦИЯ МРТР НУКЛЕОТИДАМИ СО СТОРОНЫ ЦИТОЗОЛЯ

Харечкина Е.С.¹, Никифорова А.Б.¹, Теплова В.В.¹, Круглов А.Г.¹

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия

katya.kypri@gmail.com

Считается, что регуляция неспецифической Ca²⁺-зависимой митохондриальной поры (mPTP) осуществляется двухвалентными катионами, фосфатом, АФК, циклофелином D, а также нуклеотидами (NAD(P)H, АТР и АДФ), действующими на мишени со стороны матрикса. Роль NAD(P)H состоит в поддержании убихинона и критических тиолов в восстановленном состоянии. АТР и АДФ стабилизируют транслокатор адениновых нуклеотидов (ANT) в "m"-конформации, подавляя mPTP. Однако в научной литературе данные о способности нуклеотидов подавлять mPTP скудны и противоречивы.

Нами было исследовано влияние различных форм нуклеотидов (beta-NADH, alpha-NADH, NAD, NADP, АТР, АДФ) на параметры, отражающие индукцию mPTP: величину максимальной кальциевой емкости и набухание митохондрий печени крыс. Было обнаружено, что наиболее эффективно подавляли mPTP нуклеотиды, транспортируемые в матрикс с помощью ANT - АТР и АДФ, а также beta-NADH и NAD, не способные проникать в матрикс. Остальные нуклеотиды оказались не эффективными.

Для выяснения природы регуляторного нуклеотидсвязывающего сайта мы исследовали влияние ингибиторов ANT карбоксиатрактилозида (CATR) и бонгкрековой кислоты (БКА) на подавление mPTP нуклеотидами, которые переносятся и не транспортируются транслоказой.

Было обнаружено, что CATR не полностью подавлял защитный эффект нуклеотидов. Максимальное подавление достигается при 250 нМ и дальнейшее увеличение концентрации CATR не приводит к ускорению набухания митохондрий. Будучи бесконкурентным ингибитором, CATR взаимодействует с ANT-АДФ(АТР) комплексом в нМ-концентрациях. Неспособность ингибитора подавить защитный эффект нуклеотидов свидетельствует о наличии нуклеотидсвязывающего сайта другой природы. В пользу этого также говорит обнаруженное потенцирование защитного эффекта нуклеотидов ионами Mg²⁺ и средой с низкой ионной силой. В качестве нуклеотидсвязывающего регулятора mPTP, способного связывать нуклеотиды и двухвалентные катионы, может выступать VDAC1 и SCA_{MC}. На данный момент нами не получено неоспоримых доказательств этому предположению. Поэтому, молекулярная природа внешнего нуклеотид-связывающего регулятора mPTP требует дальнейшего изучения.

Работа поддержана грантом Министерства образования и науки РФ (проект №14.Z50.31.0028) и грантом РФФИ № 16-34-01158 мол_а.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В ГОМОГЕНАТАХ ТКАНЕЙ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ГЛУБОКОЙ ГИПОТЕРМИИ

Хизриева С. И.¹, Гамадаева З. М.¹

¹ ФГБОУ ВО Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

saimat140992@yandex.ru

Глубокая гипотермия широко применяется в практической медицине при ишемии мозга, инсульте, остановке сердца, гипоксии, однако является опасным для жизни организма состоянием. Механизмы, ведущие к патофизиологическому состоянию при глубокой гипотермии многообразны и до сих пор не вполне ясны. Возможно, влияние глубокой гипотермии основано на нарушении целостности мембран митохондрий и

функционировании ЭТЦ. Целью исследования является изучение влияния глубокой гипотермии (температура тела 19-20°C) на энергетику митохондрий гомогенатов печени крыс. Гипотермию вызывали в холодильной камере, в рубашке циркулировала вода с температурой 4-5°C. Температуру тела снижали до 19-20°C в течение 60 минут. Исследование дыхания гомогенатов печени крыс проводилось полярографическим методом. Глубокая гипотермия стимулирует дыхание гомогенатов печени крыс на эндогенных субстратах (V_1) на 68% по сравнению с контролем, что является характерной реакцией на снижение температуры тела. Скорость на экзогенном субстрате сукцинате (V_2) возросла на 88% по сравнению с контролем. Активное дыхание после введения АДФ (V_3) статистически достоверно не изменяется по сравнению с контролем. Скорость нефосфорилирующего дыхания (V_4) увеличилась на 130% по сравнению с контролем и достоверно выше, чем скорость V_2 . Скорость дыхания в разобленном состоянии увеличилась на 89% по отношению к контролю, при этом статистически не отличается от скорости V_3 . Скорость фосфорилирования примерно такая же, как в контроле, отношение Р/О снижено. Таким образом, незначительные изменения коснулись V_2 и V_4 . Их возрастание означает, что утечка протонов через внутреннюю митохондриальную мембрану возрастает. Скорости V_2 и V_4 значительно увеличиваются, что следует рассматривать как адаптацию, направленную на компенсацию снижения температуры ткани, поскольку даже в условиях сниженной продукции АТФ достаточное количество тепла может вырабатываться за счет утечки протонов через внутреннюю мембрану митохондрий. Отношение V_3/V_5 при глубокой гипотермии составляет 1,04, что говорит об отсутствии ингибирования оксалоацетатом. Снижение Р/О можно объяснить действием разобщающих факторов, таких как рост концентраций свободных жирных кислот и продуктов перекисного окисления. Таким образом, увеличение протонной утечки при глубокой гипотермии может привести к увеличению энергетических затрат на поддержание для синтеза АТФ протондвижущей силы на внутренней мембране митохондрий.

ВЛИЯНИЕ УМЕРЕННОЙ ГИПОТЕРМИИ НА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ И МОРФОЛОГИЮ ЭРИТРОЦИТОВ КРЫС

Чалабов Ш.И.¹, Шихмирова З.М.¹

¹ФГБОУ ВО Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

biowulf05@gmail.com

Исследования, выполненные в нашей лаборатории, выявили ускорение внутрисосудистого гемолиза эритроцитов крыс при снижении температуры тела до 30°C (умеренная гипотермия). Одной из возможных причин этого явления может быть окислительные повреждения белков и липидов мембран, приводящие к снижению деформируемости эритроцитов. В данной работе нами исследована зависимость интенсивности свободнорадикальных процессов в эритроцитах и их морфологические характеристики при гипотермии 30°C. Температуру тела крыс снижали в течение 30 мин наружным охлаждением. Об интенсивности окислительного стресса в эритроцитах судили по концентрации продуктов реакции активных форм кислорода с мембранными белками (карбонильные группы) и липидами (малоновый диальдегид). Гипотермия повышает степень перекисного окисления липидов эритроцитов на 24,3%. При гипотермии окислительная модификация белков мембран эритроцитов возрастает в большей степени. Так, сразу после снижения температуры тела содержание карбонильных групп в белках мембран возрастает в два раза по отношению к контролю. При этом существенно увеличивается (на 77,1%) также подверженность белков к окислению в среде Фентона *in vitro*. В эритроцитах при гипотермии имеется тенденция к снижению уровня восстановленного глутатиона и активности каталазы, но достоверно возрастает активность супероксиддисмутазы. В целом, полученные результаты свидетельствуют о развитии окислительного стресса в эритроцитах при умеренной гипотермии. Методом атомно-силовой микроскопии было изучено количественное содержание различных форм эритроцитов в периферической крови крыс. После кратковременной гипотермии количество дискоцитов в крови резко снижается, но увеличивается доля плоских клеток. При этом около 1/5 всех эритроцитов переходят в форму эхиноцита. Кроме того в крови снижается количество нормоцитов и увеличивается количество микроцитов. Анализ топографии поверхности эритроцитов (дискоцитов и плоских клеток) при гипотермии выявил точечные повреждения – воронкообразные отверстия в мембране. Наличие корреляции между степенью окислительного повреждения белков мембран эритроцитов и изменением форм клеток указывает на роль окислительного стресса во внутрисосудистом гемолизе эритроцитов при гипотермии.

ВЕРОЯТНАЯ РОЛЬ ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В ФОРМИРОВАНИИ ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ЛЫЖНИКОВ-ГОНЩИКОВ

Чалышева А.А.^{1,2}, Людинина А.Ю.², Кеткина О.А.²

¹ФГБОУ ВО Сыктывкарский государственный университет имени Питирима Сорокина, Сыктывкар, Россия;

²ФГБУН Институт физиологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

acha12011@yandex.ru

Высокоинтенсивные физические нагрузки в спорте высших достижений оказывают существенное влияние на функциональное состояние и работоспособность спортсменов. Важным аспектом формирования адаптивных реакций в ответ на физическую и психоэмоциональную нагрузку является психофизиологический статус спортсмена, отражающий текущее функциональное состояние его нервной системы. Функциональное состояние обеспечивается сложным механизмом нейроэндокринной регуляции. В частности, установлена важная роль некоторых жирных кислот (ЖК) в реализации функциональной деятельности мозга. Этим обусловлена интенсивная разработка различных биологически активных добавок (БАД), содержащих определенный комплекс ЖК, и широкое их применение при подготовке спортсменов. Таким образом, обуславливается необходимость изучения роли ЖК в поддержании нормального функционального состояния спортсменов и перспектива для дальнейшего практического применения полученных данных.

Обследованы 20 лыжников-гонщиков в возрасте от 17 до 29 лет (КМС, МС). Методом простой зрительно-моторной реакции (ПЗМР) оценивалось среднее время ответной реакции (ВР) на группу зрительных стимулов. Оценка общего функционального состояния нервной системы производилась по 3 критериям: показателю функционального уровня системы (ФУС), показателю устойчивости реакции (УР) и показателю уровня функциональных возможностей (УФВ). Уровень n-3 ПНЖК в общих липидах плазмы крови определяли газохроматографически.

Средний уровень ВР составил $222,1 \pm 27,6$ мс, что свидетельствует об общей инертности нервных процессов, характерной для лыжников. Были получены корреляции между психофизиологическими показателями спортсменов и уровнем дакозагексаеновой (ДГК), эйкозапентаеновой (ЭПК) и альфа-линоленовой (АЛК) кислотами в организме обследуемых. Полученные значения в среднем оказались ниже референсных, что может объясняться недостаточным потреблением эссенциальных кислот с пищей. Показано, что более низкий уровень содержания ЖК в плазме крови значимо сопряжен с низкими показателями общего функционального состояния нервной системы обследуемых. Примечательно, что уровень АЛК в плазме крови коррелирует со всеми исследуемыми показателями (ФУС: $r_s=0,601$; $p<0,01$; УР: $r_s=0,606$; $p<0,01$; УФВ: $r_s=0,631$; $p<0,01$), в то время как уровень ДГК коррелирует с УР ($r_s=0,484$; $p<0,01$) и УФВ ($r_s=0,472$). В случае же ЭПК обнаружена взаимосвязь лишь с ФУС ($r_s=0,527$; $p<0,01$). Предположительно, это объясняется различным функциональным воздействием исследуемых ЖК на определенные структуры центральной нервной системы.

Полученные данные позволяют сделать предположение о том, что ЖК положительно влияют на общее функциональное состояние нервной системы, повышая тем самым адаптивные возможности организма, что обуславливает целесообразность применения омега-3 БАД в спорте высоких достижений.

ВЛИЯНИЕ НАТИВНОЙ И ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННОЙ СОИ НА КОЛИЧЕСТВО ПРИПЛОДА И СМЕРНОСТЬ ПЕРВОГО ПОТОМСТВА КРЫС

Черная И.В.¹, Дроник Г.В.¹

¹Национальный технический университет Харьковский политехнический институт, Харьков, Украина

chorna86@list.ru

Проблема производства генетически модифицированных культур в наше время является одной из самых актуальных и сложных для решения. В разных странах по-разному относятся к выращиванию генетически модифицированных организмов (ГМО) и производству продуктов, содержащих трансгенные организмы.

Существует много рисков для организма при употреблении генетически модифицированных продуктов: онкологические заболевания, аллергические реакции, влияние на иммунную систему, повышенная токсичность, перенос генов в микроорганизмы кишечника, стерильность, нарушения развития и повышения смертности в последующих поколениях.

Среди всех генетически модифицированных культур наиболее востребована культура - соя, она характеризуется высоким содержанием белка, в котором имеются все незаменимые аминокислоты. В среднем в семенах различных сортов этой культуры количества белка может составлять 38- 42%, также соя содержит углеводы, полиненасыщенные жирные кислоты, витамины, микро- и макроэлементы, количество органических и неорганических веществ в нативных и ГМ сортах не отличается.

Поэтому целью наших исследований было изучить влияние скормливания нативной и генетически модифицированной сои на количества приплода и смертность первого потомства крыс.

Для этого было создано три группы: I - группа контрольная, которая употребляла стандартный рацион, II и III - группы употребляли натуральную и генетически модифицированную сою. Количество приплода в контрольной группе колебалось в пределах физиологической нормы, и среди новорожденных не было обнаружено мертвых крыс. Однако смертность крысят от самок II и III опытных групп составила 13,1 и 19,8%, соответственно. В исследуемых группах смерть крысят наступала в первые 5 суток жизни, что говорит о нарушении эмбрионального и постнатального развития.

При рождении взвешивание крысят контрольной группы не показало достоверных межгрупповых различий по показателям живой массы. Однако взвешивание II и III опытных групп показало разницу от контрольной группы - 1,5 и 3,5% соответственно. В частности, масса крыс II группы в этот период была выше массы животных I группы на 10,8 %, а III - на 6,2%. Эти изменения свидетельствуют о непосредственном, но положительном влиянии компонентов сои на интенсивность роста приплода, потому что взвешивание производилось на втором месяце развития крысят, когда крысята уже самостоятельно питаются. Такие данные свидетельствуют о незначительном негативном влиянии ГМ- сои и натуральной сои на показатели смертности крысят.

РЕГУЛЯЦИЯ СИГНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК НЕЙРОМЕДИАТОРАМИ

Чечехин В.И.¹, Иванова А.М.¹, Тюрин-Кузьмин П.А.¹

¹ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия
v-chech@mail.ru

Мезенхимные стромальные клетки (МСК) входят в состав соединительной ткани, играя важную роль в процессах её регенерации и поддержании гомеостаза. МСК способны дифференцироваться в остеобласты, хондробласты и адипоциты. МСК управляют регенерацией ткани, секретируя паракринные факторы (например, цитокины и факторы роста). Функциональная активность МСК регулируется множеством гормонов и нейромедиаторов. Норадреналин, являющийся гормоном надпочечников и нейромедиатором симпатической нервной системы, регулирует как секреторную активность, так и дифференцировку МСК. Как было показано ранее, в МСК экспрессируются все основные изоформы адренорецепторов, однако, большинство из них не сопряжено с системой внутриклеточной сигнализации. При стимуляции МСК норадреналином активируется сигнальный путь β -адренорецепторы/Gs-белок/аденилатциклаза/цАМФ, что приводит к ранзиторному повышению уровня экспрессии альфа1А-адренергических рецепторов и их сопряжение с кальций-зависимыми путями передачи внутриклеточного сигнала. Как результат, через 6 часов после стимуляции МСК норадреналином наблюдается повышение чувствительности клеток к этому гормону.

В данной работе мы изучали, способность других стимулирующих аденилатциклазу нейромедиаторов, кроме норадреналина, изменять чувствительность МСК к катехоламинам. Путем анализа сигнальных путей, активируемых основными нейромедиаторами, мы выбрали следующие рецепторы, активирующие аденилатциклазу: дофамина DRD1, DRD5, гистамина HRH2, серотонина HTR4, HTR6, HTR7, аденозина A2b, A2a. Методом ПЦР мы установили, что в МСК экспрессируются мРНК рецепторов DRD1, DRD5, HRH2, HTR6, HTR7, A2a, A2b. Функциональную активность этих рецепторов мы проверили путем стимуляции рецепторов соответствующими агонистами и последующей регистрации изменения внутриклеточного уровня кальция при помощи красителя Fluo8. Для проверки влияния выбранных нейромедиаторов на функциональную активность МСК мы стимулировали ими клетки и через 6 часов анализировали их чувствительность к норадреналину.

Мы установили, что серотонин, дофамин и норадреналин повышают чувствительность МСК к норадреналину, а гистамин и аденозин - не изменяют. Таким образом, функциональная активность мезенхимных стромальных клеток регулируется нейромедиаторами: норадреналином, серотином и дофамином.

ИЗУЧЕНИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ДЕРМАТОТРОПНЫХ ЭФФЕКТОВ ЭКСТРАКТА КЛЕТОК ИРИСА И ЛАКТОФЕРРИНА В МОДЕЛИ ИНДУЦИРОВАННОГО КОНТАКТНОГО ДЕРМАТИТА

Чумаченко М.С.

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь
Chumachenkomaria19@gmail.com

Аллергический контактный дерматит (АКД) – широко распространенное заболевание, причиной которого зачастую являются соединения, используемые в быту. Дерматиты существенно снижают качество жизни человека, поэтому проблема их своевременной и адекватной диагностики и лечения в настоящее время приобрела особую медицинскую и социальную значимость. Поскольку в развитии АКД ведущую роль играет развитие воспалительной реакции и генерация активных форм кислорода, то можно предположить, что потенциально дерматотропный эффект может быть достигнут при воздействии на пораженные участки кожи веществами, обладающими антиоксидантным и противовоспалительным действием, а так же комбинацией таких веществ. Нами были выбраны такие биологически активные соединения, как флавоноиды, содержащиеся в экстракте культуры клеток ириса болотного и лактоферрин. Вышеуказанные соединения характеризуются широко известными антиоксидантными и противовоспалительными свойствами, а так же имеют природное происхождение, что в значительной степени снижает количество побочных эффектов по сравнению с синтетическими аналогами.

Исследование было выполнено на белых крысах-самцах массой 200-250 г. Аллергический контактный дерматит был индуцирован АСТOCIDE MV 14 в дозе 10 мг/кг. Лактоферрин и экстракт культуры клеток Ириса наносился в дозе 45 мг/кг и 0,1 мг/кг соответственно.

Показано, что уровень общей антиоксидантной активности плазмы значительно падает у животных с АКД, однако под действием лактоферрина и экстракта ириса вновь приходил в норму. Было показано, что лактоферрин и церулоплазмин образуют комплексы, устойчивые при физиологических условиях, при этом предполагается, что лактоферрин должен стимулировать ферроксидазную активность церулоплазмينا.

В группах с острым и подострым дерматитом уровень церулоплазмينا повышается на 50% и 40% соответственно. В результате проведенных экспериментов были получены данные, которые свидетельствуют о резком снижении измеряемых нами показателей антиоксидантной системы защиты организма в модели острого аллергического контактного дерматита. В то же время в фазе подострого АКД наблюдалось постепенное восстановление этих показателей. При этом действие мазевых основ, содержащих полифенолы из культуры клеток ириса и лактоферрин, могут рассматриваться как перспективные соединения для регуляции антиоксидантного статуса организма.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ АДДУКТОВ МЕМБРАНСВЯЗАННОЙ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ ЭРИТРОЦИТОВ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА С ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИМИ СОЕДИНЕНИЯМИ МЕТОДАМИ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ И ИММУНОПРЕЦИПИТАЦИИ

Чуприна О.И.¹, Дубровский Я.А.¹, Бабаков В.Н.¹, Бельтюков П.П.¹

¹ФГУП Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека ФМБА России,
Санкт-Петербург, Россия
olya-chuprina@yandex.ru

Установление факта экспозиции фосфорорганическими соединениями (ФОС) является важной задачей в случае возникновения техногенных катастроф или нарушении техники безопасности на предприятиях по производству пестицидов. Большая вариабельность активности холинэстераз, связанная с генетическим полиморфизмом гена АСНЕ не позволяет определять субклинические дозы воздействия ксенобиотика. Одним из возможных альтернативных вариантов определения степени воздействия является иммунопреципитация с последующим масс-спектрометрическим анализом (МС) основной мишени воздействия ФОС – ацетилхолинэстеразы (АХЭ).

В работе представлена методика выявления пептидов, содержащих ковалентные аддукты с ФОС на примере О-изобутил-S-(2-диэтиламиноэтил)метилтиофосфоната.

Для получения модифицированного пептида цельную донорскую кровь инкубировали с раствором ФОС с диапазоном конечных концентраций от 10 до 50 нг/мл. После этого, для отделения клеточной фракции цельную кровь помещали в эппендорф и центрифугировали 10 мин при 1500 g. Супернатант удаляли, осадок промывали физиологическим раствором. После этого производили лизис эритроцитов путем добавления одного объема холодной воды. Лизат перемешивали, после чего центрифугировали 60 мин при 60 000 g. Супернатант удаляли, а осадок промывали холодной деионизированной водой. Для разрушения мембран эритроцитов и

солюбилизации АХЭ осадок перерастворяли в Трис-НСl (рН 7,4, 10 мМ), содержащем 1% CHAPS и центрифугировали 60 мин при 60 000g. Аффинную хроматографию ацетилхолинэстеразы производили с использованием иммобилизированных на магнитных микросферах (Dynabeads M-270 Epoxy) моноклональных антител мыши (Anti-Acetylcholinesterase antibody [HR2], Abcam, UK). Ферментативный гидролиз проводили в присутствии пепсина в течение двух часов при температуре 50 °С.

Анализ гидролизата проводили с использованием ВЭЖХ-МС-МС (хроматограф 1290 Infinity, Agilent Technologies, ионная ловушка AmaZon ETD, Bruker Daltonics, колонка C18 Chromolith Performance, Merck).

Были обнаружены сигналы, соответствующие модифицированным (930,4→778,4; 673,3; 602,3; время удерживания 7,6 мин) и немодифицированным (MRM-переход 796,3→778,4; 673,3; 602,3; время удерживания 3,8 мин) нанопептидам FGESAGAAS, содержащим серин активного центра АХЭ.

Выявленный аддукт практически не подвергается спонтанному деалкилированию или «старению», которое характерно для других видов ФОС, аддукт с остатком метилфосфоновой кислоты не был идентифицирован.

В результате проделанной работы была показана принципиальная возможность применения данного метода для выделения и идентификации аддуктов АХЭ с ФОС.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ САЙТОВ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ МОДИФИКАЦИЙ ФИБРИНОГЕНА МЕТОДОМ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

Юрина Л.В.¹, Васильева А.Д.¹, Бычкова А.В.¹, Бугрова А.Е.¹, Индейкина М.И.¹, Кононихин А.С.^{1,2,3}, Николаев Е.Н.^{1,2,3}, Розенфельд М.А.¹

¹ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия; ²ФГБУН Институт энергетических проблем химической физики имени В.Л. Тальрозе РАН, Москва; ³ФГАОУ ВО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Московская область, Россия
mourimotonari91@gmail.com

Белки являются основными мишенями для активных форм кислорода (АФК) из-за своей высокой чувствительности к свободным радикалам, распространенности в биологических материалах и вовлеченности в большинство процессов в клетке. Среди белков плазмы крови фибриноген проявляет наибольшую чувствительность к воздействию свободных радикалов. Окисление фибриногена вызывает изменение структуры фибринового геля и приводит к образованию сгустка с аномальной структурой и свойствами.

Было проведено исследование влияния индуцированного свободнорадикального окисления на структуру фибриногена методом масс-спектрометрии. При анализе результатов наблюдается более низкая степень окисления γ цепи фибриногена по сравнению с α и β цепями. Обнаружены многочисленные окислительные сайты, главным образом, отвечающие за ингибирование латеральной агрегации протофибрилл. В окислительную модификацию не вовлекаются центры самосборки, ответственные за взаимодействия knob 'A': hole 'a'.

При рассмотрении данных об окислении структурных элементов молекулы фибриногена наибольшая глубина окисления аминокислотных остатков наблюдается в αС-коннекторе, а наибольший процент окисленных аминокислот приходится на D область молекулы. Важно отметить, что наиболее глубоко окисленный структурный элемент, αС-коннектор, имеет наименьшую площадь покрытия, что вероятно может быть вызвано нарушением структуры молекулы в связи с ее сильным окислением. Среди аминокислотных остатков в фибриногене, наибольшую чувствительность к окислению проявил метионин, а также остатки триптофана, гистидина, тирозина, пролина и лизина (аминокислотные остатки расположены в порядке уменьшения их чувствительности). Этот ряд верен как с точки зрения числа вовлеченных в окисление аминокислотных остатков, так и с точки зрения глубины их окисления.

Сделано предположение о том, что ряд легко окисляемых аминокислотных остатков, входящих в структуру фибриногена, могут выполнять антиоксидантную функцию, перехватывая молекулы АФК и защищая тем самым от окислительного повреждения другие ключевые в функциональном отношении аминокислотные остатки белка. αС область, вероятно, является структурой, экранирующей функционально важные части молекулы от воздействия активных форм кислорода.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-34-60244 мол_а_дк. Масс-спектрометрические данные получены при поддержке гранта Российского Научного фонда, № 16-14-00181.

СЕКЦИЯ «ПОЧВОВЕДЕНИЕ И АГРОЭКОЛОГИЯ»

МОНИТОРИНГ ГЕОКРИОГЕННОГО СОСТОЯНИЯ ПОЧВ И ГРУНТОВ СЕВЕРА БОЛЬШЕЗЕМЕЛЬСКОЙ ТУНДРЫ В РАЙОНЕ РАЗРАБОТКИ МЕСТОРОЖДЕНИЙ УГЛЕВОДОРОДНОГО СЫРЬЯ

Андреева О.А.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова
mmn@penreg.ru

Мониторинг состояния многолетнемерзлых пород (ММП) и глубины сезонноталого слоя (СТС) имеет важное значение для прогноза изменения биогеохимического цикла углерода в почвах криолитозоны. Освоение источников углеводородного сырья в криолитозоне может существенным образом изменять геокриогенное состояние территории, однако, влияние нефтедобычи на состояние ММП и мощности СТС мало освещено в литературе.

Целью нашей работы был мониторинг мощности СТС и температуры грунтов в зоне техногенного влияния при разработке месторождения углеводородов.

Мощность СТС зависит от микрорельефа поверхности, распределения растительного и снежного покровов. ММП протаивают за летний период в среднем до глубины 1 м, при этом минимальная мощность СТС (0.58-0.73 м) приурочена к слабозаболоченной части площадки. Площадь участков с глубиной протаивания более 1 м из года в год увеличивалась вплоть до 2013 г.: в августе 2008 года она составляла 35%, в сентябре 2009 г. - 53%, в августе 2012 г. - 80%, в сентябре 2013 г. - 83%. В августе 2014 г. площадь участков с глубиной протаивания более 1 м составляла 45%.

В 2009 г. пробурены термоскважины глубиной 20 м на мерзлых грунтах в зоне влияния сооружений нефтедобычи.

Термоскважина 1: криогенная обстановка толщи отличается сложными природными условиями, а в процессе строительства куста претерпела техногенные изменения. Предположительно, изначально положение ММП было заглублено. На стадии строительства при снятии покровных отложений грунт промерз, образовав слившуюся мерзлоту-перелеток в интервале глубин 1.5-3.5 м. Температура пород не превышает минус 0.55°C. Глубина залегания кровли ММП снижалась от 3.5 м в 2009 г. до 8 м в 2014 г. Причиной углубления границы таликовой зоны могут служить различные факторы как техногенного, так и природного характера. Граница годовых колебаний температуры установлена на глубине 10 м.

Термоскважина 2: поверхность территории скажины изначально нарушена не была. Температура пород с глубины 3-3.5 м не превышала минус 0.92 °C (2011 г.) - минус 0.85°C (2012-13 гг.). Глубина промерзания не превышает 2.5 м, в интервале 1.5-3.0 м сформировалась таликовая зона. Граница годовых колебаний температур установлена на глубине 15 м. Кровля ММП находится на глубине 4.5 м (2014 г.).

Таким образом, механические нарушения почв и грунтов при строительстве объектов нефтедобычи способны существенным образом изменять границы таликовой зоны ММП, способствуя вовлечению законсервированного в ней органического вещества в биогеохимические процессы.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ (проект № МК-1996.2017.5).

ИЗМЕНЕНИЕ АГРЕГАТНОГО СОСТАВА РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ ЗАЛЕЖНЫХ ПОЧВ

Баева Ю.И.

ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов
baeva_yulya@mail.ru

Забрасывание сельскохозяйственных земель запускает сложный процесс восстановления зонального растительного покрова и почвенного плодородия, при котором существенные изменения претерпевает и агрегатный состав почв. Подобные изменения обусловлены, с одной стороны, особенностями, унаследованными от пашни, с другой – воздействием формирующихся на залежах естественных биоценозов, характерных для определенных природно-климатических зон.

Целью исследования явился сравнительный анализ изменения агрегатного состава различных типов почв (дерново-подзолистых, серых лесных и черноземов) в ходе их постагрогенного развития.

Проведенные геоботанические исследования показали, что после выведения почвы из сельскохозяйственного использования происходит изменение видового состава, увеличение биоразнообразия и постепенное восстановление климаксных сообществ, характерных для конкретных природно-климатических зон.

Восстановление зонального растительного сообщества оказывает существенное влияние на агрегатное состояние залежных почв за счет разрыхляющего воздействия корневой системы травянистой растительности и поступления большого количества свежего органического вещества, которое выполняет роль склеивающего материала при формировании макроагрегатов. Так, наряду с сукцессией фитоценозов отмечается увеличение содержания органического углерода в верхней части бывшего пахотного горизонта (0-10 см) во всех изученных типах почв. Однако при смене природно-климатических зон с севера на юг вышеуказанный тренд ослабевает в ряду *дерново-подзолистая почва – серая лесная почва – чернозем обыкновенный*.

Установлено, что при самовосстановлении бывших пахотных почв содержание макроагрегатов в поверхностном слое всех типов почв достоверно возрастает в ряду *пашня – залежи – лес*, а количество микроагрегатов, наоборот, снижается. Также наблюдается увеличение средневзвешенного диаметра агрегатов и коэффициента структурности. Наиболее выраженные изменения агрегатного состава отмечаются в сукцессионном ряду, сформированном на серых лесных почвах, а наименьшие – характерны для дерново-подзолистой почвы южной тайги.

Таким образом, проведенные исследования подтверждают литературные данные о том, что изъятие земель из сельскохозяйственного использования приводит к постепенному восстановлению их естественной структуры и улучшению агрономических свойств почвы.

МЕТОДЫ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ ПРИ ЦИФРОВОМ КАРТОГРАФИРОВАНИИ СТРУКТУРЫ ПОЧВЕННОГО ПОКРОВА

Бахарев А.А.

РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева

a.bakharev@inbox.ru

Во всём мире сегодня происходит переход от бумажных карт к цифровым. С внедрением цифровых методов достигается увеличение скорости картирования и снижение стоимости картографических работ [2]. Важным элементом в составлении цифровых карт является статистическая обработка результатов исследований. Для этой цели используются различные методы статистического обучения (машинного обучения). Целью работы являлось составление карт групп структур почвенного покрова (СПП) при помощи различных методов машинного обучения на примере хозяйства ОАО «АФ «Роговатовская Нива» Старооскольского городского округа Белгородской области. Было проведено полевое почвенно-ландшафтное обследование и в ходе работ была выявлена закономерность формирования СПП на территорию хозяйства. С использованием топографической карты масштаба 1:10000 была построена цифровая модель рельефа (ЦМР) с разрешением 20 м в программе SAGA GIS. На основе ЦМР были рассчитаны морфометрические характеристики рельефа (крутизна, индекс конвергенции, водосборная площадь, индекс влажности и т.д.), которые задавали факторно-индикационную основу. На исследуемой территории рельеф выступает главенствующим фактором распределения структур почвенного покрова. Следовательно, были использованы характеристики рельефа для выделения следующих групп структур почвенного покрова: полугидроморфные, афтоморфные, слабоэрозионные, среднеэрозионные, сильноэрозионные, полугидроморфно-зональные, почвы овражно-балочного комплекса. Выделенные группы структур почвенного покрова задавали эталоны или обучающую выборку, на которой строятся вероятностно-статистические модели. Территория, не обеспеченная полевыми описаниями, образует обучаемую выборку [1]. В качестве средства построения вероятностной модели и интерпретации точечных описаний были использованы три метода машинного обучения: линейный дискриминантный анализ, мультиномиальная логистическая регрессия и случайный лес. В итоге на территорию хозяйства, при помощи каждого из трёх методов, была получена карта групп СПП.

Список литературы

1. Пузаченко Ю.Г., Математические методы в экологических и географических исследованиях. – М.: Академия. 2004.
2. MacMillan R.A., Moon D.E., Coupé R.A. Automated predictive ecological mapping in a Forest Region of B.C., Canada, 2001–2005 // *Geoderma*, 2008, Vol. 140, Issue 4. – P. 353-373.

ЗАВИСИМОСТЬ КАТАЛАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ОТ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ И ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ УРБОСТРАТОЗЕМОВ И КВАЗИЗЕМОВ Г. ПЕРМИ

Беломорская Ю.В., Митракова Н.В.

Пермский государственный национальный исследовательский университет

Amily9408@yandex.ru

Ферменты поступают в почву в результате жизнедеятельности организмов и длительное время сохраняют свою активность. Ферментативная активность почв служит показателем экологического состояния

почв и их способности к выполнению биогеоценологических функций. Интенсивность катализируемых ферментами процессов зависит от химических и физико-химических свойств почв. Неоднородность почвенного покрова г. Перми обусловлена не только антропогенными факторами, но и исходным разнообразием почв и почвообразующих пород долины Р. Камы. Цель исследований - определение активности каталазы и ее зависимости от физико-химических и химических свойств городских почв. Объектами исследования служили поверхностные слои (0-15 см) урбостратоземов и квазиземов из урбопеδοкомплексов на делювиальных суглинках, древнеаллювиальных песках и аллювиальных отложениях из селитебных районов г. Перми. В каждом урбопеδοкомплексе отобрано по 15 почвенных проб, в которых определили рНвод, рНсол, ЕКО, содержание органического углерода, содержание подвижных К, Р и Na, подвижность Cd Pb, Zn, Cu, содержание карбонатов. Активность каталазы установлена газометрическим методом в трехкратной повторности. Зависимость каталазной активности от свойств почв установили методом корреляционного анализа при 0,05-уровне значимости нулевой гипотезы. Согласно критериям Д.Г. Звягинцева каталазная активность урбостратоземов и квазиземов варьировала от очень низких до средних значений. Активность каталазы достоверно зависела от реакции почвенной среды, емкости поглощения, содержания подвижного калия и подвижности Cd. Величина рНвод изменялась от 6,7 до 8,3, в том числе, в третьей части проб отмечена щелочная среда (показатель выше 8 рН). Кислая реакция была установлена в одной пробе из квазизема торфяного. Каталазная активность снижалась с повышением щелочности почв. Показатель емкости поглощения варьировал от 10,2 до 80,6. Высокая изменчивость показателя связана с разным гранулометрическим составом и содержанием органического углерода. Пониженную поглотительную способность имели почвы из урбопеδοкомплекса на древнеаллювиальных песках, с понижением показателя активность каталазы возрастала. Калий – элемент питания растений, поэтому, чем выше его содержание в пробе, тем выше была активность каталазы. Меньшую обеспеченность калием показали легкие по гранулометрическому составу из урбопеδοкомплекса на древнеаллювиальных песках. Повышение подвижности Cd сопровождалось понижением каталазной активности. В среднем более высокую подвижность Cd имели почвы из урбопеδοкомплекса на делювиальных суглинках из многоэтажного района.

ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ ПОЧВ ООПТ «ЧЕРНЯЕВСКИЙ ЛЕС» К ЗАГРЯЗНЕНИЮ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ

Белышева Н.Е., Липин И.Н.

Пермский государственный национальный исследовательский университет

natasha-belyshev@mail.ru

В условиях современной антропогенной нагрузки на окружающую среду загрязнение тяжелыми металлами, попадающими в почву с выхлопными газами транспортных средств, с отходами сточных вод, с применением пестицидов, с внесением удобрений и из других источников, неизбежно ведет к тем или иным нарушениям фито- и агроценозов. ООПТ «Черняевский лес» расположен практически в центре г. Перми и проблема накопления поллютантов в почве и растительности леса является очень актуальной, так как лесные массивы с их развитой контактирующей поверхностью особенно интенсивно задерживают тяжелые металлы. Объектом исследования были песчаные почвы, сформированные на древнеаллювиальных отложениях террасы р. Кама, в профиле которых поверхностные горизонты представлены серогумусовыми, перегнойными и подстильно-торфяными горизонтами, постепенно переходящими в песчаную материнскую породу. Было изучено 8 почвенных разрезов. Почвы характеризовались кислой реакцией среды, рНвод колебалась в пределах 4,6-5,6. Содержание органического углерода в слое 0-10 см составляло от 1,9 до 4,2%. Емкость поглощения почв низкая, с преобладанием в составе обменных катионов водорода и алюминия. Общее содержание Cu, Pb, Cd, Zn в почвах определяли методом РФА-СИ для твердых проб; подвижность этих элементов изучили ионоселективным методом. Зависимость подвижности металлов от почвенных свойств рассчитали методом корреляции при уровне значимости нулевой гипотезы 0,05. Общее содержание тяжелых металлов в почв низкое по сравнению с кларками почв мира, у Pb колеблется в диапазоне 1,1–1,4, Cu – 1,2-3,2, Cd – 1,0-2,2 и Zn – 1,2-5,4 мг/кг сухой массы. Прослежена некоторая аккумуляция тяжелых металлов в органо-гумусовых горизонтах почв. Коэффициенты техногенной концентрации элементов по отношению к содержанию в песчаной породе достигали 3 единиц. Повышенная аккумуляция тяжелых металлов была отмечена в лесной подстилке: Cu – 35,5, Zn – 58,0, Pb – 9,3 мг/кг сухой массы. В большинстве верхних горизонтов почв подвижность исследуемых металлов достигала уровня токсичности. Корреляционный анализ показал тесную зависимость подвижности тяжелых металлов от реакции почвенной среды (коэффициент корреляции > 0,7). Таким образом, полученные данные показывают, что кислые легкие почвы исследованного ООПТ г. Перми обладают низкой устойчивостью к загрязнению тяжелыми металлами, т.к. при относительно невысоком валовом содержании тяжелых металлов их подвижность достигала уровня токсичности.

21-я Международная Пушкинская школа-конференция молодых ученых «Биология – наука XXI века»
СЕКЦИЯ «ПОЧВОВЕДЕНИЕ И АГРОЭКОЛОГИЯ»
**ОЦЕНКА ДЛИТЕЛЬНОГО ВНЕСЕНИЯ УДОБРЕНИЙ НА ГРУППЫ МИКРООРГАНИЗМОВ
РАЗЛИЧНЫЕ ПО ТИПУ АЗОТНОГО ПИТАНИЯ**

Бойко А.Н.^{1,2}

¹Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии

²Дальневосточный федеральный университет

nasya28.92@mail.ru

Обеспечение населения продовольствием связано с интенсивной эксплуатацией сельскохозяйственных земель, что требует постоянного применения минеральных удобрений. Однако, анализ последствий химизации и применения интенсивных технологий показывает, что, вместе с достижениями в этой области, стали проявляться ее отрицательные стороны: снижение качества продукции растениеводства, нарушение естественных механизмов восстановления почв, загрязнение окружающей среды.

Целью данной работы являлась оценка воздействия длительного (75 лет) внесения различных вариантов удобрений на количественное соотношение представителей различных физиологических групп почвенных микроорганизмов.

В исследовании использовались почвенные пробы, отбиравшиеся в октябре 2016 на 8-м опытном поле Приморского научно-исследовательского института сельского хозяйства ДВО РАН (ПримНИИСХ ДВО РАН). 8-е поле включало делянки: 1) контрольная, без внесений; 2) с внесением NPK (N2500P2675+K1920); 3) с внесением NPK, навоза и извести (N2513+P2600+K1975+H220+И22).

Почвенные образцы использовались для посева на плотные питательные среды для выявления представителей следующих физиологических групп: аммонификаторы (МПА), микроорганизмы, усваивающие минеральные формы азота (КАА), азотфиксаторы (среда Эшби).

Полученные данные свидетельствуют о том, что на участке с внесением NPK+H+И, преобладает группа микроорганизмов, осуществляющих минерализацию органического вещества – $1,4 \times 10^{10}$ КОЕ/гр. против $2,4 \times 10^9$ КОЕ/гр. в контроле и $8,4 \times 10^8$ КОЕ/гр. и с внесением NPK. Наибольшая численность азотфиксирующей микрофлоры также отмечена на данном опытном участке – $3,2 \times 10^7$ КОЕ/гр.

В образцах, отобранных с делянки с внесением NPK численность микроорганизмов, использующих в качестве источника питания органические формы азота и численность микроорганизмов, усваивающих минеральные формы азота практически одинакова – $8,4 \times 10^8$ КОЕ/гр. и $8,0 \times 10^8$ КОЕ/гр, соответственно. А число микроорганизмов-азотфиксаторов было наименьшим среди трех опытных участков – $1,3 \times 10^6$ КОЕ/гр.

Таким образом, был сделан вывод, что длительное внесение NPK угнетает развитие микроорганизмов исследованных физиологических групп. Данное явление может объясняться снижением pH вследствие избыточного внесения минеральных удобрений. Вероятно, добавление извести способствует поддержанию нормальных значений pH, а вносимый навоз выступает богатым источником органического вещества для почвенной микробиоты.

**ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ КИНЕТИКИ
ПРОРАСТАНИЯ СЕМЯН ФАСОЛИ СОРТА МОСКОВСКАЯ БЕЛАЯ
ЗЕЛЕНОСТРУЧКОВАЯ 556**

Воршева А.В.

РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева

vorsheva.sasha@yandex.ru

Фасоль (лат. *Phaseolus*) - типовой род растений семейства Бобовые (Fabaceae). Фасоль известна людям очень давно, как минимум пять тысячелетий. В китайских летописях, датированных 3-им тысячелетием до н.э. уже есть упоминания о ней. По описанию древняя фасоль напоминает современный сорт маш. Фасолинку можно сравнить с капсулой, в которой собраны все необходимые человеку питательные вещества: замечательный растительный белок, жир, лишённый холестерина, огромное количество минералов и витаминов. Фактически, человек может питаться фасолью (разными сортами - так как они дополняют друг друга) длительное время, не испытывая проблем со здоровьем.

Объект исследования – фасоль Московская белая зеленостручковая 556 (№ партии 3269, Торговая марка «Каждый день»), фасоль Московская белая зеленостручковая 556 (№ партии 1009, Торговая марка «Русский огород»). Схема лабораторного опыта включала три изучаемых фактора: величину pH раствора, время, сменяемость раствора.

Опыты проводили в чашках Петри в трехкратной повторности. В каждую чашку помещали по 30 неповреждённых семян фасоли и заливали по 50 мл раствора с соответствующим значением pH. Величину pH измеряли ежедневно на иономере Экотест-2000. В варианте со сменяемыми растворами их обновляли каждый день, для чего сливали раствор из каждой чашки в стаканчик, измеряли pH. В чашку наливали новую порцию раствора с соответствующим значением pH. В случае с несменяемыми растворами после измерения pH их

снова выливали в чашки Петри или проводили измерение pH непосредственно в чашках Петри. Ежедневно измеряли значение pH, количество проросших семян и длину проростков в течение 7 дней.

В ходе исследования было установлено, что при прорастании семени фасоли самопроизвольно изменяют pH до значения 7,0-7,5 независимо от первоначальной кислотности раствора.

ТРАНСФОРМАЦИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ СУБСТРАТОВ РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ СЕРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВОЙ В МОДЕЛЬНОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Дущанова К.С.¹, Хомутова Т.Э.²

¹Пушкинский государственный естественно-научный институт (ПушГЕНИ), ²ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН
kamilla.dushchanova@gmail.com

На серой лесной почве заложен длительный модельный эксперимент с целью выявления особенностей разложения органических субстратов различного происхождения - растительных остатков, крахмала, казеина, желатина, шерстяных нитей, животного жира и растительного масла. Почвенные образцы просеивали, усредняли, отделяли корневые остатки; контрольный и обогащенные субстратами варианты инкубировали при постоянной температуре и влажности. Динамику разложения органических субстратов анализировали по состоянию микробных сообществ: их субстрат-индуцированному и базальному дыханию в первый месяц эксперимента дважды в неделю, а затем ежемесячно.

В течение первого месяца эксперимента наибольшей интенсивностью микробного дыхания, превышающей контрольные показатели до 12 раз, отличался вариант, обогащенный казеином, варианты с внесением растительных остатков и желатины превышали контроль до 4-5 раз, крахмала - до 2 раз, варианты с внесением животного жира и растительного масла превышали контрольные показатели незначительно (до 70%), а таковой с шерстяными нитями практически не отличался от контроля. По характеру хода кривых базального и субстрат-индуцированного микробного дыхания экспериментальные варианты разделились на две группы. Первая группа куда входят варианты обогащенные казеином, желатином, растительным маслом и шерстью, характеризовалось наличием максимумов различной амплитуды, приходящихся на период с третьего по семнадцатый день эксперимента. Вторая группа отличалась сглаженностью кривых. Обсуждается динамика состояния живой и активной биомассы и энзиматической активности микробных сообществ серой лесной почвы.

МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ПЦР ДЛЯ АНАЛИЗА ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ГЕНОВ (*nifH*, *amoA*, *nirK* И *nirS*) В ПОЧВЕ

Железова А.Д.^{1,2}, Тхакахова А.К.¹, Кутова О.В.¹

¹ФГБНУ Почвенный институт имени В.В. Докучаева, ²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова
alferrum@mail.ru

Экологические функции почвенного микробного сообщества включают в себя участие в биогеохимических циклах макро- и микроэлементов. Азот является важным элементом питания для растений, его доступность частично обеспечивается деятельностью почвообитающих микроорганизмов. Для изучения потенциальной способности почвенного микробного сообщества к осуществлению процессов трансформации азота был опробован метод ПЦР в реальном времени (количественной ПЦР), с помощью которого возможна оценка количества функциональных генов *nifH*, *amoA*, *nirK* и *nirS* в экстракте почвенной ДНК. Эти гены кодируют ферменты, катализирующие ключевые реакции азотного цикла: азотфиксацию - *nifH* (кодирует субъединицу нитрогеназы, связанную с ионом Fe), аммонификацию у бактерий и архей - *amoA* (кодирует аммоний-монооксигеназу), денитрификацию - *nirK* и *nirS* (кодируют две субъединицы нитритредуктазы).

Подбор праймеров и протоколов для количественной ПЦР функциональных генов осуществлялся методом анализа зарубежных и отечественных публикаций. Были выбраны праймеры, амплифицирующие достаточно длинные фрагменты изучаемых генов (от 240 до 500). Растворы с известной концентрацией фрагментов функциональных генов (стандартные растворы) были приготовлены из чистых культур *Sinorhizobium meliloti* (*nifH*, *nirK*), *Rhizobium leguminosarum* (*nifH*) и *Pseudomonas sp.* (*nirS*), а также из образцов типичной каштановой почвы (*amoA*). Для подготовки стандартов проводилась амплификация экстракта ДНК с последующим гель-электрофорезом, очисткой с сорбцией на SiO₂ и определением концентрации ДНК на приборе Qubit fluorometer. При проведении количественной ПЦР с подготовленными стандартными растворами значение эффективности в диапазоне концентраций 10⁸ – 10³ составляло от 80 до 100 %, что позволяет использовать данный метод для оценки количества функциональных генов в экстрактах ДНК разных почв.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (проект № 14-26-00079).

ПОКАЗАТЕЛИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОВЕДЕНИЯ ПРОЦЕССОВ БИОРЕМЕДИАЦИИ.

Заборская О.Ю.¹, Крамм Э.А.^{1,2}, Заборская А.Ю.²

¹ФГБОУ ВО Московский политехнический университет, ²ГБОУ Городской методический центр
O_ZA92@mail.ru

Динамическая биоремедиация – процесс биологической очистки, проводимый с помощью специальных аппаратов или приспособлений, способствующих повышению эффективности протекания процесса.

Процесс динамической биоремедиации проводят в биореакторах открытого типа. Непосредственно насыщение почвы кислородом – аэрация происходит при перемешивании загрязненной почвы в аппарате с помощью мешалки-аэратора в определенном режиме.

В ходе изучения процесса биодegradации углеводородных загрязнителей в почве были разработаны специальные приспособления – мешалки-аэраторы различных типов.

Для проведения процесса динамической ремедиации необходимо затратить определенное количество энергии. Количество этой энергии позволяет дать системе такую характеристику, как мощность.

Процесс биологической очистки в природной среде длится от нескольких месяцев до нескольких лет в зависимости от типа почвы, погодных и климатических условий. Таким образом, при организации и оценке процесса активной очистки необходимо учитывать количество времени, затрачиваемое на очистку.

В качестве основного критерия эффективности проведения часто используется соотношение конечного и исходного содержания. Это показатель потребления углеводородного субстрата микроорганизмами. Эффективность проведения процесса биоремедиации также характеризуется массой обрабатываемой среды.

Разработанный нами показатель ПЗР (показатель затратности ремедиации) позволяет осуществить комплексную оценку эффективности проведения процесса биоремедиации, учитывая основные факторы, влияющие на процесс активной биоремедиации. Математически показатель затратности ремедиации учитывает такие величины, как E – энергия, расходуемая при ремедиации, КДж; t – продолжительность ремедиации, ч; m – масса обрабатываемой среды, кг; Δc – изменение концентрации загрязнителя в почве за время t , г/кг.

Чем меньше значение показателя, тем выше эффективность процесса.

Это позволяет нам сравнивать по эффективности различные типы установок, режимы работы и даже разные методы биологической очистки, например грядки для компостирования или биореакторы.

Основным ограничением области применения является то, что с помощью этого показателя можно сравнивать только активные процессы очистки. Следовательно, когда осуществляется какое-либо воздействие на почву с целью ускорения процесса биологической очистки – обработка почвы в аппарате, рыхление почвы и грядок и др., порядок оценки эффективности процесса с помощью показателя затратности ремедиации определен. В случае протекания процесса без активного воздействия показатель затратности ремедиации не используется.

МИКРОБНОЕ СООБЩЕСТВО ЧЕРНОЗЕМА СТРЕЛЕЦКОЙ СТЕПИ

Каменев В.С., Свистова И.Д.

Воронежский государственный педагогический университет
kamenevadim@mail.ru

Изучали состав и структуру микробного сообщества (МСО) чернозема типичного заповедника «Стрелецкая степь» в контрастных экосистемах: некосимый целинный участок с разнотравно-злаковой растительной ассоциацией и расположенные на территории заповедника 46-летние опытные участки – бессменный черный пар и 9-польный севооборот (поле под озимой пшеницей).

Численность аммонификаторов в слое 0-20 см составляла 12-13 млн. КОЕ/г на целине, ниже в 2-3 раза на пару и возрастала в 2 раза на пашне. Численность иммобилизаторов азота составляла 41-46 млн. КОЕ/г на целине и под пшеницей, снижалась в 1,5 раза на пару. Численность олиготрофов, напротив, была максимальной на пару 42-63 млн. КОЕ/г, ниже в 2-3 раза в других вариантах опыта.

Показатели эколого-трофической структуры МСО (коэффициенты иммобилизации азота и олиготрофности) составляли для целины 3,8 и 2,4; для пара 6,4 и 8,2 и для пашни 2,1 и 1,3 соответственно.

Численность мицелиальных микроорганизмов (микромикетов и актиномицетов) в агроэкосистемах возрастала, особенно в почве бессменного пара. Наиболее информативными показателями таксономической структуры МСО оказались соотношения микромикеты/бактерии-аммонификаторы и актиномицеты/бактерии-аммонификаторы. В почве без растений эти показатели возрастали в 9 и 25 раз, в севообороте – в 3-5 раз по сравнению с целиной.

Численность целлюлолитиков возрастала на пару в 1,5-3 раза, а в севообороте в 5-20 раз по сравнению с целиной. Менялся состав целлюлолитиков: на целине доля актиномицетов составляла около 50%, в

агроэкосистемах возрастала до 80-94% за счет уменьшения доли бактерий и грибов. Обнаружено расширение секционного состава актиномицетов в пахотной почве.

Изменялся видовой состав микромицетов: на целине типичными были стенотопные для лесостепной зоны виды: медленно растущие олиготрофы, гидролитики, копитрофы и фитопатогены, индекс Шеннона составлял 3,89. В почве многолетнего бессменного пара биоразнообразие грибов снижалось, индекс Шеннона – до 2,31 за счет исчезновения фитопатогенов и эвритопных видов-гидролитиков. В почве севооборота, напротив, исчезали олиготрофы и стенотопные виды, но резко возрастала доля целлюлолитиков, копитрофов и фитопатогенов, индекс Шеннона возрастал до 4,09. Коэффициент сходства Серенсена с целинным вариантом составлял для пара 0,56, а для севооборота – 0,73, что указывает на значительные отличия МСО.

Таким образом, распашка почвы и тип агрофитоценоза являются решающими факторами направленности микробной сукцессии в черноземе типичном по сравнению с целинным участком.

ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ СОСТОЯНИЯ ПОЧВЕННОГО ПОКРОВА ПРИ СМЕНЕ ТИПА ЗЕМЛЕПОЛЬЗОВАНИЯ

Кириленко Н.Г., Дунаева Е.А.

ФГБУН Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма
natali.boiko1993@mail.ru

Вопросы изучения почвенного плодородия и выявления причин деградации почв актуальны для Республики Крым. Исследованиями почвенного покрова Крыма занимались Н.Н. Клепинин, Н.А. Драган, А.В. Кольцов, А.А. Титков, Ю.Е. Кизяков, Н.Б. Хитров, Г.Е. Тронза. Актуальность данной проблемы заключается в изучении почвенного покрова после прекращения подачи воды в Северо-Крымский канал, так как все ранее орошаемые земли стали богарными, следовательно, возникает необходимость отслеживания изменений почв, их структуры, гранулометрического состава и др. особенно в степной части Крыма.

Претерпела существенных изменений также структура землепользования территорий. Примером может служить структура посевных площадей Клепининского сельского поселения (НПО «Элита» в советское время) Красногвардейского района, которая значительно изменилась с 1980 года. На данной территории прекратилось выращивание влаголюбивых культур, таких как соя, сахарная свекла, кукуруза на зерно, картофель и овощи – и произошел переход на богарное земледелие. Процент орошаемых земель в 1980 году составлял 38,3 %, в 1990 – 61,3 %, в 2015 – 0%. К 2015 г. в структуре посевных площадей возросла доля технических культур, таких как подсолнечник, в 1980 г. она составляла – 4,1%, 1990 – 3,3%, 2015 – 10,5%, но эти значения не превышают предельно допустимых норм; доля озимых зерновых культур в 1980 г. составила 28,4%, в 2015 – 49%. К 2015 значительно уменьшилась доля возделывания многолетних и однолетних трав, что связано с уменьшением поголовья скота, при этом возделывание многолетних трав способствует улучшению экологической ситуации, так как снижает распаханность территорий и уменьшает применение химических веществ, так же многолетние бобовые травы положительно влияют на почву за счет обогащения ее органическим веществом и азотом.

На бывших орошаемых землях Крыма, которые в 2015 году использовались как богарные, наблюдалось в верхнем пахотном горизонте образование корочек отмытых пылеватых частиц, образованных при воздействии капель дождя на ослабленные связи в агрегатах, данное явление происходит из-за полива черноземов слабощелочными водами, в том числе имело место при поливе водами Северо-Крымского канала. Для прекращения этого процесса следует вносить органические удобрения с небольшими дозами мелиорантов, которые содержат растворимый кальций.

В дальнейших исследованиях планируется проведение полевых экспедиционных исследований почвенного покрова на территориях, наиболее подтвержденных изменениям структуры землепользования, таких как ранее орошаемые рисовые севообороты.

РАЗРАБОТКА СИСТЕМЫ ИНДИКАТОРОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЗЕМЕЛЬ

Кожевников Н.В.

ФГБОУ ВПО Кемеровский государственный университет
Koghevnikov_NV@mail.ru

По мере развития сельскохозяйственных экосистем, создаваемых для стабильного получения максимального количества растениеводческой продукции, воздействие на почвенный покров постоянно возрастает. Интенсивное сельскохозяйственное использование земельных ресурсов приводит к потере значительной части органического вещества, агрофизической деградации и в конечном счете к существенному снижению почвенного плодородия.

В связи с обострением экологических проблем в сельском хозяйстве, актуальным является оперативная диагностика почвенного состояния. Наиболее часто для оценки последствий сельскохозяйственного использования почв используют содержание гумуса. Показатель прост в применении, его использование не требует сложного оборудования и реактивов. Однако для оперативной диагностики он малопригоден, в силу своей большой консервативности. Поэтому для оперативной оценки антропогенного влияния на почвенный покров рассмотрены показатели ферментативной активности. Благодаря высокой чувствительности, показатели ферментативной активности дают четкое представление о процессах, протекающих в почве.

Для диагностики сельскохозяйственного использования почв оценивалась активность ферментов класса гидролаз – инвертазы и урезы, и класса оксидоредуктаз – каталазы и дегидрогеназы. Для оценки применимости ферментативной активности в диагностике агрогенных почв определен общий гумус. Исследования проводились на территории опытно-производственного хозяйства «Минино» Красноярского НИИСХ. Объектом исследований выступали пахотные и целинные варианты чернозема обыкновенного.

Многолетняя обработка обыкновенных черноземов опытного участка привела к потере до 40% гумуса от ее исходного состояния. Уровень активности ферментов почв в целинном состоянии превосходил уровень в пахотных вариантах по каталазе в 1,17 раза, уреазе – 1,39, дегидрогеназе – 1,41 и инвертазе – 1,55 раза.

Проведенные исследования показали эффективность применения показателей ферментативной активности для оперативной диагностики экологического состояния сельскохозяйственных земель. Применению ферментативной активности в качестве диагностического показателя способствуют низкая ошибка опытов и высокая чувствительность.

Оценка активности почвенных ферментов позволит провести раннюю диагностику состояния сельскохозяйственных земель и разработать мероприятия по повышению почвенного плодородия и улучшению качества продукции в условиях интенсивного использования почв и применения средств химизации.

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ ПОЧВЕННОГО ПОКРОВА ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

Лазарева М.А.

ФГБНУ ЦМП имени В.В. Докучаева, ФГБНУ Почвенный институт имени В.В. Докучаева
margoflams@mail.ru

Прогрессивный рост городов оказывает существенное влияние на почвенный покров окружающих его территорий. Мегаполисы являются центрами антропогенного воздействия на почвы. Как правило, формы и интенсивность воздействия городов на почвенный покров ослабевают по мере удаления от границ города. В этом аспекте широкие возможности для анализа влияния города на прилегающие территории дает изучение почвенного покрова Ленинградской области (ЛО).

На базе цифровой почвенной карты (ЦПК) ЛО, масштаба 1:200 000, которая создается в ЦМП им. В.В. Докучаева в соответствии с госзаданием № 0671-2014-0002, проведена инвентаризация антропогенно-измененных почв и определен систематический список почв, почвенных комбинаций Ленинградской области. Список составлен в соответствии с классификацией и диагностикой почв России 2004 года (КиДПР). Соответственно масштабу карты, почвы выделены на уровне типов и подтипов.

На основе анализа систематического списка были выявлены изменения в почвенном покрове прилегающих к Санкт-Петербургу территорий.

Установлено, что воздействие человека на почвенный покров проявляется от незначительного изменения в свойствах почв до коренного преобразования почвенного профиля, полного уничтожения почв и «создания» новых почвенных форм и типов организации почвенного покрова (Б.Ф. Апарин, Е.Ю. Сухачева, 2015).

На территории ЛО, наряду с естественными почвами, выделены:

- почвы и почвенные комбинации сельскохозяйственных угодий - агрогенные (агроземы, агропочвы);
- почвы и почвенные комбинации, в прошлом подвергавшиеся сельскохозяйственному использованию - постагрогенные (залежные земли);
- созданные человеком почвы (интродуцированные, стратоземы);
- комбинации почв с непочвенными образованиями;
- антропогенно-преобразованные почвы (торфозем);
- антропогенно-измененные естественные почвы (турбированные, стратифицированные).

Практически во всех ландшафтах имеется большое количество структур почвенного покрова, компонентами которых являются как естественные, так и антропогенно-измененные, антропогенные почвы, непочвенные образования.

Выявлено существенное преобладание антропогенно-измененных почв над естественными. Доля антропогенных почв составляет >50 % ПП, > 30% естественных почв ЛО антропогенно-изменены. Среди антропогенных почв преобладающими являются почвы и почвенные комбинации сельскохозяйственных угодий (80%). Значительную долю занимают комбинации антропогенных и естественных почв с НПО (50% от общего числа почвенных комбинаций).

ТАКСОНОМИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТЫХ ПОЧВ ЗАЛЕЖИ И ЛЕСОПОЛОСЫ

**Никитин Д.А.^{1,2}, Семенов М.В.¹, Тхакахова А.К.¹, Чернов Т.И.¹, Бгажба Н.А.^{1,2}, Железова А.Д.^{1,2},
Кутовая О.В.¹**

¹ ФГБНУ Почвенный институт имени В.В. Докучаева, ²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова
dimnik90@mail.ru

Основная часть дерново-подзолистых почв расположена на территории России. До сих пор представления о составе и разнообразии микробных сообществ дерново-подзолистых почв ограничивались данными, полученными классическими методами, не способными таксономически идентифицировать некультивируемое большинство микроорганизмов. По этой же причине отсутствовала информация о распространении архей в этом типе почв.

Целью работы было качественное и количественное сравнение таксономической структуры микробных сообществ (бактерий, архей и грибов) с использованием методов RT-qPCR и секвенирования ДНК прокариот в дерново-подзолистых почвах, относящихся к двум типам землепользования. Объектами исследования были генетические горизонты почв залежи и лесополосы, находящихся на территории стационара «Ельдирино», Московская область.

По результатам RT-qPCR было выявлено последовательное уменьшение количества копий гена 16S рРНК прокариот и 18S рРНК грибов вниз по профилям обеих почв. Максимальное количество копий 16S рРНК бактерий ($3.94 \cdot 10^{10}$ для лесополосы и $6.49 \cdot 10^{10}$ для залежи) детектировалось в А-горизонте, а минимальное - в нижних ВС-горизонтах ($1.81 \cdot 10^9$ для лесополосы и $4.43 \cdot 10^9$ для залежи). Для распределения 18S рРНК грибов была выявлена схожая закономерность. Наибольшая численность копий генов грибов ($5.71 \cdot 10^{10}$ для лесополосы и $6.49 \cdot 10^{10}$ для залежи) детектировалось в А-горизонте, а минимальное - в горизонте ВС ($1.86 \cdot 10^9$ для лесополосы и $5.39 \cdot 10^9$ для залежи).

Таким образом, количество генов как бактерий, так и грибов больше в залежи, чем в лесополосе. Эта разница увеличивается с глубиной (в 1.5-2 раза в гумусовых горизонтах и в 3-4 раза в горизонтах ВТ2 и ВС). В отличие от бактерий и грибов, численность архей плохо коррелировала с глубиной почвы и типом землепользования.

В почвах обоих типов землепользования преобладали филумы *Acidobacteria* и *Proteobacteria* (до 40%). Наибольшая доля протеобактерий в сообществе была выявлена в верхних А-горизонтах. Также значительную часть сообщества составляли *Verrucomicrobia* (до 25%) и AD3 (до 24%). При этом, представители филума AD3 характеризовались высокой долей исключительно в минеральных горизонтах и отсутствовали в гумусовых. Заметным обилием характеризовались *Actinobacteria* (до 9%) и *Bacteroidetes* (до 8%). Среди архей единственным значимым по численности филумом являлись *Crenarchaeota* (до 9,5% для А-горизонта в почве лесополосы и до 8% в ВТ-горизонте залежи). Филумы *Gemmatimonadates* и *Nitrospirae* детектировались исключительно в почве залежи. Индекс Шеннона варьировал в зависимости от глубины почвы в диапазоне от 6.37 в ВТ- горизонте до 8.02 в верхнем горизонте почвы залежи.

Таким образом, применение молекулярно-биологических методов позволило выявить различия в составе и структуре микробных сообществ дерново-подзолистых почв в зависимости от глубины и типа землепользования.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ, проект № 14-26-00079.

ПОЧВЫ АРХЕОЛОГИЧЕСКИХ ПАМЯТНИКОВ САМАРСКОГО ПОВОЛЖЬЯ

Овчинников А.Ю.

ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН
ovchinnikov_a@inbox.ru

Исследованы почвы вблизи одиночного кургана раннего железного века «Богдановский» (N 52°43'20,20" E 50°45'22,2") Нефтегорского района Самарской области, относящейся к восточной окраине перигляциальной зоны Валдайского оледенения.

Почвенный профиль бровки кургана представляет сложную толщу, сложенную современной почвой, почвообразующей породой и подстилающей погребенной почвой с проявляющимися палеокриогенными деформациями разных форм и размеров. Как показали проведенные исследования палеоэкологические процессы позднего плейстоцена существенно повлияли на свойства почв современного почвенного покрова. Выяснилось, эти процессы были многократными и протекали в разные временные интервалы с отложением различной природы материала (песчаного, суглинистого, одновременно с действием криогенных (палеокриогенных) процессов).

Почвы, представленные черноземами, изучались в двух разрезах, сформированных на суглинках, но один из них подстилался песчаными породами, а другой сформировался полностью на суглинистых породах. Расстояние между разрезами 6-8 м.

Главная особенность профилей в том, что гумусовый горизонт имеет хорошо выраженную языковатую нижнюю границу. Гумусовые языки-клинья имеют сложное строение. Гумусовый горизонт чернозема представлен тремя гумусовыми подгоризонтами. Из нижнего подгоризонта гумусовый клин уходит в подстилающий песок. В гумусовый клин нижнего гумусового подгоризонта внедряется гумусовый клин из среднего гумусового подгоризонта, а гумусовый клин из верхнего подгоризонта внедряется в гумусовый клин среднего подгоризонта. Создается такая вложенная друг в друга система гумусовых клиньев.

Несомненно, имело место сильное промерзание и, вероятно, была вечная мерзлота. Температуры промерзания были низкими, т.к. для разбития плотного сцементированного песка нужны значительные градиенты температур; влажность песка была невысокой – это существенно уменьшало интенсивность криогенных процессов. Процессы промерзания, поэтому, были направлены больше на расширение трещин, чем на их углубление. Полигональность гумусовых языков имеет небольшие размеры; она не создает (не проецирует на поверхность) полигональный микрорельеф. Температуры промерзания были не самыми низкими.

Положение исследованной почвы на расстоянии в 1500 км от границы Валдайского оледенения предполагает снижение интенсивности криогенных процессов за счет менее низких зимних температур, чем на западе территории; снижения количества осадков при движении на восток и, наконец, песчаный состав подстилающих пород.

Чернозем, сформированный полностью на суглинке, состоял из 2-3-х гумусовых подгоризонтов, с отходящими узкими гумусовыми языками. Бурая часть разреза состояла из трех подгоризонтов. Главная особенность разреза состояла в том, что находясь всего в 6 метрах от разреза, где чернозем подстилается песками, он имел значительно большую мощность суглинка (превышающую в 3 раза). По-видимому, ось отвершка, где сформировались черноземы, является границей небольших тектонических блоков, разнонаправленность вертикального движения которых и привела к разной мощности суглинков.

Отмечена особенность почв в распределении Ca^{2+} и Mg^{2+} . По-видимому, характер распределения этих элементов маркирует динамику состояния природной среды (похолодание и/или потепление), а при влиянии антропогенного фактора эта особенность усиливается.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ проект № 15-04-04418-а.

ПРОБЛЕМЫ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ ПОЧВ ТУЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ

Огородников С.С., Мельникова А.А.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

sir.ogorod@yandex.ru

Актуальность учета и оценки состояния почв Тульской области, объясняется тем, что сельскохозяйственное производство вносит значительный вклад в ВВП Тульской области (8,8% в 2005 году). Почвы области представлены преимущественно черноземными и серыми лесными почвами, которые занимают соответственно 37,9% и 30,4% площади сельскохозяйственных угодий. По механическому составу преобладают тяжелые суглинки (38,5%).

По данным доклада «О состоянии и использовании земель в Тульской области в 2015 году» Правительство региона не располагает данными, позволяющими "судить о качественном состоянии земель". Нет материалов почвенного обследования.

Вопросы учета показателей плодородия почв регламентируются «Порядком государственного учета показателей состояния плодородия земель сельскохозяйственного назначения». (Приказ Минсельхоза России от 08.08.2012 № 428)

Авторами был отправлен запрос о состоянии почвенных ресурсов, в филиал Россерестра по Тульской области. Из ответа данной организации следует, что в соответствии с ее уставом учет показателей почвенного плодородия не входит в сферу её компетенции. Между тем, согласно федеральному законодательству Росреестр обязан вести учет плодородия земель.

По данным Центра химизации и сельскохозяйственной радиологии «Тульский» на территории Тульской области из 635,6 тыс. га исследованных почв пашни и залежей 479,5 тыс. га – кислые, требующие известкования. Содержание гумуса в почве составляет 4,8 %.

Авторами исследовались вопросы оценки потери качества окружающей природной среды для территории Тульской области, в разрезе муниципальных образований. Для проведения оценки предлагается использовать методику, описанную в монографии «Оценка экологического состояния почвенно-земельных ресурсов региона в зонах влияния промышленных предприятий (на примере Тульской области)». (Добровольский, Яковлев, Макаров и др. 1999)

Дана оценка состоянию физико-географической основы, естественных и антропогенных биоценозов, учтены данные о здоровье населения. Таким образом, проведенные исследования позволяют заключить, что в настоящее время существует серьезная проблема в оценке состояния почв Тульской области. Данные научных исследований не актуальны, поскольку они проводились 20 лет назад. А в настоящее время учет почвенных ресурсов ведется не должным образом. Решением данной проблемы может стать: с одной стороны – ужесточение контроля за сбором статистической информации, а с другой – использование новых источников для её получения, например, данные дистанционного зондирования или данные о запылении территории, и т.д.

БЕНЗ(А)ПИРЕН И УСЛОВИЯ ЕГО НАКОПЛЕНИЯ В ПОЧВАХ ТЕХНОГЕННОЙ ЗОНЫ

Сушкова С.Н., Дерябкина И.Г., Минкина Т.М., Саламова А.С., Нефедова А.А., Антоненко Е.М.

Южный федеральный университет
snsushkova@sfedu.ru

На территории Ростовской области уже несколько десятилетий подряд обнаружено загрязнение полициклическими ароматическими углеводородами. Одним из них является вещество первого класса опасности – бенз(а)пирен (БаП). Исследования, проводимые с 2000 года, описывают состояние заложенных на разном удалении от зоны эмиссии (1-20 км) площадок, подверженных влиянию выбросов Новочеркасской ГРЭС (НчГРЭС). Из 12 площадок № 1, 2, 3, 5, 6, 7, 11, 12, расположенных вокруг НчГРЭС в радиусе 1-3 км, а площадки № 4, 8, 9, 10 распределены в соответствии с розой ветров по линии «генерального направления», по прямой от источника загрязнения через селитебные зоны г. Новочеркаска и станицы Кривянской (табл. 1). Почвенные образцы отбирались и подготавливались с глубины 0-20 см в 2016 гг. для химического анализа в соответствии с требованиями ГОСТ 17.4.4.02-84. Извлечение БаП из почв исследуемых объектов проводилось методом омыления.

Таблица 1. Номера мониторинговых площадок и их шифр, включающий расстояние (в км) и направление расположения в сторону от НчГРЭС, а также тип почвы на площадке, содержание БаП в 20-см слое в 2016 г.

№	Шифр	Тип почвы	Содержание БаП	№	Шифр	Тип почвы	Содержание БаП
5	1,2сз	Чо	165,9±7,5	1	1св	Чо	74,8±3,8
4	1,6сз	Чо	274,0±4,3	7	1,5с	Чо	39,4±2,7
8	5сз	ЛЧ	139,8±11,0	6	2с	ЛЧ	72,1±4,5
9	15сз	Чо	103,4±8,1	3	2,7юз	ЛЧ	38,4±2,7
10	20сз	Чо	78,7±5,4	2	3юз	Ал	44,7±2,4

Результаты исследования показали (табл. 1), что максимальное содержание БаП обнаружено в наиболее приближенной к источнику эмиссии по линии преобладающего направления розы ветров мониторинговой площадке №4, которое превышает ПДК в 14 раз. Постепенно по мере удаления от НчГРЭС на 5 км содержание БаП снижается до 7 ПДК, и в почве площадки №10, удаленной на 20 км от источника эмиссии достигает 5 ПДК. Содержание БаП в почвах мониторинговых площадок, расположенных вокруг источника эмиссии превышает ПДК от 2 до 3,5 раз, что значительно ниже, чем содержание БаП по линии преобладающего направления розы ветров.

Таким образом, установлено превышение ПДК БаП в почвах всех 10 мониторинговых площадок. Наиболее подверженная загрязнению БаП 5 километровая зона на северо-запад от электростанции, совпадающая с линией преобладающего направления розы ветров, где максимум накопления БаП обнаружен на расстоянии около 1.6 км от предприятия.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента Российской Федерации № МК-3476.2017.5, РФФИ № 16-35-60051, 16-35-00347.

ПРОДУКТИВНОСТЬ РЕЛИКТОВОЙ РАЗНОТРАВНО - КОВЫЛЬНОЙ СТЕПИ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЯКУТИИ

Федоряк М.Р., Семенова Н.С., Петрова Т.А.

Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова
manyafedoryak@gmail.com

На территории Якутии распространены небольшие по площади участки реликтовых степных экосистем. В холодные эпохи позднего плейстоцена степи занимали обширные пространства в Северо-Восточной и Центральной Азии. На них обитали животные мамонтового биом. В результате потепления климата на границе плейстоцена-голоцена обширные степные пространства постепенно были замещены тундрой и тайгой.

В настоящее время степные участки сохраняются преимущественно на хорошо прогреваемых южных склонах коренных берегов в бассейнах крупных рек Лены, Яны, Индигирки, Колымы, и гор. Мы впервые исследовали продуктивность разнотравно-ковыльной степи Центральной Якутии на основе определения чистой первичной продукции как интегрального показателя состояния данной экосистемы. Ключевой участок разнотравно-ковыльной степи расположен в 17,5 км к югу от г. Якутска на склоне восточной экспозиции коренного берега левобережья р. Лены. Доминантом в разнотравно-ковыльном сообществе является *Stipa krylovii* (50%), кодоминантом - *Artemisia frigida* (25%), проективное покрытие 70-80%. Чистую первичную продукцию (NPP) определяли методом балансовых уравнений А.А. Титляновой. Установлено, что чистая первичная продукция реликтовой разнотравно-ковыльной степи Центральной Якутии составляет 2318 г/кв. м×год. Близкие показатели NPP были получены другими исследователями для разнотравно-злаковых биоценозов Западной Сибири, Центрального Казахстана и Забайкалья, занимающих транзитные позиции в степных катенах. При этом особенностью структуры продукции реликтовой разнотравно-ковыльной степи Центральной Якутии является широкое отношение подземной первичной продукции к надземной первичной продукции (22), что обусловлено жесткими почвенно-климатическими условиями (коротким вегетационным периодом, лимитом влаги, эрозией, наличием в почве токсичных солей) и антропогенным прессом (вытаптыванием, замусориванием, неконтролируемыми палами). Растительное сообщество реликтовой разнотравно-ковыльной степи накапливает NPP в основном за счет активного прироста корней. На долю подземной продукции приходится 96% от совокупной чистой первичной продукции. Наши данные согласуются с литературными источниками, в которых отмечается, что растения континентальных степей транслоцируют в подземные органы значительно больше фотосинтетатов (90%).

Выражаем благодарность научному руководителю Щелчковой М. В.

Работа выполнена при поддержке РФФИ по проекту р_восток_а № 15-44-05109.

СЕКЦИЯ «БИОТЕХНОЛОГИЯ И ПРИБОРОСТРОЕНИЕ»

ПОЛУЧЕНИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ТРАНСГЕННЫХ ЛИНИЙ РЯСКИ МАЛОЙ (*LEMNA MINOR L.*), ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ГЕН ГРАНУЛОЦИТАРНОГО КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА (ГКСФ)

Аликина О.В.^{1,2}, Тарасенко И.В.¹, Фирсов А.П.¹, Митюшкина Т.Ю.¹, Долгов С.В.¹

¹Филиал ФГБУН Института биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Пушкино, Россия; ²ФГБУН Институт биофизики клетки Российской академии наук, Пушкино, Россия
alikina.olga@mail.ru

Ряска малая (*Lemna minor L.*) – многолетнее водное растение, которое размножается преимущественно вегетативно и отличается высокой скоростью роста и высоким уровнем накопления белка, а также дешевизной и удобством культивирования. Это делает ряску перспективным объектом для создания на её основе эффективной экспрессионной платформы для производства рекомбинантных белков.

В данной работе рассматривается получение трансгенных линий ряски малой, экспрессирующих ген гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (ГКСФ). ГКСФ человека – это О-гликозилированный гликопротеин, массой 19,6 кДа, проявляющий биологическую активность в мономерной форме. Препараты на основе рекомбинантного ГКСФ человека стимулируют увеличение содержания в крови нейтрофильных гранулоцитов и используются при лечении рака и трансплантации костного мозга. В настоящее время человеческий рекомбинантный ГКСФ производится в *E.coli* и не гликозилирован. Гликозилирование повышает физико-химическую стабильность, предотвращая полимеризацию и/или конформационные изменения белка. Растительные экспрессионные системы позволяют решить эту проблему и получать полноценный гликозилированный белок.

Целью нашей работы являлось изучение экспрессии гена ГКСФ в трансгенных растениях ряски малой (*Lemna minor L.*).

Аминокислотная последовательность ГКСФ была получена из базы данных DrugBank (DB00099). Дизайн наборов перекрывающихся олигонуклеотидов выполнен при использовании программы «Primo Optimum 3.6 Optimal Gene Synthesis And Expression». Сборка синтетических олигонуклеотидов осуществлялась методом ПЦР. Полученная нуклеотидная последовательность с оптимизированным кодонным составом была клонирована в растительном экспрессионном векторе pBI121 под контролем 35S CaMV промотора вместо гена β-глюкуронидазы. Плазмида, обозначенная как pBIGCSF, была перенесена в штамм *A. tumefaciens* CBE21 и использована для трансформации.

В результате было получено 16 независимых линий ряски малой. Их трансгенный статус был подтвержден методом ПЦР. Методом вестерн-блот анализа с использованием антител к ГКСФ была показана экспрессия гена ГКСФ в 15 трансгенных линиях. Рекомбинантный ГКСФ детектировался в виде одной полосы с молекулярной массой около 20 кДа. Методом иммуноферментного анализа проведена количественная оценка накопления ГКСФ в трансгенных линиях. Показан высокий уровень содержания ГКСФ в трех линиях из шестнадцати исследованных, а линия *L. minor GCSF 19* с наибольшим содержанием целевого белка 66 мкг на г сырого веса была выбрана для проведения дальнейших работ по выделению и очистке ГКСФ.

ПОЛУЧЕНИЕ ЛИНИИ ТРАНСГЕННЫХ КРОЛИКОВ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ЛАКТОФЕРРИН ЧЕЛОВЕКА В МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ

Белова Н.В., Кутьин И.В., Шишиморова М.С., Езерский В.А., Максименко С.В., Трубицына Т.П., Колоскова Е.М., Рябых В.П.

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных»,
Боровск, Россия
navikbel@mail.ru

Использование трансгенных (ТГ) животных позволяет получать с молоком ценные человеческие белки, ферменты, факторы роста, гормоны. ТГ кролики благодаря размеру, цене, короткому репродуктивному циклу могут стать альтернативой крупным ТГ сельхоз животным. Лактоферрин человека (чЛФ) – один из перспективных белков для экспрессии в молоке животных.

С целью тканеспецифической экспрессии чЛФ в молочной железе животных была создана линейная генно-инженерная конструкция, содержащая 5'- и 3'- фланкирующие области гена *als1*-казеина крупного рогатого скота длиной 2100 и 1580 п.н. соответственно и кДНК чЛФ размером 2100 п.н.

Методом микроинъекции в пронуклеусы зигот была получена ТГ крольчиха. ТГ крольчиха (F0) была скрещена с нетрансгенным самцом. ПЦР-анализ показал, что из полученного потомства (F1) 5 крольчат (два самца, три самки) содержали ген. При скрещивании ТГ F1 с нетрансгенными кроликами в F2 соотношение потомков было 1:1. При скрещивании ТГ F1 между собой было получено поколение F2, доля ТГ животных в котором составила 69%. Определением копийности гена *hLf* была отобрана гомозиготная крольчиха и скрещена с гетерозиготным самцом из F1. Потомство F3 было полностью ТГ, но анализ копийности трансгена показал только 22% гомозигот. Потомство гомозиготных родителей F4 было полностью ТГ, что подтверждалось ПЦР-анализом, но при оценке копийности трансгена у двух из 15 крольчат количество копий было в 2 раза меньшим, чем у обычных гомозигот. Оценка жизнеспособности плодов при получении кроликов, гомозиготных по гену *hLf*, разными вариантами скрещивания показала, что при скрещивании гетерозиготных особей средний размер помета одного окрола составлял около 7 крольчат, тогда как при участии гомозиготных животных – около 5. При скрещивании гомозиготных животных F1 количество мертворожденных крольчат в окроле было гораздо выше (47%), чем у гетерозиготных родителей (7%), но при скрещивании гомозиготных животных F2 количество мертворожденных крольчат значительно сокращалось (до 17%). Концентрацию чЛФ в молоке лактирующих ТГ крольчих определяли с помощью созданной в нашей лаборатории ИФА тест-системы. чЛФ был обнаружен только в молоке, что говорит о тканеспецифической экспрессии трансгена в клетках секреторного эпителия молочной железы. Концентрация чЛФ в молоке гетерозиготных животных была в 2-3 раза ниже, чем у гомозиготных крольчих (2-3 мкг/мл). Экспрессия трансгена у гомозиготных по гену *hLf* крольчих первого и второго поколения практически не отличалась.

Таким образом, получена устойчивая линия ТГ кроликов, гомозиготных по гену *hLf*, со стабильной экспрессией ТГ белка в молоко.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА МЕТОДОВ КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ БИОМАССЫ FRANCISELLA TULARENSIS ВАКЦИННОГО ШТАММА 15 НИИЭГ С ЦЕЛЬЮ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ПРОИЗВОДСТВЕ ЖИВОЙ ТУЛЯРЕМИЙНОЙ ВАКЦИНЫ

**Бибиков Д.Н.¹, Волох О.А.¹, Комиссаров А.В.¹, Самохвалова Ю.И.¹, Авдеева Н.Г.¹,
Никифоров А.К.^{1,2}**

¹ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, Россия; ²Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова, Саратов, Россия
rusrapi@microbe.ru

Технология производства туляреминой вакцины предусматривает получение посевных культур I, II и III генерации штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ, процесса накопления биомассы, необходимой для приготовления микробной взвеси определенной концентрации, с последующим розливом, замораживанием, сублимационным высушиванием, герметизацией и упаковкой препарата, при этом количество микробных клеток в 1 мл готовой лекарственной формы препарата должно быть 20±10 млрд. Отсутствие стадии концентрирования туляреминого микроба в технологии ее производства обладает рядом отрицательных моментов: потенциальность выбраковки биомассы после процесса ее накопления в случае недостаточной для приготовления готовой лекарственной формы концентрации микроорганизма; возможная повышенная реактогенность вакцины из-за наличия питательной среды после выращивания микроорганизмов. Испытаниям подвергалась нативная культура *F. tularensis* 15 НИИЭГ, выращенная методом глубинного культивирования. В качестве критерия технологического применения методов концентрирования было принято 3-кратное увеличение концентрации микроорганизмов. Седиментацию суспензии туляреминого микроба проводили при температуре 2...10 °С. Сгущение биомассы центрифугированием осуществляли при числе оборотов ротора, равным 6000. Для оценки возможности применения фильтрационных методов использовали тангенциальную микрофильтрацию на «Вива-флоу» через мембраны с размером пор 0,2 мкм. Концентрирование нативной культуры *F. tularensis* 15 НИИЭГ седиментационным методом прошло через более чем 30 суток. Сгущение биомассы центробежным и фильтрационным методами занимало от 1 до 3 часов. Однако в концентрате, полученным центробежным методом, зафиксировано, что часть микробной культуры остается в надосадочной жидкости, что не наблюдалось при получении продукта с использованием метода тангенциальной фильтрации. Достоверного снижения количества живых микробных клеток в концентратах, полученных всеми тремя способами, зафиксировано не было. Также не происходило ухудшение показателя – степень диссоциации. Исходя из полученных данных, можно сделать вывод о предпочтительности применения тангенциальной микрофильтрации для концентрирования биомассы *F. tularensis* вакцинного штамма 15 НИИЭГ.

ЭКСПРЕССИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ЭКТОДОМЕНА ЭФРИНОВОГО РЕЦЕПТОРА ТИПА A5 (ECD EphA5) В *E. COLI*

Богачева А.В., Кудин К.В., Жидецкий А.В.

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

bogacheva2195@mail.ru

Эфриновые рецепторы и их мембранные лиганды - эфрины играют важную роль в аксональном проведении, определении топографии связей и ангиогенезе. Рецептор EphA5 – один из немногих представителей эфринов. Белков, экспрессируемых почти исключительно в нервной ткани. Несмотря на то, что доменная структура ECD EphA5 хорошо изучена, принципы его взаимодействия с лигандом, как и особенности сигнальной трансдукции, остаются практически неизвестными. Одной из причин этого являются трудности, связанные с получением препаративных количеств данного белка.

Целью данной работы явилось получение ECD EphA5 мыши в системе экспрессии *E. coli*.

Для этого конструкция для экспрессии рекомбинантного эктодомена эфринового рецептора в составе вектора pET-32b (под контролем промотора T7-полимеразы и lac-оператора) была помещена в клетки продуцента *E. coli* OrigamiTM В, которые являются компонентами системы экспрессии, основанной на транскрипционных механизмах бактериофага T7 и предназначенной для индуцибельной экспрессии гетерологичных белков в клетках бактериальных штаммов. Последующие эксперименты по изучению продукции рекомбинантного эктодомена рецептора выявили нестабильность экспрессии данного белка в штамме *E. coli* OrigamiTM В. Поскольку причину нестабильности экспрессии установить не удалось, экспрессионная конструкция была перенесена в штамм-продуцент *E. coli* BL-CodonPlus-RIPL, позволяющий достигать высокого уровня синтеза природных вариантов чужеродных генов без изменения структуры их кодирующей последовательности. В результате такой манипуляции был получен стабильный штамм-продуцент, способный производить рекомбинантный белок размером около 55 кДа, что соответствует ожидаемому размеру эктодомена. EphA5. По данным денситометрического анализа, доля накапливаемого рекомбинантного белка в зависимости от типа используемой питательной среды составляет 30-40 % от общего клеточного белка. Иммуноферментный анализ с антителами Anti-6X His tag® (Abcam) подтвердил наличие предусмотренной конструкцией полигистидиновой метки в составе экспрессируемого белка. Дальнейшие эксперименты будут направлены на определение растворимости целевого белка и разработку методики его очистки.

МОРФОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ЭКСПЛАНТОВ РАСТЕНИЙ РОДА PRUNUS НА ЭТАПЕ ВВЕДЕНИЯ В КУЛЬТУРУ IN VITRO

Бриштен И.А.¹, Красинская Т.А.^{1,2}

¹Международный государственный экологический институт им. А.Д. Сахарова БГУ, Минск, Республика Беларусь; ²РУП «Институт плодоводства», а.г. Самохваловичи, Республика Беларусь

irabrishten@mail.ru

В селекции клоновых подвоев новых сортов вишни и черешни в последнее время используются нетрадиционные виды и разновидности Prunus, обладающие устойчивостью к коккомикозу, антракнозу, высокой зимостойкостью, декоративными особенностями, а также адаптивностью.

Объекты исследований - виды рода Prunus L.: W-12 (польская местная форма Prunus cerasus), P. fruticosa, P. sahalinensis, P. serrulata “Shirofugen”, сорт черешни Бютнера красная (P. avium).

Цель работы – изучить влияние генотипа растений рода Prunus на процессы каллусогенеза и регенерации растений на инициальной питательной среде в культуре in vitro. Источник эксплантов – одревесневшие черенки из селекционного сада Беларуси и Польши. Введение в культуру проводили в период покоя растений – 29-30 ноября. Экспланты - почки без кроющих чешуй (0,5 см). Схема стерилизации эксплантов: промывка под проточной водой с хозяйственным мылом, 0,5% бенлат (1 час), 70% этанол (5 сек), стерильная дистиллированная вода (1 мин), 30% перекись водорода (15 мин), стерильная дистиллированная вода (3 раза по 5 мин). На протяжении 34 дней культивирование проводили на модифицированной среде Мурасиге-Скуга с содержанием 1 мг/л 6-БАП и 0,2 мг/л ИМК.

В результате исследований была установлена достоверная зависимость доли инфицированных эксплантов от генотипа: максимальная доля инфекции отмечалась у P. fruticosa (24,5%), в случае с P. avium и P. sahalinensis выбранная схема стерилизации оказалась оптимальной для получения полностью стерильной культуры. Таким образом, невысокая доля инфекции (10,7-24,5%) и полное отсутствие некротизации эксплантов у всех изучаемых видов свидетельствует об эффективности выбранных стерилизующих агентов - 0,5% бенлата и 30% перекиси водорода - для элиминации грибной и бактериальной инфекции.

Генотип растений также с высокой степенью достоверности определял способность эксплантов к регенерации в нормально развитые растения. Высокая доля нормально развитых растений отмечалась у *P. cerasus*, *P. sahalinensis* и *P. avium*, показатели которой варьировали от 86,7 до 100%. Достоверно ниже доля развитых растений-регенерантов была у видов *P. fruticosa* и *P. serrulata* “Shirofugen” (66,5 и 69,8% соответственно) за счет того, что выделенные экспланты этих форм на протяжении всего периода культивирования в рост не тронулись и не развивались. На первом этапе у *P. fruticosa* был отмечена активация процесса геммагенеза, а коэффициент размножения составил 1,5.

ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ НОВЫХ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ В ТЕХНОЛОГИИ МАЛОЖИРНЫХ ЙОГУРТОВ

Вафина А.И.¹, Никитина Е.В.^{1,2}, Ежкова Г.О.¹, Каюмов А.Р.²

¹Казанский национальный исследовательский технологический университет, Казань, Республика Татарстан, Россия; ²Казанский федеральный университет, Казань, Республика Татарстан, Россия
adelia88@mail.ru

Специфическое управление биохимическими процессами во внутренней среде организма осуществляется кисломолочными продуктами, с которыми поступают молочнокислые микроорганизмы. Кисломолочные продукты (в том числе и йогурт) принадлежат к наиболее востребованным продуктам массового спроса, поэтому именно они были выбраны в качестве объекта исследования.

Цель исследовательской работы - изучение способности сквашивать маложирное молоко новыми изолятами молочнокислых бактерий, а также оценка их перспективы использования в молокоперерабатывающей индустрии.

Для получения образцов кисломолочного продукта в лабораторных условиях получали ночную культуру каждого изолята, выращенную на маложирном молоке. Для готового продукта брали маложирное пастеризованное молоко, вносили стартовую культуру экспериментальных изолятов или йогуртовой закваски. Способность сквашивать молоко новыми изолятами проверяли по физико-химическим (содержание белков, жиров, лактозы и сухих веществ) и функционально-технологическим (уровень синерезиса и влагоудерживающая способность) показателям конечного продукта сквашивания.

Продукт с наилучшими комплексными свойствами был получен с помощью *Lactobacillus* sp. AG15 (процентное содержание белка - 3,925, жира - 0,340, лактозы - 0,118). По содержанию сухих веществ исследуемый образец характеризовался схожими значениями. В случае использования изолятов AG15 и AG16 наблюдается уменьшение количества молочного жира в 4 и в 2 раза соответственно, что свидетельствует о высокой липолитической активности этих изолятов. Йогуртовая закваска не обладала такой активной липазой. Учитывая, что синерезис является одним из показателей реологических свойств кисломолочных продуктов, его исследование имеет важное практическое значение. Наименьшая степень синерезиса молочного сгустка составляет 4 г воды/10г продукта и выявлена у продукта, полученного с использованием *Lactobacillus* sp. AG10. Это обусловлено низким содержанием (10,032 %) сухих веществ в этом образце, так как уменьшение их содержания способствует отделению сыворотки.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования новых изолятов для получения маложирных йогуртов. Дальнейшая работа будет направлена на исследование взаимовлияния йогуртовой закваски и новых изолятов лактобацилл в технологии получения молочнокислых продуктов пониженной жирности.

УЛУЧШЕНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЭНДОГЛЮКАНАЗЫ 2 МИЦЕЛИАЛЬНОГО ГРИБА *PENICILLIUM VERRUCULOSUM*

Вахрушева А.В.^{1,2,3}, Немашкалов В.А.³, Бубнова Т.В.³, Рожкова А.М.⁴, Зоров И.Н.⁴, Сеницын А.П.⁴, Габдулхаков А.Г.²

¹МГУ им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия; ²Институт Белка РАН, Пушкино, Россия; ³ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино, Россия;

⁴ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия
vakhrusheva.ann@yandex.ru

В настоящее время использование ферментных препаратов в качестве кормовой добавки является ключевым условием эффективного животноводства, главным образом, свиней и птицы. Основой комбикормов для сельскохозяйственных животных являются злаковые культуры, клеточная стенка которых содержит в своём составе труднорасщепляемые некрахмальные полисахариды (НПС). НПС обладают, так называемыми,

антипитательными свойствами, что приводит к уменьшению скорости прохождения корма по пищеварительному тракту, снижению его переваримости и эффективности всасывания питательных веществ.

Ключевыми ферментами, используемыми в качестве кормовой добавки для расщепления растворимых НПС, являются β -глюканазы, в число которых входят эндо-1,4- β -глюканазы (ЭГ2). Таким образом, целью данной работы является улучшение физико-химических свойств эндоглюканазы 2 промышленного грибного продуцента ферментов *Penicillium verruculosum*.

Структуры ЭГ2 и его комплекса с целлюбиозой были решены методом рентгеноструктурного анализа. На основании полученных структур были спланированы точечные аминокислотные замены, направленные на снижение ингибирования работы фермента продуктом реакции. Методом ПЦР с использованием геномной ДНК *P. verruculosum* в качестве матрицы был амплифицирован ген целевого фермента ЭГ2, содержащий необходимые мутации. Эти фрагменты далее были клонированы в шаттл-вектор. Полученные плазмиды были трансформированы в компетентные клетки *E. coli* для наработки ДНК.

На следующем этапе была проведена трансформация лабораторного штамма-реципиента *P. canescens*, что позволило получить рекомбинантные штаммы, продуценты мутантных форм ЭГ2 с последующим анализом их физико-химических свойств.

ИЗУЧЕНИЕ МЕЖОРГАННОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ НАНОАЛМАЗОВ МЕТОДОМ ЭПР ПОСЛЕ ВНУТРИВЕННОЙ ИНЪЕКЦИИ ЖИВОТНЫМ

Волкова М.Б.^{1,2,3}

¹ФГАОУ ВО Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия; ²ИБФ СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, Россия; ³МНЦИЭСО ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, Россия
maybemarina95@gmail.com

В последние годы нанотехнологии все активнее используют в биологии и медицине для решения широкого спектра задач. Важным аспектом в этой области исследований является изучение взаимодействия наночастиц с живыми организмами для объективной оценки их применимости в биомедицинских приложениях. В ИБФ СО РАН разработана технология получения модифицированных наноалмазов (МНА). Высокая коллоидная устойчивость МНА в дисперсионных средах открывает перспективы их использования в биомедицинских целях. Наличие в МНА парамагнитных центров позволяет осуществлять их регистрацию методом ЭПР-спектроскопии.

Целью работы является исследование межорганного распределения внутривенно введенных в организм мышей наноалмазов методом ЭПР.

Для экспериментов использованы МНА со средним размером кластеров в водных суспензиях $d_{50} = 70.6$ нм (Zetasizer Nano ZS, Malvern Instruments Ltd., Англия). В хвостовую вену мышей (самцы ICR массой 28-30 г) вводили гидрозоль МНА в дозе 40 мг наночастиц / кг массы. Через 2.5 часа животных умерщвляли и забирали кровь, печень, почки, легкие, сердце, головной мозг и мышцы бедра. Органы гомогенизировали, гомогенаты и кровь замораживали в жидком азоте и исследовали с помощью ЭПР Фурье-спектрометра Elexsys E580 (Bruker, Германия). По интенсивности ЭПР-сигнала, который пропорционален концентрации МНА, оценивали содержание наночастиц в биообразцах.

Установлено, что через 2.5 часа после внутривенного введения МНА животным наибольшее количество наночастиц аккумулируется в легких и печени – 24% и 18% соответственно от суммарного количества введенных в организм. Значительно меньшее (примерно на порядок) количество наночастиц было обнаружено в остальных изучаемых тканях. В целом, полученные данные создают предпосылки для использования метода ЭПР в изучении динамики межорганного перераспределения и элиминации МНА после их внутривенного введения в организм животных.

Исследования выполнены при финансовой поддержке РФФИ (грант № 16-04-00999).

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ПРОДУЦЕНТА КАРОТИНОИДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ LAETIPORUS SULPHUREUS LS 1-06 В УСЛОВИЯХ ИММОБИЛИЗАЦИИ НА МАТРИЦЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ

Гаврюшина И.А., Горяева О.В., Мучкинова Е.А.

ФГБОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва, Россия
irina-alekscandrovna2013@yandex.ru

В настоящее время в биотехнологии фармацевтических производств отмечается повышенный интерес к лекарственным базидиомицетам. Одним из таких представителей является вид *Laetiporus sulphureus* (Bull.)

Murrill, синтезирующий каротиноиды – латиловую кислоту. Латилловая кислота обладает иммуномодулирующими, антиоксидантными и противоопухолевыми свойствами. Продуцент *L. sulphureus* является труднокультивируемым в условиях жидкофазной ферментации. По этой причине для получения биомассы мицелия предполагается возможность использования бактериальной целлюлозы – биосовместимого и нетоксичного биополимера в качестве подложки.

В связи с этим, целью работы было подобрать оптимальные условия культивирования мицелия штамма *Laetiporus sulphureus* Ls 1-06 (ВКПМ F-982) на матрице бактериальной целлюлозы для выделения из него каротиноидных пигментов. Для достижения поставленной цели проводили монокультивирование штамма *L. sulphureus* Ls 1-06, совместное жидкофазное стационарное и погруженное культивирование со штаммом-продуцентом бактериальной целлюлозы *Gluconacetobacter hansenii* GH-1/2008 (ВКПМ В-10547) (Громовых и др., 2010) на синтетической питательной среде Н-5 (Фан Ми Хань и др., 2012). Полученные образцы мицелия экстрагировали в 96 % этаноле и исследовали методом ВЭЖХ при 450 нм. Количественное содержание каротиноидных пигментов в мицелии штамма *L. sulphureus* Ls 1-06 определяли фотометрическим методом (ГОСТ 13496.17–95 Методы определения каротина).

Исследования показали, что штамм *L. sulphureus* Ls 1-06 при монокультивировании и в условиях иммобилизации на матрице бактериальной целлюлозы на синтетической среде Н-5 формирует воздушный мицелий. При погруженном совместном культивировании со штаммом-продуцентом бактериальной целлюлозы *G. hansenii* GH-1/2008 на той же среде образует конгломераты – сферические пеллеты. Продуцент *L. sulphureus* Ls 1-06 синтезирует основные каротиноидные пигменты. Высокое количество каротиноидных пигментов - 0,22 % содержат образцы мицелия, полученные при стационарном культивировании в условиях иммобилизации на матрице бактериальной целлюлозы, чем при погруженном культивировании – 0,12 %. В чистой культуре *L. sulphureus* Ls 1-06 содержание каротиноидных пигментов составляет 0,15 %.

Результаты исследований свидетельствуют о том, что для получения наибольшего содержания каротиноидных пигментов в мицелии штамма *L. sulphureus* Ls 1-06 целесообразно проводить жидкофазное стационарное культивирование этого продуцента с иммобилизацией на матрице бактериальной целлюлозы.

СОХРАНЕНИЕ IN VITRO РЕДКИХ И ИСЧЕЗАЮЩИХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ БЕЛГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ

Гайдай П.А., Гуля Н.И., Зыбкина Д.Р., Маслова Е.В.

ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»)
gulia.natalya@yandex.ru

Одной из актуальных проблем современности является сохранение растительных ресурсов Земли. Это связано с развитием науки и методов исследования, которые позволяют находить новые активные формы веществ в растительных объектах, полезные для человека и его здоровья. Проблемы сохранения редких и исчезающих видов растительных организмов характерны и для территории Белгородской области. Установлено, что из 1400-1500 видов растений, распространенных на территории области, более 30 видов заключены в Красную книгу России, еще до 200 видов являются редкими и исчезающими на региональном уровне и требуют охраны.

Актуальность темы исследования обусловлена тем, что разработка технологий введения в культуру in vitro растений, численность популяций которых резко уменьшается, приобретает все большую значимость в современном мире в связи с непосредственными преимуществами данной группы методов.

Целью исследования является оптимизация технологии микроклонального размножения видов растений Белгородской области с целью их сохранения в банке in vitro.

Объектами исследования выступают семена редких и исчезающих видов растений: астрагала шерстистоцветкового (*Astragalus dasyanthus* Pall.), астрагала белостебельного (*Astragalus albicaulis* DC.), льна украинского (*Linum ucranicum* Czern.), василька Талиева (*Centaurea taliewii* Kleop.), проломника Козо-Полянского (*Androsace koso-poljanskii* Ovcz.), иссопа мелового (*Hyssopus cretaceus* Dubj.), василька русского (*Centaurea ruthenica* Lam.), черноголовки крупноцветковой (*Prunella grandiflora* (L.) Turra).

Для осуществления микроклонального размножения соблюдали условия строгой стерильности по методикам, принятым в работе с культурой клеток и тканей растений. В работе использовали модифицированные питательные среды Мурасиге-Скуга. Прорастание семян осуществляли на безгормональной среде без доступа света при температуре 22°C. Для дальнейшего роста растений-регенерантов подбирали отдельно для каждого вида состав питательных сред с добавлением цитокининов и ауксинов различной концентрации и культивировали в климатической световой камере при температуре 22°C.

В ходе исследований были получены растения-регенеранты вышеуказанных видов, что легло в основу генетического банка in vitro редких и исчезающих видов растений Белгородской области.

СОЗДАНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ КАРКАСОВ ПИЩЕВОДА НА ОСНОВЕ НАТУРАЛЬНОЙ ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗИРОВАННОЙ ТКАНИ НИЗШИХ ПРИМАТОВ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Гилазиева З.Е.¹, Архипова С.С.¹, Журавлева М.Н.¹, Карал-Оглы Д.Д.², Орлов С.В.², Тенчурин Т.Х.³, Чвалун С.Н.³, Маккиарини П.¹

¹Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Казань, Россия; ²Научно-исследовательский институт медицинской приматологии, Сочи, Россия;

³Национальный исследовательский центр Курчатовский институт, Москва, Россия
gilazievazarema@mail.ru

В современном мире достаточно распространены заболевания пищевода, единственным терапевтическим подходом которых является хирургическая реконструкция, включающая замещение органа или его части фрагментом желудка либо кишки. Однако реконструктивные операции сопряжены с высоким риском осложнений, ростом послеоперационной заболеваемости и смертности.

Тканевая инженерия создает альтернативный подход замены органов - создание биологически активных каркасов, обеспечивающих механическую поддержку для регенерации тканей. Одними из возможных источников таких каркасов являются децеллюляризованные органы, в которых удален материал, вызывающий иммунологический ответ у реципиента.

В настоящей работе был изучен децеллюляризованный пищевод обезьяны *Papio hamadryas*. Забор материала производился с соблюдением всех норм и правил этического комитета Научно-исследовательского института медицинской приматологии г. Сочи. Децеллюляризация пищевода проводилась в биореакторе Harvard Apparatus в 2 цикла с использованием 4% дезоксихолата натрия и ДНК-азы (2000 Ед/мл). Эффективность децеллюляризации подтверждали определением процентного содержания остаточной ДНК и окрашиванием ядер (DAPI). Полученный натуральный каркас пищевода был засеян аллогенными мезенхимальными стромальными клетками костного мозга 3 пассажа при культивировании в динамических условиях *in vitro*.

Результаты исследования подтверждают высокую степень сохранения коллагеновых и эластических волокон и биомеханических свойств децеллюляризованного пищевода в продольном и поперечном направлениях по сравнению с нативным контролем. Также было показано, что волокна экстрацеллюлярного матрикса пищевода низшего примата расположены случайно, а их средний диаметр составил 1.4 ± 1 мкм для мышечного слоя и 1.2 ± 0.6 для слизистого слоя. Была подтверждена биосовместимость децеллюляризованного пищевода с аллогенными мезенхимальными стромальными клетками, которые выживают и активно пролиферируют на полученном каркасе.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 14-45-00018.

ИНИЦИАЦИЯ КУЛЬТУРЫ IN VITRO СОРТА ВИНОГРАДА CRYSTALL

Дубовик Е.А., Красинская Т.А.

Международный государственный экологический институт А.Д. Сахарова БГУ, Минск, Республика Беларусь
dubovik.elizaveta@yandex.by

Мировая тенденция в современном виноградарстве – закладка маточников и промышленных насаждений оздоровленным посадочным материалом (Virus-free или Virus-tested). Для получения необходимого количества растений в короткие сроки широко используют культуру *in vitro*.

Цель работы - определить оптимальные условия для получения жизнеспособной стерильной культуры сорта винограда Crystall в условиях *in vitro*.

Источники эксплантов - однолетние плети с предварительно тестированных растений на наличие вирусов: Grapevine fanleaf virus (GFLV), Grapevine leafroll-associated viruses (GLRaV-1, GLRaV-2, GLRaV-3), Grapevine virus A (GVA), Grapevine fleck virus (GFkV), Strawberry latent ringspot (SLRV), Raspberry ringspot virus (RRV), Arabis mosaic (ArMV), Tomato black ring virus (TBRV). Введение в культуру проводили в период активного роста растений - 7 июля. Экспланты: почки без кроющих чешуй (0,5 см) и зеленые верхушки плетей длиной 1-1,5 см. Схема стерилизации эксплантов: промывка эксплантов под проточной водой (20 мин), 70% этанол (5 сек), стерильная дистиллированная вода (10 мин), 30% перекись водорода (10 мин), стерильная дистиллированная вода (3 раза по 10 мин). На протяжении 50 дней культивирование проводили на модифицированной среде Мурасиге-Скуга (MS) с различными цитокининами в концентрации 1 мг/л: 6-БАП и кинетин.

В результате исследований было установлено, что процесс каллусообразования на этапе инициации достоверно зависел от гормонального состава среды (кинетин стимулировал образование каллуса ($54,1\% \pm 9,32$)), который в большинстве случаев не являлся сдерживающим фактором морфогенеза растений-

регенерантов, и типа экспланта ($45,8\% \pm 13,56$ верхушечных черенков образовывали каллус). Из верхушечных черенков на среде с 6-БА получена более высокая доля нормальных растений ($47,2\% \pm 12,12$), что в три раза превышало данный показатель при культивировании в качестве эксплантов почек. 60% почек на среде с 6-БА останавливались в росте и не развивались. Доля инфекции при использовании 30% перекиси водорода была невысокой и варьировала от $16,6\% \pm 7,45$ до $22,2 \pm 7,95$ в зависимости от типа экспланта.

Таким образом, для сорта Crystall выбранная схема стерилизации, где основной стерилизующий агент - 30-% перекись водорода - эффективный для элиминации грибной и бактериальной инфекции и нетоксичный для растений. В зависимости от типа экспланта рекомендуется среда с разными цитокининами: для культивирования верхушечных черенков – 6-БА, для морфогенеза растений из почек – кинетин.

ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ЭФРИНА-A5 ИЗ ТЕЛЕЦ ВКЛЮЧЕНИЯ E.COLI

Жидецкий А.В., Богачева А.В., Чумаченко М.С.

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

Zhydzetski@bsu.by

Эфриновые рецепторы и их лиганды эфрины экспрессируются во время эмбриогенеза во многих тканях, участвуя в регуляции направления роста аксонов, образовании нейрональных связей при формировании топографических карт зрительной и двигательной систем, морфогенезе тканей, ангиогенезе, межклеточных взаимодействиях, а также играют важную роль в канцерогенезе, участвуя в неоангиогенезе, метастазировании и инвазии опухолевых клеток. В связи с этим данная группа белков представляет огромный интерес в качестве объектов целевой терапии рака и патогенеза тканей. Однако наработка целевых белков методом клонирования в штаммах-продуцентах зачастую приводит к накоплению рекомбинантного продукта в виде неактивных агрегатов – телец включения (ТВ) и требует разработки индивидуальных подходов к экстракции, методам очистки и рефолдинга целевого продукта.

Целью работы явилось выделение, очистка и рефолдинг рекомбинантного эфрина-A5.

Описанные условия отмывки ТВ, выделения, очистки и рефолдинга методом разведения получены в результате предварительного скрининга основных параметров данных процессов.

В результате оптимизации условий отмывки и солюбилизации телец включения были установлены составы растворов для отмывки (50 mM NaCl, 50 mM Tris) и солюбилизации (50 mM Tris-HCl, pH 8, 8 M мочевины, 5 mM β-меркаптоэтанол, 0,5 M NaCl.), позволяющие наиболее полно избавиться от примесных соединений небелковой природы с наименьшими потерями целевого белка, а также провести полную экстракцию эфрина-A5 из телец включения в мономерной форме.

При проведении концентрирования и очистки рекомбинантного эфрина-A5 из солюбилизата телец включения с применением металл-хелатной хроматографии на Ni-сефарозе удалось получить целевой продукт с чистотой около 80. Очищенный на данном аффинном сорбенте целевой продукт подвергали рефолдингу методом разведения.

На основании данных скрининга основных характеристик рефолдинг буфера для проведения ренатурации рекомбинантного эфрина-A5 была выбрана система на основе 20 mM Tris-HCl, pH 8, 50 mM сахара, 2,5 mM DTT, 50 mM NaCl с конечной концентрацией эфрина-A5 в ренатурирующей системе до 200 мкг/мл и разведением в 10 раз. В результате после сбора целевого белка на Ni-сефарозе удалось получить эфрин-A5 в мономерной форме и гомогенном состоянии.

ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ IN VITRO МЕРИСТЕМ РАЗЛИЧНЫХ СОРТОВ МЯТЫ ДЛЯ КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ

Загорская М.С., Егорова Н.А.

ФГБУН "Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма", Симферополь, Республика Крым, Россия

zagorskayamargo@gmail.com

Мята (*Mentha*), многолетнее травянистое лекарственное, эфиромасличное и пряноароматическое растение семейства Lamiaceae. Растительное сырье и получаемое из него эфирное масло широко используются в фармакологии, косметической и пищевой промышленности, а также в медицине. Препараты из растений мяты оказывают антисептическое, седативное, умеренное спазмолитическое, желчегонное, антиэметическое действие.

В ФГБУН «НИИСХ Крыма» на протяжении многих лет ведется селекционная работа и поддерживается обширная коллекция эфиромасличных сортов и селекционных образцов мяты. Для успешного проведения таких исследований необходимы эффективные методы ускоренного размножения. Для этого можно

использовать биотехнологический метод клонального микроразмножения *in vitro*, который позволяет не только быстро размножить ценные генотипы, но и получить оздоровленный посадочный материал.

Целью данной работы было изучение влияния сорта и цикла микроразмножения на морфометрические показатели в культуре меристем на первом и втором этапах клонального микроразмножения *in vitro*.

В качестве исходного материала использовали меристемы с двумя листовыми примордиями 3х сортов мяты: Ажурная, Бергамотная и Украинская Перечная. Для введения в асептическую культуру и микроразмножения применяли модификацию питательной среды Мурасиге-Скуга с добавлением БАП (1,0 мг/л) и ИУК (0,5 мг/л.).

При введении в культуру *in vitro* все сорта показали 100% приживаемость эксплантов. Уже на первой неделе культивирования отмечали развитие меристем. На этом этапе происходило активное адвентивное побегообразование (до 3,6 побега/эксплант), при этом развивались достаточно длинные побеги (до 37,7 мм). У сортов 'Ажурная' и 'Украинская Перечная' наблюдали формирование корней с частотой от 21,4 до 83,3%. Лучшее развитие микропобегов происходило у 'Ажурной', у которой почти все изученные морфометрические показатели (длина и количество побегов, число листьев, частота множественного побегообразования и др.) были значительно выше, чем у других сортов.

На втором этапе микроразмножения выявлено влияние сорта и цикла размножения на основные показатели развивающихся микропобегов и коэффициент размножения (К.Р.). Установлено, что большинство морфометрических параметров было выше в 1-м цикле размножения по сравнению со вторым и третьим. К.Р. в зависимости от сорта и цикла варьировал от 4,5 до 11,1. К.Р. в 1-м цикле был максимальным у 'Украинской Перечной', а к третьему – достоверно не различался у изучаемых сортов.

СЛИТЫЕ РЕКОМБИНАНТНЫЕ БЕЛКИ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*: ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ ИММУНОГЕННЫХ СВОЙСТВ

Зимина Е.М.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Москва, Россия
ziminka@yandex.ru

В России и за рубежом неоднократно предпринимались попытки создать препарат, способный защищать организм как человека, так и животного от инфекций, вызванных синегнойной палочкой (*Pseudomonas aeruginosa*). Синегнойная палочка является возбудителем целого ряда инфекций различной степени тяжести. В виду устойчивости микроорганизма к широкому спектру антибиотиков лечение синегнойной инфекции малоэффективно. С целью предупреждения заболевания создаются новые вакцинные препараты.

Цель исследования – получение слитых рекомбинантных белков, содержащих аминокислотные последовательности атоксической формы экзотоксина А и мембранных белков F (OprF) и I (OprI) *P. aeruginosa* и исследование их защитных свойств.

В плазмиде pET-28a(+) (Novagev) объединены гены *oprF* (1059 п.о.) и *atox* (1598 п.о.). Далее в эту плазмидную конструкцию встроили ген *oprI* (210 п.о.). Обе конструкции использовали для трансформации клеток *E.coli* штамма BL21(DE3).

При контролируемой экспрессии генов с добавлением ИПТГ в первом случае наблюдался синтез слитого рекомбинантного белка OprF-aTox (расчетная молекулярная масса 105 кДа), а во втором – рекомбинантного белка OprF-aTox-OprI (107,2 кДа). Наличие на N-концах белков последовательности из шести гистидинов сделало возможным очистку рекомбинантных белков на Ni-активированном сорбенте. Очищенные рекомбинантные белки OprF-aTox и OprF-aTox-OprI специфически реагировали с кроличьими иммунными сыворотками к OprF, анатоксину и белку OprI (в случае с OprF-aTox-OprI). Очищенный рекомбинантный белок OprF-aTox-OprI оказался более гомогенен (96,4% от всех синтезируемых белков) в сравнении с белком OprF-aTox (34,17%), значительная часть которого представляет собой укороченные формы целевого рекомбинантного продукта.

С целью исследования протективных свойств рекомбинантные белки вводились мышам внутрибрюшинно двукратно с двухнедельным интервалом, используя в качестве адъюванта гидроокись алюминия. Показано, что рекомбинантные белки проявляли защитный эффект при заражении животных живой вирулентной культурой *P. aeruginosa* в той же степени, что и препарат, состоящий из двух отдельных белков (OprF и анатоксина). Специфичность защитного эффекта подтверждалась увеличением в сыворотке крови иммунизированных мышей титров антител к составляющим рекомбинантных белков.

Полученные результаты позволяют исследовать слитый рекомбинантный белок OprF-aTox-OprI в качестве антисинегнойного вакцинного препарата.

СОЗДАНИЕ КОНСТРУКЦИИ ДЛЯ ЭКСПРЕССИИ БЕЛКА ЭРИТРОПОЭТИНА В КЛЕТКАХ ДРОЖЖЕЙ

Колковская Е.В., Голенченко С.Г., Прокулевич В.А.

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь
katerinakolkovskaya@gmail.com

Одним из наиболее распространенных заболеваний молодняка свиней является алиментарная анемия, которая заключается в снижении числа эритроцитов, а также снижении активности железосодержащих ферментов. Разработка препарата на основе рекомбинантного свиного эритропоэтина с использованием генно-инженерных подходов может явиться решением в борьбе с данным заболеванием.

Целью работы явилось создание конструкции, содержащей последовательность гена эритропоэтина для экспрессии данного белка в клетках дрожжей.

Для достижения поставленной цели из 7 пар праймеров, используя метод ПЦР, мы синтезировали последовательность гена эритропоэтина. Праймеры были разработаны таким образом, что продукт каждой реакции нёс области комплементарности для праймеров следующего этапа. Таким образом, синтез осуществлялся двунаправленно от центра к концам последовательности.

Последовательность, полученная в результате последней ПЦР, была встроена по сайтам рестрикции *NdeI* и *EcoRI* в вектор pET-24b, после чего полученную конструкцию перенесли в клетки *Escherichia coli* XL-1 Blue, а также в клетки *E. coli* BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL. Затем в клонах *E. coli* BL21-Еро индуцировали экспрессию с использованием IPTG в конечной концентрации 1мМ. Было установлено, что экспрессия целевого белка в исследованных клонах отсутствует. Секвенирование плазмидной ДНК из имеющихся клонов выявило, что в синтезированном нами гене имеется 3 замены азотистых оснований (А6→G6, А9→G9, А498→Т498). Две из них не привели к замене аминокислот в последовательности эритропоэтина, в третьем же случае произошла замена глутамата (Е) на аспартат в положении Е167. Замена находится в эволюционно вариабельной части белка на С-конце полипептидной цепочки и не должна повлиять на активность рекомбинантного белка. Далее с помощью метода ПЦР на 3'- конце последовательности гена эритропоэтина был введен сайт рестрикции для фермента *BamHI*, полученная конструкция была переклонирована по сайтам *NdeI* и *BamHI* в челночный вектор pAS2.

Таким образом, нами получена генетическая конструкция pAS2-еро, способная стабильно наследоваться в клетках дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, несущая кодирующую последовательность гена эритропоэтина под контролем промотора NMT.

БИОСИНТЕЗ ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ ИЗ ОЧИЩЕННОЙ ГЛЮКОЗЫ И ГЛЮКОЗО-СОДЕРЖАЩИХ ОТХОДОВ ДРЕВЕСИНЫ У ДРОЖЖЕЙ *YARROWIA LIPOLYTICA*

Лунина Ю.Н., Камзолова С.В., Моргунов И.Г.

ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина, Пушкино, Россия
luninaj@rambler.ru

Лимонная кислота (ЛК) является соединением, которое находит широкое применение в пищевой, фармацевтической, косметической и других отраслях промышленности. В Евросоюзе биосинтетические органические кислоты, в том числе ЛК, рассматриваются в качестве перспективных средств защиты растений, которые эффективны в отношении бактериальных и грибных фитопатогенов. ЛК, произведенная микробным синтезом, имеет статус GRAS и относится к безопасным продуктам.

Целью данной работы явилось изучение биосинтеза ЛК из очищенной глюкозы и глюкозо-содержащих гидролизатов древесины с помощью дрожжей *Y. lipolytica* в условиях периодического и непрерывного культивирования.

В результате проведенных работ установлено, что в условиях периодического режима в среде с очищенной глюкозой специально-селекционированный мутант *Y. lipolytica* № 15 на 192 ч синтезировал 100 г/л ЛК с выходом продукта (Y_{LK}), равным 63%. Показано, что в периодическом режиме активное кислотообразование продолжается всего 5-6 суток. Причиной снижения кислотообразующей активности продуцента являлось ингибирование высокими концентрациями ЛК в среде культивирования процесса кислотообразования. При применении отъемно-доливного метода активный биосинтез ЛК (68,1 - 69,3 г/л) продолжался в течение длительного времени (более 1250 ч). Показана принципиальная возможность получения ЛК из глюкозо-содержащих отходов гидролизатов опилок осины. Биомасса *Y. lipolytica* № 15 характеризуется высоким содержанием белка (26% от а.с.б.) и незаменимых аминокислот: валина, лейцина, лизина, метионина и др., что указывает на высокую кормовую ценность клеток.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-08-00702

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ВВЕДЕНИЯ ЛЕЩИНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (*CORYLUS AVELLANA* (L.) H. KARST.) В КУЛЬТУРУ IN VITRO

Малахова К.В., Зонтиков Д.Н., Марамохин Э.В.

ФГБОУ ВО "Костромской государственный университет", Кострома, Россия
malakhova.kv1@gmail.com

Лещина обыкновенная (*Corylus avellana* (L.) H. KARST.) является ценным растительным объектом в пищевой и фармацевтической промышленности. Метод клонального микроразмножения позволяет получить за относительно короткий временной срок большое количество оздоровленного высококачественного посадочного материала. На данный момент остается не разработанной методика клонального микроразмножения этой культуры для выращивания в промышленных масштабах. Кроме того, первоначальное введение растительных объектов в культуру in vitro зачастую сопряжено с определенными сложностями.

Цель исследования: усовершенствование методики введения в культуру in vitro лещины обыкновенной (*Corylus avellana* (L.) H. KARST.).

В качестве донорных эксплантов нами были использованы меристематические ткани, полученные из вегетативных почек побегов. Для получения асептических линий изучаемых объектов, а также стерилизации питательных сред использовались методы стерилизации согласно имеющимся рекомендациям. Наиболее оптимальным режимом стерилизации оказался следующий: погружение донорных эксплантов в 70° этанол (1 минута), 3% раствор гипохлорита натрия (15 минут), при данном режиме отмечена наименьшая контаминация эксплантов с сохранением их морфогенности (20% эксплантов). Характерным является то, что большее количество эксплантов было подвержено грибковой инфекции, обладающей известной устойчивостью к стерилизующим агентам. Для *C. avellana* использовалась питательная среда DKV с добавлением 100 мг/л мезоинозита, 2 мг/л глицина, 0,5 мг/л тиамина, 0,5 мг/л пиридоксина, 20 мг/л сахарозы, 5,0 мг/л агара. В качестве регуляторов роста был использован 6-БАП в концентрации 1,0 мг/л. Данный состав питательной среды оказался наиболее целесообразным для стимуляции ростовых процессов эксплантов *C. avellana*.

Таким образом, нами был подобран наиболее оптимальный режим стерилизации донорных эксплантов при введении изучаемого растения в культуру in vitro, а также усовершенствован состав питательной среды для получения оздоровительного высококачественного посадочного материала. Дальнейшая оптимизация состава питательной среды и регуляторов роста для клонального микроразмножения *C. avellana* может быть направлена на увеличение содержания биологически активных веществ.

ОСОБЕННОСТИ КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ ЛИМОННИКА КИТАЙСКОГО (*SCHISANDRA CHINENSIS* (TURCZ.) BAILL.) И ЭЛЕУТЕРОКОККА КОЛЮЧЕГО (*ELEUTHEROCOCCUS SENTICOSUS* (RUPR. & MAXIM.) MAXIM.) В КУЛЬТУРЕ IN VITRO

Марамохин Э.В., Зонтиков Д.Н., Малахова К.В.

ФГБОУ ВО "Костромской государственный университет", Кострома, Россия
maramokhin91@mail.ru

Лимонник китайский (*Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.) и элеутерококк колючий (*Eleutherococcus senticosus* Maxim.) в качестве эффективных адаптогенных растений представляют интерес в плантационном выращивании. Аспекты размножения этих культур в культуре in vitro представляют сложность в получении посадочного материала.

Цель исследования: усовершенствование методики клонального микроразмножения изучаемых растений в условиях in vitro.

Для введения в культуру in vitro были использованы метамеры побега и семена. Для получения асептических линий изучаемых объектов, а также стерилизации питательных сред использовались методы стерилизации согласно имеющимся рекомендациям. Выявлен наиболее оптимальный режим стерилизации: 70° этанол (1 минута), 3% раствор гипохлорита натрия (12 минут), при котором наблюдается наименьшая контаминация с сохранением морфогенности эксплантов. Семена подвергались кратковременному обжигу. Для *S. chinensis* использовалась питательная среда QL, для *E. senticosus* – среда MS с добавлением 100 мг/л мезоинозита, 2 мг/л глицина, 0,5 мг/л тиамина, 0,5 мг/л пиридоксина, 20 мг/л сахарозы, 5,0 мг/л агара. В качестве регуляторов роста в среде QL применяли 6-БАП 1,0 мг/л и ИМК 0,1 мг/л. В среде MS – 6-БАП 2,0 мг/л и 2,4-Д 1,0 мг/л. Эти среды показали наилучший результат по стимуляции морфогенеза, за исключением ризогенеза. На эксплантах изучаемых культур активно шел процесс геммогенеза с дальнейшим формированием побегов, а также процесс каллусогенеза особенно у *S. chinensis*.

Таким образом, нами был подобран оптимальный режим стерилизации эксплантов, а также оптимизирован состав питательных сред и регуляторов роста, что позволит получать оздоровленный посадочный материал данных культур.

Изучение особенностей культивирования *S. chinensis* и *E. senticosus* в культуре *in vitro* показало широкие возможности для успешного внедрения методов клонального микроразмножения с целью массового получения посадочного материала для дальнейшего традиционного выращивания, а также оздоровления этого материала и повышения устойчивости растений к фитопатогенам. Однако необходимо отметить, что исследования по оптимизации культивирования этих растений все ещё находятся на стадии разработки. Изучаемые культуры, безусловно, являются ценными с точки зрения хозяйственного использования, и это накладывает ответственность по дальнейшей работе по оптимизации условий выращивания этих культур *in vitro*.

АРХИТЕКТУРА ТЕЛЕМЕДИЦИНСКОЙ СИСТЕМЫ МОНИТОРИРОВАНИЯ ПЛОДА

Минаев И.С.^{1,2}, Минаев Н.С.^{1,2}, Сенин А.А.^{1,2}, Казанцев А.П.^{1,2}

¹Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия; ²Институт биологического приборостроения с опытным производством РАН, Пушкино, Россия
minaev.mai@inbox.ru

Мониторирование плода является актуальной задачей, имеющей большое социальное значение. Частота преждевременных родов составляет в настоящее время 11% (среднемировой показатель). Выхаживание недоношенных детей в 200-300 раз дороже выхаживания нормальных младенцев. Организация общедоступных телемедицинских сервисов мониторинга плода позволит значительно уменьшить частоту преждевременных родов за счет ранней диагностики и своевременного терапевтического вмешательства, благодаря своевременно полученной информации о заболевании плода или осложнении беременности.

Разработана архитектура телемедицинской информационной системы для внебольничного мониторинга плода и сопровождения беременности. В состав системы включается сервер баз данных, сервер приложений, Web-сервер, ftp-сервер. Разнообразные пользователи системы (врачи, пациенты, системные администраторы, администрация лечебных учреждений, разработчики, исследователи) взаимодействуют с системой, подключаясь к Web-серверу посредством разнообразных соединений, включая мобильный. Web-сервер взаимодействует с сервером приложений, а тот взаимодействует с сервером баз данных, интеграционным шлюзом, а так же ftp-сервером, обеспечивающим хранение, выборку и воспроизведение записей сигналов. Пользователи с мобильными устройствами (смартфон/планшет) имеют возможность соединяться напрямую с сервером приложений и ftp-сервером, минуя Web-сервер.

Нормальный режим использования системы состоит в следующем:

1. Новый пациент регистрируется врачом в картотеке системы.
2. Пациент в домашних условиях, самостоятельно проводит сеанс мониторинга. Данные обследования со смартфона/планшета пациента отправляются на ftp-сервер. Информация по текущему обследованию заносится в базу данных (БД).
3. Определяется вид оказываемой пациенту услуги. Генерируется задание на обработку новых данных соответствующими процедурами.
4. Генерируются отчеты для врача и других пользователей. Отчеты заносятся в БД.
5. В некоторых случаях, на основании отчетов, дополнительно генерируется оповещение, тревожный сигнал. Оповещение рассылается лечащему врачу и пациенту.

Предусматривается защита данных и всей системы самой высокой степени. Система легко масштабируема. Подразумевается перенос данной системы на облачные сервисы.

ОСНОВЫ АВТОМАТИЧЕСКОЙ СОНОГРАФИИ ПРИ МОНИТОРИНГЕ ПЛОДА.

Минаев Н.С.^{1,2}, Казанцев А.П.^{1,2}

¹Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия; ²Институт биологического приборостроения с опытным производством РАН, Пушкино, Россия
st.Denko@rambler.ru

Показана эффективность адаптивного Гауссовского чирплет-преобразования по сравнению с другими методами.

В основе автоматизации доплеровской ультрасонографии (сонографии) лежит обработка ультразвукового эхо-сигнала, получающегося при отражении зондирующего ультразвука от внутрисердечного кровотока и движущихся частей сердца, с учетом эффекта Доплера. Представление этого сигнала как результата частотной и амплитудной модуляции оказывается недостаточным, поскольку речь идет об интерпретации изменений сигнала в частотной и во временной областях. Решение можно искать среди разнообразных Вейвлет-преобразований. Но, как оказалось, они с одной стороны являются избыточными, с другой стороны неадекватны импульсным процессам в сердце плода. Хорошие результаты получаются при

использовании Гауссовского адаптивного чирплет-преобразования. Это преобразование выражается в виде линейной комбинации элементарных функций, чирплетов, представляющих собой короткие частотно-модулированные сигналы с линейным изменением частоты и с гауссовской амплитудной огибающей. Разложение на чирплеты имеет ясный физический смысл в контексте эффекта Доплера. Чирплет как бы описывает элементарную порцию (каплю) наблюдаемого с помощью доплеровского зонда объемного кровотока. Объединенные в непрерывном потоке они и воспроизводятся зондом как сонографический сигнал. Наблюдаемый объемный кровоток является суммой импульсных кровотоков из разных источников. Каждая составляющая суммарного кровотока воспроизводится доплеровским зондом с учетом угла инсонации, угла между направлениями оси доплеровского зонда и оси данной составляющей. Учитывается эффект инсонации, заключающийся в том, что при коллинеарности осей получается максимальный отклик, а при перпендикулярности отклик становится нулевым. Составляющие объемного кровотока, представленные в виде набора чирплетов, несут в себе диагностическую информацию в виде параметров, отражающих показатели внутрисердечной гемодинамики плода.

Разработан виртуальный инструмент на языке LabVIEW, который выполняет запись сонографического сигнала, разложение его на чирплеты, профилирование объемного кровотока, выделение его составляющих, оценку их параметров и вычисление гемодинамических показателей. В результате численных экспериментов с использованием этого инструмента было показано, что диастолическое отношение, измеренное этим инструментом и контрольным сканнером УЗДГ, отличались на величину порядка 2%.

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТАБОЛИЗАЦИИ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ ГРИБОВ *MORTIERELLA ALPINA*, ВЫРАЩЕННЫХ НА ГЛИЦЕРИН-СОДЕРЖАЩЕЙ СРЕДЕ С ДОБАВКАМИ РАСТИТЕЛЬНЫХ МАСЕЛ

Миронов А.А., Камзолова С.В.

ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина, Пушкино, Россия
asolfr@rambler.ru

Арахидоновая кислота (АК, 5, 8, 11, 14-цис-эйкозатетраеновая кислота) относится к омега-6 группе незаменимых полиненасыщенных жирных кислот и играет важную роль в метаболических процессах в качестве предшественника простагландинов (серии 2), лейкотриенов и ряда эйкозаноидов. АК является действующим началом лекарственных средств и компонентов диетпитания, предотвращающих атеросклероз, коронарные болезни сердца и ряд других заболеваний. Наиболее эффективными продуцентами АК считаются грибы рода *Mortierella*. Ранее в лаборатории физиологии микроорганизмов ИБФМ РАН был селекционирован штамм *Mortierella alpina* LPM-301, способный к синтезу АК на среде с глицерином.

Целью настоящей работы было изучение влияния добавок растительных масел к глицерин-содержащей среде и инкубации отфильтрованного мицелия на синтез АК штаммом *M. alpina* LPM-301.

Грибы выращивали в периодическом режиме на минеральной среде, содержащей нитрат калия (1.5 г/л), глицерин (3%) и 1% растительных масел (рН 6.0) при температуре 24°C в течение 7 суток. Использовали следующие растительные масла: рапсовое, подсолнечное, оливковое и льняное. Метаболизацию внутриклеточных жирных кислот и определение условий увеличения доли АК в липидах *M. alpina* LPM-301 исследовали путём инкубации отфильтрованного мицелия в чашках Петри в эксикаторе при комнатной температуре. Для контроля использовали мицелий, не подвергнутый инкубации. Жирнокислотный состав липидов анализировали методом газожидкостной хроматографии после предварительного кислотного метанолиза жирных кислот.

Выявлено, что в результате инкубации грибов *M. alpina* LPM-301, выращенных на глицерин-содержащей среде с добавками растительных масел, доля липидов уменьшается на 29 – 52%. При этом содержание АК в составе липидов возросло в 2,5 – 4,5 раза. Обнаружено весовое снижение доли пальмитиновой и олеиновой кислот (10 – 30% от контрольного уровня). Выяснено, что доля АК в пересчёте на литр среды была гораздо выше контрольного (134 – 260 %). Предположительно, увеличение содержания АК связано с уменьшением в составе липидов как насыщенных, так и ненасыщенных жирных кислот, в первую очередь, пальмитиновой и олеиновой кислот.

Таким образом, использование растительных масел в качестве добавочного субстрата для *M. alpina* LPM-301 и дальнейшая инкубация отфильтрованного мицелия позволяет существенно увеличить содержание АК. Можно рекомендовать использовать данный метод для промышленного получения липидов *M. alpina* с высокой концентрацией АК.

ИНЖЕНЕРИЯ ЭНДОГЛЮКАНАЗЫ 2 МИЦЕЛИАЛЬНОГО ГРИБА *PENICILLIUM VERRUCULOSUM*

**Немашкалов В.А.¹, Вахрушева А.В.¹, Матыс В.Ю.¹, Беккаревич А.О.¹, Бунова Т.В.¹,
Дашкевич Е.А.¹, Доценко А.С.², Рожкова А.М.², Сеницын А.П.²**

¹ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина, Пушкино, Россия

²ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия

vnemashkalov@gmail.com

Основными компонентами растительного сырья являются целлюлоза и гемицеллюлоза. Для глубокого гидролиза растительного сырья в современной промышленности применяют целлюлазные ферментные препараты, одним из основных компонентов которых является эндоглюканаза, катализирующая преимущественно расщепление аморфных участков целлюлозы. Следовательно, увеличение каталитической активности эндоглюканазы может привести, в конечном счете, к увеличению эффективности переработки растительного сырья.

Таким образом, целью данной работы заключалась в улучшении биохимических и каталитических свойств эндоглюканазы 2 из промышленного грибного продуцента ферментов *P. verruculosum*.

Известно, что изменение степени Н-гликозилирования приводит к значительному изменению активности фермента. Поэтому в структуре данного фермента были найдены сайты гликозилирования и осуществлены точечные а/к замены, которые привели к мутации сайтов Н-гликозилирования.

С помощью методов генной инженерии получены рекомбинантные штаммы, продуценты мутантных форм ЭГ2. В результате масс-спектрометрического анализа мутантных форм белков Н-гликозилирование было детектировано для сайтов N42 и N194, Н-связанные гликаны представляли собой высокоманнозные олигосахариды, в случае сайта N19 гликозилирование обнаружено не было.

Далее были исследованы биохимические свойства гомогенных белков. Установлено, что рН- и Т-оптимумы активности по β-глюкану не меняются или меняются незначительно. Однако две из трех осуществленных мутаций привели к увеличению каталитической активности ЭГ2 по специфическим субстратам β-глюкану и карбоксиметилцеллюлозе (КМЦ).

Для исследования осахаривающей способности мутантных и немутантных форм ЭГ2 был проведен гидролиз β-глюкана и измельченной осиновой древесины. Мутантные и немутантные формы ЭГ2 полностью гидролизуют β-глюкан за 3 часа. При этом гидролитическая способность мутантных форм N42A и N194A оказалась выше, а формы N19A – ниже способности немутантных форм. При гидролизе измельченной осиновой древесины различие в концентрации глюкозы наблюдалось через 24 часа гидролиза. Выход глюкозы в случае форм N42A и N194A был выше соответственно на 10,5 и 26,9%, в случае формы N19A – на 10,2% ниже по сравнению с немутантными формами.

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНЕРАЦИИ ТОКА БАКТЕРИЯМИ *GLUCONOBACTER OXYDANS*, ИММОБИЛИЗОВАННЫМИ НА ГРАФИТОВОМ ЭЛЕКТРОДЕ ПРИ ОКИСЛЕНИИ ГЛЮКОЗЫ И ЭТАНОЛА

Пташник И.В.^{1,2}, Китова А.Е.¹, Плеханова Ю.В.¹, Тарасов С.Е.¹, Решетилов А.Н.^{1,2}

¹ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина, Пушкино, Россия; ²Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия

ptashnik.ivan@yandex.ru

Электрохимические технологии находят широкое применение как высокоселективные и чувствительные аналитические методы для исследования структуры и состава различных материалов и сред. Они позволяют проводить анализ посредством регистрации и/или наложения малых токов (поляризации). Затем, по характеру изменения во времени сигналов тока и/или потенциала судят об анализируемой пробе. Распознавание биологически активных молекул с помощью биосенсоров, использующих клетки бактерий или ферменты – высокочувствительный и селективный метод анализа. Помимо этого, конструкция биосенсоров отличается быстротой анализа, работой при низких концентрациях, а также невысокой стоимостью анализа.

Целью данной работы являлось исследование биоэлектрохимических параметров окисления глюкозы и этанола клетками бактерий *Gluconobacter oxydans*, иммобилизованными на поверхности графитового спектрального электрода.

В качестве биологического элемента были выбраны клетки бактерий *Gluconobacter oxydans*, иммобилизованные в геле хитозана. Использование данного вида микроорганизмов обусловлено их уникальным метаболизмом, связанным с наличием фермента – РQQ-зависимая дегидрогеназа, заякоренной в клеточной стенке бактерий. Хитозан обеспечивает надежное закрепление клеток бактерий. В качестве основы биосенсора использовали графитовый спектральный электрод. Анализ проводили методом вольтамперометрии.

На циклических вольтамперных (ЦВА) характеристиках было показано увеличение сигнала тока в отрицательной области потенциалов при внесении субстрата, в качестве которого использовали глюкозу и этиловый спирт. Это справедливо для систем, содержащих как отдельно хитозан, отдельно клетки бактерий, так и для системы, в которой присутствовали и хитозан, и бактериальные клетки. Изменение силы тока во времени при добавлении субстрата при фиксированном потенциале было отмечено исключительно для систем, содержащих клетки бактерий и не были подтверждены для системы, содержащей только хитозан.

ЭКСПРЕССИЯ И ОЧИСТКА РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА ЧЕЛОВЕКА NY-ESO-1

Пушкова Е.Н.¹, Финашутина Ю.П.², Мисюрин В.А.², Мисюрин А.В.²

¹ООО "ГеноТехнология", Москва, Россия; ²ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина», Москва, Россия
pushkova18@gmail.com

Белок NY-ESO-1 относится к семейству NY-ESO-1/LAGE. Впервые был идентифицирован путем серологического анализа экспрессии рекомбинантных кДНК библиотеки (SEREX) мРНК аутологичной сыворотки больного раком пищевода. Представители данного семейства относятся к раково-тестикулярным антигенам, т.к. не экспрессируются в здоровых тканях, за исключением семенников. Активация экспрессии гена NY-ESO-1 происходит при различных раковых заболеваниях. NY-ESO-1 является одним из самых иммуногенных антигенов и способен индуцировать как гуморальный, так и клеточный ответ. Таким образом, белок NY-ESO-1 может быть подходящей мишенью для специфической иммунотерапии, и разработка вакцины на основе данного белка представляет собой перспективную задачу.

Целью нашей работы было получить высокоочищенный рекомбинантный белок человека NY-ESO-1. Для этого кодирующая последовательность белка NY-ESO-1 была искусственно синтезирована на основе 11 олигонуклеотидов размером от 50 до 70 н., (ЗАО «Евроген», Москва), методом 2-х стадийной полимеразной цепной реакции. Далее кодирующая последовательность белка была клонирована в плазмиду pET-15b и белок был экспрессирован в штамме E.coli BL21(DE3)pLysS. Подлинность нуклеотидной последовательности плазмиды и гена NY-ESO-1 была подтверждена прямым секвенированием по методу Сэнгера. Рекомбинантный белок NY-ESO-1 был очищен с помощью металл-аффинной хроматографии.

В результате нами была получена искусственно синтезированная кодирующая последовательность белка NY-ESO-1. Также, была получена плазида для экспрессии рекомбинантного белка NY-ESO-1 под контролем индуцируемого промотора в суспензионной культуре клеток E.coli на основе вектора pET-15b. Были подобраны условия для оптимальной экспрессии и очистки белка из бактериальных клеток. Выход целевого продукта составил 8 мг на литр бактериальной культуры. Согласно данным электрофореза, масса полученного продукта составила ~20 кДа, что соответствует массе природного белка NY-ESO-1. Чистота рекомбинантного белка также оценивалась по электрофореграмме и составляла 96%.

Таким образом, получен бактериальный продуцент рекомбинантного белка человека NY-ESO-1. Очищенный белок NY-ESO-1 может быть использован для широкого спектра исследований в онкологии и иммунологии, например, для получения специфических антител. На основе рекомбинантного белка NY-ESO-1 можно создавать противоопухолевые вакцины с применением адъювантов или дендритных клеток. Кроме того, с помощью этого белка можно оценивать специфический гуморальный ответ в сыворотке крови онкологических больных.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СИСТЕМ ДОСТАВКИ РЕПОРТЕРНОЙ ПЛАЗМИДЫ С ПОМОЩЬЮ ПРОИЗВОДНЫХ ХИТОЗАНА

Санков В.А.^{1,2}, Шагдарова Б.Ц.³, Гречихина М.В.¹, Свирщевская Е.В.¹, Есипов Р.С.¹

¹ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Москва, Россия; ²Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия;
³ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия
vsankov@icloud.com

Иммунизация ДНК-содержащими векторами позволяет решать ряд задач, таких как индукция иммунного ответа, для которого требуется внутриклеточная экспрессия белка; коррекция дегенеративных заболеваний; формирование противоопухолевого ответа и другие. Катионные липидные системы доставки, такие как Lipofectamine, Metafectene Pro, ScreenFect и другие, эффективны в культуре клеток *in vitro*, но при этом являются дорогостоящими. В свою очередь хитозан и его производные значительно дешевле в производстве и также могут являться кандидатами для доставки ДНК.

Целью данной работы было исследование эффективности использования производных хитозана в качестве системы доставки репортерной плазмиды pRFP, кодирующей красный флуоресцентный белок RFP, в клетки *in vitro*.

Проведенные нами ранее исследования показали, что немодифицированный хитозан не эффективен в доставке ДНК в клетки *in vitro*. Была поставлена задача исследовать ряд производных хитозана, модифицированных гидрофобными группами, для обеспечения лучшей адгезии к клеткам. Был синтезирован ряд ацилированных производных хитозана с молекулярной массой (ММ) от 5 до 50 кДа. Модифицированные хитозаны были получены взаимодействием с капроновым, масляным и уксусным ангридами, с различными степенями замещения (СЗ): от 10 до 30%. Клетки линии эмбриональной почки человека НЕК293 трансфецировали pRFP с помощью полученных производных хитозана. В качестве положительного контроля использовали липидные агенты Metafectene Pro и TransIt-Lt. Анализ образцов осуществлялся по экспрессии RFP с использованием конфокальной микроскопии и проточной цитометрии.

Показали, что эффективность трансфекции с помощью Metafectene Pro и TransIt-Lt составила около 80% на 48 ч. Из всех полученных производных хитозана только гексаноил-хитозан (ГХ) с ММ 20 кДа эффективно доставлял репортерную плазмиду в клетки. Другие производные не показали положительного результата. Эффективность трансфекции падала в ряду Metafectene Pro (80%)> TransIt-Lt (70%)> ГХ 20 кДа, СЗ 15% (40%)> ГХ 20 кДа, СЗ 30% (30%)> ГХ 20 кДа, СЗ 10% (25%). Таким образом, был определен достаточно узкий диапазон характеристик производных хитозана, необходимых для эффективной доставки ДНК в клетки. А именно, предпочтительно использование производных хитозана с ММ не менее 20 кДа и модифицированных гексаноильной группировкой. Использование производных хитозана для доставки ДНК в клетки открывает возможность разработки дешевых и безопасных систем для ДНК терапии различных заболеваний.

ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ФЬОЖН-БЕЛКА, СОДЕРЖАЩЕГО N-КОНЦЕВОЙ ФРАГМЕНТ АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА ЭСКУЛЕНТИНА-1В

Совгир Н.В., Бусленко А.В., Прокулевич В.А.

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь
sovgirnv@gmail.com

Антимикробные пептиды (АМП) являются перспективными антибактериальными агентами, так как могут быть использованы в качестве альтернативы антибиотикам, в особенности тем, к которым у микроорганизмов появляется устойчивость. АМП эскулентин-1b из кожных секретов прудовой лягушки (*Rana esculenta* L., 1758), обладает широким спектром антибактериальной активности, однако, экспрессия кодирующего его гена даже в составе рекомбинантных фьюжн-белков в клетках бактерий *Escherichia coli* не приводит к эффективному накоплению белкового продукта. Согласно литературным данным химически синтезированный N-концевой фрагмент эскулентина-1b длиной 18 а.о. также проявляет высокую антимикробную активность.

Целью данной работы является изучение экспрессии в клетках бактерий *E. coli* N-концевого фрагмента катионного АМП эскулентина-1b – эскулентина-b(1–20) в составе фьюжн-белка.

Эскулентин-b(1–20) (далее Esc-b(1–20)) включает первые 20 а.о. и полностью сохраняет положительный заряд (+5) полноразмерного эскулентина-1b при нейтральном значении pH. Белком-партнёром Esc-b(1–20) в работе выступает углевод-связывающий модуль (далее СВМТ) термофильных бактерий *Thermotoga maritima*. Крупный анионный белок СВМТ (310 а.о.) стабилизирует молекулу Esc-b(1–20) и нейтрализует его положительный заряд, уменьшая тем самым естественную активность Esc-b(1–20). Также СВМТ в целом повышает растворимость фьюжн-белка и облегчает его хроматографическую очистку при использовании дешёвой микрокристаллической целлюлозы в качестве сорбента. Гибридную генетическую последовательность, кодирующую фьюжн-белок СВМТ-Esc-b(1–20), клонировали в составе вектора для экспрессии pET-24b(+) в клетках бактерий *E. coli* BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL. Далее индуцировали экспрессию гибридного гена ИПТГ в конечной концентрации 0,5 ммоль/л при 37 °C.

В результате электрофоретического анализа белков *E. coli* установили накопление белка по массе соответствующего гибридного продукту СВМТ-Esc-b(1–20) (26,7 кДа), на долю которого приходится до 25 % от общего количества клеточных белков *E. coli*. В белке СВМТ-Esc-b(1–20) между углевод-связывающим модулем и АМП находится сайт узнавания для TEV протеазы (tobacco etch virus protease), наличие которого позволит отделить Esc-b(1–20) от белка-партнёра после очистки фьюжн-белка.

ПОЛУЧЕНИЕ МИКРОБНЫХ ЛИПИДОВ С ПОВЫШЕННЫМ СОДЕРЖАНИЕМ ПАЛЬМИТОЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Степанова Н.Н.^{1,2}, Моргунов И.Г.^{1,2}, Камзолова С.В.¹

¹ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина, Пушкино, Россия; ²Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия

nadinka_1994@mail.ru

Удобными биотехнологическими объектами для получения микробных липидов считаются дрожжи. Однако помимо способности к липидогенезу, немаловажное значение имеет состав жирных кислот (ЖК) у синтезируемых липидов. В настоящее время рассматриваются перспективы использования пальмитолеиновой кислоты (ПОК), которая при достаточных масштабах производства может найти широкое применение в медицине, косметологии, пищевой и технической промышленности, а также рекомендована как перспективное средство для защиты растений от фитопатогенов в сельском хозяйстве.

Основными источниками ПОК являются масло ореха макадамии (12-22%), облепиховое масло (22-43%), жир норки (15%). Использование природного сырья ограничивает получение ПОК в крупных масштабах и задаёт высокую стоимость данного продукта. Цена за масла с высоким содержанием ПОК (40% от суммы жирных кислот) на мировом рынке составляет \$320-340 за литр. К странам-производителям ПОК относятся США, Германия, Китай. В последние годы начал рассматриваться вопрос о перспективности микробиологического получения ПОК с использованием дрожжевых организмов.

Целью данной работы является селекция продуцента для получения микробных липидов с повышенным содержанием ПОК.

Объектами исследования были дрожжи различной таксономической принадлежности: *Debaryomyces*, *Trichosporon*, *Yarrowia*, *Candida*, *Blastobotrys*, *Aciculoconidium*, *Cryptococcus*, *Apiotrihim*. В качестве источника углерода использовали глюкозу. По оценке показателей роста, синтеза липидов и ПОК было выявлено, что штамм *Debaryomyces globosus* ВКМ Y-9539, синтезирующий до 304 мг/л ПОК, является перспективным продуцентом ПОК. Изучено влияние продолжительности культивирования на количество и состав липидов данного штамма. Установлено, что оптимальная продолжительность культивирования, обеспечивающая максимальный выход ПОК у *Debaryomyces globosus* ВКМ Y-9539, составляет 6 суток.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 17-58-560003. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Московской области в рамках научного проекта № 17-48-500445 p_центр_a.

ТЕХНОЛОГИЯ МОНИТОРИРОВАНИЯ ВНУТРИСЕРДЕЧНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ ПЛОДА

Казанцев А.П.¹, Медведева Д.А.², Субботина Л.М.², Минаев Н.С.², Минаев И.С.², Пономарева Ю.Н.³, Чацкис Е.М.⁴, Сенин А.А.¹, Миловидов Г.Д.², Байрамов С.С.²

¹ФГБУН Институт биологического приборостроения с опытным производством РАН, Пушкино, Россия;

²Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия; ³Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, Москва, Россия; ⁴Железнодорожная больница, Чита, Россия

telemed.ak@gmail.com

Конечной целью работы является технология внебольничного мониторинга плода для искоренения перинатальной заболеваемости. Первичная цель – автоматизация ультразвуковой сонографии сердца плода.

Применение широкодоступных бытовых доплеровских ультразвуковых датчиков и создание ориентированной на смартфоны системы домашнего мониторинга плода являются ключевыми позициями разработки. Предложено решение на основе пространственной решетки искусственных нейросетей для распознавания зависимых от ракурса профилей внутрисердечного кровотока плода с обработкой сигналов в персональной системе мониторинга фетоплацентарной гемодинамики. Обоснована эффективность технологии при применении уже с начала 2-го триместра беременности, что удовлетворяет требованиям ранней диагностики перинатальных заболеваний и осложнений беременности. Исследованы широко распространенные бытовые ультразвуковые мониторы – фетальные доплеры, и показано как они могут использоваться в дистанционной системе сонографического мониторинга внутрисердечной гемодинамики плода при поддержке вычислительного интеллекта (ВИ). Технология обеспечивает запись сонографического сигнала, выделение профилей объемного внутрисердечного кровотока плода, детектирование его сердечных циклов, распознавание предлежания плода и вычисление левого и правого диастолического отношения.

Выделены следующие фазы и операции сессии дистанционного мониторинга внутрисердечной гемодинамики плода:

1) запись и передача сонографического сигнала внутрисердечного кровотока плода;

- 2) профилирование внутрисердечного кровотока плода с использованием Гауссовского адаптивного чирплет-преобразования;
- 3) проверка профилирования на стереометрической модели внутрисердечного кровотока плода;
- 4) определение положения ультразвукового зонда в системе координат относительно сердца плода;
- 5) расчет диастолического отношения (при соответствующей экспозиции атриовентрикулярных клапанов);
- 6) распознавание предлежания плода на основании постоянства положения сердца в его теле.

Продемонстрированы следующие характеристики системы: 1) надежность детектирования сердечного цикла 90%; 2) распознавание предлежания плода 95%; 3) погрешность оценки диастолического отношения 1.5%.

Заключение: Работа доказывает реализуемость подхода внебольничного мониторингирования внутрисердечной гемодинамики плода с использованием фетального доплера и смартфона/планшета/ПК.

ОЧИСТКА ГИБРИДНОГО БЕЛКА ESC-C/LYSKHis, СОЛЮБИЛИЗИРОВАННОГО ИЗ ТЕЛЕЦ ВКЛЮЧЕНИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГУАНИДИН ГИДРОХЛОРИДА

Тарашкевич Ю.С., Совгир Н.В., Жидецкий А.В., Прокулевич В.А.

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь
julia10095@mail.ru

Функциональный аналог антимикробного пептида (АМП) эскулентина-1b (*Rana esculenta* L., 1758) – эскулентин-С, как и природные молекулы, активен в отношении ряда микроорганизмов. Согласно литературным данным АМП в клетках бактерий желательно получать в виде телец включения в целях повышения стабильности рекомбинантных пептидов, используя в качестве фьюжн-партнёров крупные малорастворимые белки. Однако этот способ получения предполагает дальнейшие солюбилизацию белковых агрегатов и рефолдинг, сопровождающихся потерями целевого продукта.

Целью данной работы является хроматографическая очистка гибридного белка Esc-C/LysKHis, солюбилизированного из телец включения с использованием гуанидин гидрохлорида (GdnHCl), и проведение скрининга основных условий рефолдинга с определением антибактериальной активности белка.

Наработку фьюжн-белка Esc-C/LysKHis, состоящего из эскулентина-С (Esc-C) и лизирующего фермента бактериофага К, меченного шестью остатками гистидина (LysKHis), проводили в клетках *E. coli* путём индукции экспрессии гена ИПТГ (0,5 мМ) в течение 4 ч при 37 °С, приводящей в этих условиях к образованию телец включения. Солюбилизацию белковых агрегатов проводили в буфере с GdnHCl (6 М) в качестве хаотропного агента. Условия рефолдинга белка Esc-C/LysKHis после солюбилизации подбирали согласно рекомендациям в инструкции к набору PROTEOSTAT («Enzo Life Sciences, Inc.»). Эффективными считали буферы, в которых после ренатурации Esc-C/LysKHis степень агрегации была наименьшей и обнаруживалась специфическая активность турбидиметрическим методом. Наибольшую активность белок проявил в буфере следующего состава: 50 мМ Трис-HCl, 20 мМ NaCl, 0,8 мМ KCl, 0,8 М L-аргинин, 5 мМ ДТТ, pH 6,8 при разведении в 3 раза до конечной концентрации GdnHCl 2 М.

Подобрали условия рефолдинга и провели его масштабирование, предварительно собрав целевой белок на Ni-сефарозе и удалив имидазол гель-фильтрацией на Sephadex G-25. Полученную фракцию подвергали ренатурации как описано выше и оставляли при 4 °С на ночь для её полного завершения. Однако при дальнейшем сборе белка на Ni-сефарозе не удалось получить достаточного количества целевого продукта для выявления антистафилококковой активности.

Таким образом, масштабирование процесса рефолдинга в подобранных условиях ренатурации не дало ожидаемых результатов получения активного целевого белка, что зачастую встречается на практике и требует проведения дальнейшей работы по оптимизации процесса ренатурации методом разведения или разработки более эффективных подходов.

ПОЛУЧЕНИЕ ДРОЖЖЕВЫХ СИСТЕМ ЭКСПРЕССИИ НА ОСНОВЕ ГЕНОВ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ

Трошагина Д.С., Баранова Д.С., Валеева Л.Р. Сулейманова А.Д., Шарипова М.Р.

ФГАОУ ВО "Казанский (Приволжский) федеральный университет", Казань, Республика Татарстан, Россия
dashunka@mail.ru

В современной индустрии кормления проблема недостатка усвояемого фосфора в питании животных стоит остро и обусловлена тем, что в кормовом зерне значительная часть фосфора представлена в виде нерастворимого и неусвояемого фитата. Микробные фитазы способны расщеплять фитаты с освобождением фосфатов и могут быть использованы в качестве добавок в корма животных. Кроме того, использование фитаз в

комплексе с протеазами может так же решить проблему расщепления белкового компонента кормов, которые образуют комплексы с фитатом.

Система экспрессии на основе дрожжей *Pichia pastoris* широко используется для получения рекомбинантных белков в исследовательских и прикладных целях, поскольку обеспечивает более высокий выход целевого белка и эффективную секрецию по сравнению с дрожжами *S. cerevisiae*.

Цель работы – получение дрожжевых систем экспрессии на основе генов бактериальных фитаз и протеазы.

Для экспрессии бактериальных ферментов в дрожжевых клетках *Pichia pastoris* использовали последовательности генов гистидиновой кислой фитазы *Pantoea* sp. 3.5.1 – *agpP* (AN KJ783401.1), бета-пропеллерной фитазы *Bacillus ginsengihumi* M2.11 – *phyC* и субтилизиноподобной протеиназы *Bacillus pumilus* 3-19 (AN AY754946.2), к структурным областям которых добавляли С-терминальный His-таг. Для корректной экспрессии бактериальных ферментов в дрожжах проводили оптимизацию кодонов нуклеотидных последовательностей генов, после чего гены ферментов были синтезированы и по отдельности клонированы в вектор pUC57 компанией Genscript (США). В работе использовали интегративные дрожжевые вектора pPINK-HC (высококопийный вектор) и pPINK-LC (низкокопийный вектор), а так же нуклеотидную последовательность высокоэффективного сигнального пептида гена α -фактора *Saccharomyces cerevisiae*, широко применяемую для продукции различных гетерологичных белков в *Pichia pastoris*. Проводили трехступенчатое лигирование вектора (pPINK-HC/ pPINK-LC), последовательности сигнального пептида и бактериального гена (*phyC/gseBi/agpP*), с последующей трансформацией лигазной смеси в клетки *E.coli* DH5 α . Трансформанты отбирали на среде с ампициллином (100 мкг/мл). Наличие генов идентифицировали с помощью ПЦР-анализа колоний трансформантов. Результаты секвенирования подтвердили корректность встраивания сигнального пептида и целевого гена в дрожжевые вектора.

Таким образом, мы получили генетические конструкции для интеграции в геном *Pichia pastoris* с последующей экспрессией бактериальных ферментов и внеклеточной продукции белков.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 16-14-00114.

СОЗДАНИЕ ЛЕНТИВИРУСНОГО ВЕКТОРА, НЕСУЩЕГО ГЕН КАЛЬЦИЕВОГО СЕНСОРА CASE12

Тутукова С.А., Епифанова Е.А., Борисова Е.В., Гавриш М.С., Бабаев А.А.

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород, Россия

tutukova.sveta@yandex.ru

Рекомбинантные лентивирусные векторы способны включить большой объем вставки целевого гена, могут обеспечить длительную экспрессию трансгена, индуцируют минимальный иммунный ответ организма хозяина и способны инфицировать делящиеся и неделящиеся клетки, поэтому являются часто используемыми векторами для доставки генов интереса в клетки. Генетически-кодируемый флуоресцентный биосенсор Case12 позволяет анализировать колебания внутриклеточных ионов кальция в широком диапазоне физиологических концентраций от сотен наномоль до микромоль. Вирусный вектор, несущий последовательность кальциевого сенсора Case12, поможет в оценке функционального состояния клеток нервной системы в экспериментах *in vitro* и *in vivo*, так как ионы кальция контролируют и регулируют обширнейший диапазон клеточных процессов.

Целью данной работы было сконструировать лентивирусный вектор, несущий ген кальциевого сенсора Case12 под промотором CMV.

Сборка вирусного вектора происходит с помощью трех хелперных плазмид, кодирующих белки капсида вируса и регуляторные элементы, и шаттл-плазмиды, несущей ген интереса. Основой плазмиды-шаттл была плаزمида pLV-CMV-GFP. В ходе работы была подобрана система праймеров Case12-KpnI-fw и Case12-EcoRV-rv, используемая при амплификации кальциевого сенсора Case12, в состав которых внесены сайты рестрикции для последующей рестрикции и лигирования в конструируемый вектор. Также были определены температуры и время реакции, позволяющие амплифицировать олигонуклеотидную последовательность кальциевого сенсора Case12. Затем клонируемый фрагмент Case12 был вырезан и очищен, обработан рестриктазами EcoRV и KpnI, также этими рестриктазами была обработана плазмиды и проведено лигирование. Затем было выполнено трансформирование компетентных клеток *E. coli* TopTEN продуктом лигазной реакции. Далее сконструированная плазмиды была выделена из клеток *E. coli*, наличие клонируемого фрагмента Case12 в плазмиде было подтверждено с помощью реакции рестрикции и ПЦР. Сборку лентивирусного вектора осуществляли в клеточной линии эмбриональной почки человека HEK293T. Трансфекцию культуры проводили кальций-фосфатным методом. Вирусные частицы выделяли из культуральной среды и чистили с помощью ультрацентрифуги.

В результате данной работы была сконструирована генно-инженерным путем шатл-плазида, включающая последовательность Case12, наработана, очищена и с использованием хелперной системы собран лентивирусный вектор, несущий ген кальциевого сенсора Case12 под промотором CMV.

РАЗРАБОТКА СЕНСОРНОЙ В-КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ С ПОВЕРХНОСТНОЙ ЭКСПРЕССИЕЙ ЗАРОДЫШЕВОЙ ФОРМЫ ВИЧ-СПЕЦИФИЧНОГО ШИРОКО НЕЙТРАЛИЗУЮЩЕГО АНТИТЕЛА 10E8

Черникова Д.С.

Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия; Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия
daria_chernikova@mail.ru

Основным препятствием при разработке вакцины против ВИЧ является огромное генетическое разнообразие возникающих вариантов ВИЧ: большинство антител, появляющихся при иммунизации традиционными ВИЧ-антигенами, являются специфичными к определенному вирусному изоляту. Очевидно, что для эффективной защиты организма от заражения ВИЧ, вакцина должна индуцировать образование антител, способных нейтрализовать максимальное количество генетических вариантов этого вируса. На сегодняшний день одним из важнейших направлений в разработке вакцины против ВИЧ-инфекции является разработка иммуногенов, способных индуцировать аффинное созревание антител, демонстрирующих высокую нейтрализующую способность – так называемых широко нейтрализующих антител (далее bnAb). Для поиска таких иммуногенов и оценки эффективности активации ими В-клеток, несущих на своей поверхности незрелую форму bnAb, необходимо создание тест-системы, максимально приближенной к человеку. Такой клеточной моделью может служить линия-сенсор с поверхностной экспрессией зародышевой формы ВИЧ-специфичных bnAb в виде В-клеточных рецепторов.

Задачей данного исследования было разработать именно такую, функциональную и стабильную, сенсорную линию с поверхностной экспрессией gl10E8, - зародышевой версией ВИЧ-специфичного антитела 10E8. Выбор данного антитела обусловлен его широчайшим нейтрализующим потенциалом, достигающим 97-99%, что является одним из лучших показателей среди всех bnAb, активных в отношении ВИЧ.

В ходе данной работы путем молекулярного клонирования была создана лентивирусная конструкция, кодирующая сенсор на основе gl10E8. Для наработки вирусных частиц была проведена котрансфекция клеточной линии HEK293T полученной лентивирусной конструкцией с паковочными плазидами. Затем, этими вирусными частицами была трансдуцирована клеточная линия В-клеточной лимфомы человека DG-75. Трансдуцированные клетки были отобраны по устойчивости к зеоцину, что в свою очередь позволило нам выделить моноклоны, различающиеся уровнем поверхностной экспрессии gl10E8. Используя метод Ca-flux, мы показали, что полученная сенсорная линия DG-75(gl10E8) функциональна. В настоящее время эта линия используется для тестирования невирусных иммуногенов, способных связываться с зародышевой формой антитела 10E8. Так, при инкубации кандидатного иммуногена с сенсорной линией о наличии взаимодействия между ними можно судить, используя FACS-анализ, а способность данного иммуногена активировать В-клетку, несущую на поверхности зародышевую форму широко нейтрализующего антитела можно оценить, используя метод Ca-flux.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 16-04-00915)

ВЫДЕЛЕНИЕ ФОСФАТМОБИЛИЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В КАЧЕСТВЕ ПРОДУЦЕНТОВ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ.

Шабанова Н.Ю.^{1,2}, Немойкина А.Л.^{1,2}, Сюзёва О.А.¹

¹ООО Арт Лайф, Томск, Россия; ²ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», Томск, Россия
schabanowa.nataliya@yandex.ru

В последние годы растет интерес к «органической» сельскохозяйственной продукции, получаемой без применения искусственных, химических препаратов, широко используемых в современном агробизнесе для повышения продуктивности производства. Одним из развивающихся направлений в этой сфере является разработка и использование биопрепаратов на основе микроорганизмов, обладающих ценными свойствами как для поддержания плодородия почвы, так и активизирующими развитие растений. Фосфатмобилизующие бактерии способны переводить трудно растворимые фосфаты в доступное для растений состояние. Бактериальные удобрения на основе фосфатмобилизующих бактерий могут заменить химические фосфорные удобрения.

В пяти районах г. Томска взяты образцы почвы для выделения фосфатмобилизирующих бактерий. Поля, с которых отбирались образцы, были удалены от дорожных сетей, почва отбиралась осенью. Всего было отобрано 200 образцов почвы для выделения фосфатмобилизирующих бактерий. В 50 почвенных образцах были обнаружены бактерии со способностью мобилизовать фосфор. Выделение и определение фосфатмобилизирующей активности производилось на селективной среде Муромцева с добавлением фосфата кальция ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$). Для анализа цифровых изображений зоны мобилизации фосфора использовали компьютерную морфометрию в программе ImageJ (разработка National Institutes of Health, США). Статистическая обработка данных проводилась с использованием непараметрического критерия Вилкоксона – Манна – Уитни.

Наивысший результат по фосфатмобилизации показали штаммы №4.2ПС, 4.7ПС, 4.6ПС, 4.3ПС, выделенные из почв №4 (район п. Светлого) – а также почв №1 (штаммы 1.2ПТ, 1.9ПТ, 1.27ПТ (район с. Тимирязевское)) – диаметр мобилизации фосфата составил 2,3 и 2,5 сантиметра соответственно. Наименьшей способностью к фосфатмобилизации обладали штаммы, выделенные из почв №3 и №5 (№ 3.4ПК, 3.9ПК и №5.45ПА, 5.76ПА (район д. Кисловка и с. Аникино соответственно)) – диаметр выявлен 0,3 сантиметра. Промежуточные результаты показали штаммы №2.45ПП, 2.32ПП с почв №2 (район стадиона Политехник г. Томска) – диаметр составил 1,7 сантиметра. Различия между тремя описанными группами участков были статистически значимыми. Микроорганизмы из почв №1, №2 и №4 (штаммы №4.2ПС, 4.6ПС, 4.3ПС, 1.9ПТ, 1.27ПТ) являются перспективными для разработок на их основе биопрепарата. На данный момент проводится их идентификация и изучение ростостимулирующей активности.

ОСОБЕННОСТИ СОМАТИЧЕСКОГО ЭМБРИОГЕНЕЗА КЕДРА СИБИРСКОГО В УСЛОВИЯХ IN VITRO

Шуклина А.С.

Институт леса им. В.Н.Сукачева СО РАН, Красноярск, Россия
Alla.Saymova@yandex.ru

Кедр сибирский (*Pinus sibirica* Du Tour) является не только одним из основных лесообразующих видов в горах Южной Сибири, но также трудноразмножаемым видом из-за длительной стратификации семян. Технология микрочлонального размножения через соматический эмбриогенез может стать одним из перспективных способов быстрого высокоурожайного размножения для данного вида. К настоящему времени эмбриогенные культуры были индуцированы у 27 видов рода *Pinus* и у более половины из них получены растения-регенеранты.

Для индукции соматического эмбриогенеза в качестве эксплантов использовали зиготические зародыши на стадии инициации семядолей. Всего было введено в культуру около 1200 зиготических зародышей женских шишек с 33 деревьев. Перед введением в культуру *in vitro* зиготических зародышей их стерилизовали в гипохлорите натрия в течение 15 минут, с последующим трехкратным промыванием в стерильной дистиллированной воде. В качестве экспланта использовались зиготические зародыши, которые извлекались из мегагаметофитов и в условиях ламинар-бокса помещались на питательную среду LV (Litvae, 1985) с пониженной в два раза концентрацией макроэлементов, дополненную сахарозой (30 г/л), казеином (0,5 г/л), мезоинозитом (1 г/л) глутамином (1 г/л) и аскорбиновой кислоты (0,3 г/л), и базовую питательную среду DCR (Gupta and Durzan, 1985), дополненную сахарозой (30 г/л), казеином (1 г/л), мезоинозитом (1 г/л), глутамином (0,5 г/л) и аскорбиновой кислотой (0,3 г/л). В качестве регуляторов роста для обеих сред использовали комбинацию 2,4 D (2,4 – дихлорфеноксусную кислоту) и 6-БАП (6-бензиламинопурина) в концентрациях 2 мл/л и 1 мл/л, соответственно, pH среды доводили до 5,7 перед автоклавированием. Для пролиферации полученных культур использовали такие же питательные среды, но с пониженным содержанием сахарозы (20 г/л) и 6-БАП (0,5 г/л).

Результаты исследования показали, что при введении в культуру *in vitro* эксплантов в области зародышевого корешка наблюдалось образование каллуса на 4-10 сутки культивирования. Цитологический анализ культур показал растяжение соматических клеток. К концу стадии инициации (30 сут.) 26,3% калусов некротизировались и отмирали. С последующей пересадкой на среду пролиферации удлинённые клетки претерпевали асимметричное деление и формировали эмбриональную инициаль и эмбриональную трубку. Через 3 пассажа, каллусы 42,5% деревьев полностью некротизировались и отмирали. На настоящий момент (7 месяцев в культуре) продолжают сохранять жизнеспособность 6,7 % эмбриогенных культур.

ИЗУЧЕНИЕ ЭЛЕКТРОГЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА МИКРОБНЫХ МАТОВ ТЕРМАЛЬНЫХ ИСТОЧНИКОВ И СОДОВО-СОЛЁНЫХ ОЗЁР РЕСПУБЛИКИ БУРЯТИЯ

Юрьев Д.А.¹, Зайцева С.В.²

¹НИИ биологии "Иркутского государственного университета", Иркутск, Россия; ²ФГБУН Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, Улан-Удэ, Республика Бурятия, Россия
starcatty1666@gmail.com

Микробные маты часто развиваются в экстремальных местообитаниях и представляют интерес как для фундаментальных исследований по микробной экологии, так и для разнообразных практических применений, в том числе: для очистки сточных вод, биоремедиации, в сельском хозяйстве, в качестве альтернативных источников энергии. Перспективным направлением является использование микробных матов в микробных топливных элементах (МТЭ). Последнее позволяет утилизировать энергию отходов и различных компонентов сточных вод (Патент на полезную модель № 151764 от 24 июня 2014).

В данной работе использовались микробные маты, выделенные из термальных источников (Умхей (47,0 °С, pH – 10,0, минерализация – 0,3 г/л), Кучигер (36,0 °С, pH – 9,8, минер. – 0,5 г/л)) и содово-солёных озёр Бурятии (Верхнее Белое (25,0 °С, pH – 10,0, минер. – 9,6 г/л), Сульфатное (20,0 °С, pH – 9,6, минер. – 12,2 г/л)).

Изучение электрогенных свойств выделенных матов проводили на модельной сточной воде (МСВ, ГОСТ Р 50595-93) с пептоном, в качестве субстрата, концентрацией 0,15 г/л, pH анолита и католита соответствовало местам выделения матов ($\pm 0,2$ ед.). Пробы с матами Верхнее Белое и Сульфатное инкубировали при комнатной температуре, МТЭ с пробами Кучигер и Умхей – при 36 °С в термостате. Время эксперимента – 3 суток. В качестве электродов в МТЭ использовалась углеродная ткань «Урал» Т22Р (ОАО «Светлогорскхимволокно», Республика Беларусь).

Проведённые эксперименты показали следующее: напряжение генерируемое матом Кучигер в МТЭ на 72 ч составило – 315 мВ, а сила тока – 894 мкА. Незначительный прирост электрических показателей отмечали в МТЭ с микробными матами Верхнее Белое и Сульфатное. Мат Верхнее Белое в течение 72 ч эксперимента генерировал напряжение до 100 мВ, сила тока возрастала до 140 мкА. Схожие показатели наблюдались и в МТЭ с матом Сульфатное – до 80 мВ (напряжение) и 200 мкА (сила тока). В то время как в контрольном МТЭ, содержащем МСВ с пептоном напряжение возрастало до 34 мВ, сила тока – до 66 мкА. Мат Умхей в условиях эксперимента практически не генерировал электричество – динамика была схожа с контрольным МТЭ (МСВ + пептон).

Таким образом, была показана электрогенная активность выделенных микробных матов из термальных и содово-солёных озёр Республики Бурятия. Перспективным биоагентом в МТЭ показал себя мат, выделенный из гидротермы Кучигер. Полученный материал позволяет предполагать возможное использование в МТЭ в качестве электрогена при утилизации компонентов сточных вод.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ № 16-48-030881.

ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ ОККЛЮЗИВНОГО И НЕОККЛЮЗИВНОГО ТРОМБООБРАЗОВАНИЯ В АРТЕРИЯХ

Якушева А.А.^{1,2}, Нечипуренко Д.Ю.^{1,3}, Пантелеев М.А.^{1,2,3}

¹Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия; ²ФГБУН Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва, Россия; ³ФГБУ «Национальный научно-практический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева», Москва, Россия

aa.yakusheva@physics.msu.ru

Одним из наиболее опасных последствий артериального тромбоза является полная закупорка сосуда тромбом при инфаркте миокарда или ишемической болезни сердца. Скорость тромбообразования зависит от скорости потока крови. Известно, что чем выше скорость потока, тем меньше отношение высоты тромба к его длине. Однако механизмы, регулирующие переключение между окклюзивным и неокклюзивным состоянием тромба, остаются неясны.

Цель данной работы состояла в исследовании изменения параметров потока и параметров роста тромбов различной длины в модели FeCl₃-индуцированного тромбоза, создающих различное гидродинамическое сопротивление.

Исследовался рост тромба в реальном времени с помощью видеомикроскопии. Повреждение сосуда создавалось тампоном с 7,5% FeCl₃ длиной 1 мм или 3 мм, который прижимался к левой части сонной артерии в течение 2,5 минут. Для прокраски тромба использовался DIOC6. Наблюдение за ростом тромба производилось в реальном времени с помощью флуоресцентного микроскопа, соединенного с CCD камерой.

Для определения параметров кровотока использовался доплеровский зонд, накладываемый ниже зоны тромбообразования. Время наблюдения составляло 40 минут. На основе данных была разработана математическая модель, с помощью которой исследовалось взаимосвязь между формированием тромба и параметрами потока.

Окклюзивные тромбы наблюдались у 1 из 6 мышей при размере повреждения 1 мм и у 5 из 6 мышей при повреждении 3 мм. Было показано, что процесс роста неокклюзивного тромба бифазен. Он включает период быстрого роста и период распада и стабилизации. Высота стабилизированной части всегда очень мала для обоих типов повреждений. Стабилизированный тромб занимает не более 40% сосуда. Среднее значение высоты стабилизированного тромба для 1 мм -- 90 ± 20 мкм, а для 3 мм -- 218 ± 35 мкм. Уменьшение высоты тромба при изменении скорости потока было описано математической моделью, основанной на гидродинамических особенностях системы. Такая модель описывала успешно динамику роста тромба (корреляция с экспериментом r^2 составила более 0,9), что указывает на корректную интерпретацию данных с точки зрения перераспределения давлений и скоростей потока крови в ходе тромбообразования.

В результате работы было установлено, что переход между окклюзивным и неокклюзивным состояниями происходит из-за разрушения тромба под действием гидродинамических сил на начальных этапах его роста. Геометрия тромба определяет значение силы, действующей на него со стороны потока, и является определяющим фактором в этом процессе.

ВЫЯВЛЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ПЕПТИДА ЭСКУЛЕНТИНА-А(1–1)

Янушкевич Д.М., Совгир Н.В., Прокулевич В.А.

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

dasha.yanushkevich@tut.by

В связи с развитием антибиотикорезистентности бактерий актуален поиск новых перспективных средств борьбы с патогенами. Активность антимикробного пептида эскулентина-1а (*Rana esculenta* L., 1758) против многих видов патогенных бактерий и грибов обусловлена его N-концевой областью длиной 21 а.о. – эскулентином-а(1–21) (далее Esc-a(1–21)). Ранее в клетках *Escherichia coli* нами был получен и очищен химерный белок 6xHis-SUMO-TEV-Esc-a(1–21) (далее HST-Esc-a(1–21)), в котором фьюжн-партнёром эскулентина-а(1–21) выступал малый убиквитин-подобный модификатор (small ubiquitin-related modifier, SUMO) дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, снабжённый гистидиновой меткой (6xHis-SUMO). Между пептидом и фьюжн-партнёром в белке находится сайт узнавания для TEV протеазы.

Целью данной работы являлось ферментативное отделение эскулентина-а(1–21) от белка-партнёра и проверка антибактериальной активности пептида.

Рекомбинантную TEV протеазу с полигистидиновым тегом получали в клетках *E. coli* и очищали путём металл-хелатной хроматографии с последующей гель-фильтрацией, после чего в концентрации 1,3 нМ использовали для отделения эскулентина от белка-партнёра. Для оптимизации протеолитического отщепления Esc-a(1–21) от фьюжн-партнёра готовили смеси с протеазой, в которых белок HST-Esc-a(1–21) находился в концентрациях 3,6 мкМ, 7,2 мкМ, 14,4 мкМ и 30 мкМ. Смеси инкубировали в течение ночи при +4 °С. Т.к. высвобожденный эскулентин обладает выраженной антибактериальной активностью, в каждом варианте смеси выявляли активность в отношении культуры бактерии *Pseudomonas aeruginosa* из коллекции кафедры микробиологии БГУ. Для этого суспензию клеток *P. aeruginosa* (6×10^8 КОЕ/мл) в физиологическом растворе инкубировали в течение 1 часа при 37 °С на водяной бане с полученными смесями белков, после чего высевали на поверхность твёрдой полноценной питательной среды.

В результате подсчёта сформировавшихся на агаре колоний установили, что число жизнеспособных клеток бактерий *P. aeruginosa* в перерасчёте на 1 мл уменьшается приблизительно на 2 порядка при увеличении концентрации пептида в смеси: с 6×10^8 КОЕ/мл в исходной суспензии клеток до 3×10^6 КОЕ/мл в смеси с концентрацией пептида Esc-a(1–21) 30 мкМ. Предварительные данные свидетельствуют о возможности изучения спектра антибактериальной активности полученного в результате ферментативного отделения от белка-партнёра рекомбинантного пептида эскулентина-а(1–21) в отношении других видов бактерий.

СЕКЦИЯ «ФИЗИОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ И БИОМЕДИЦИНА»

ПРОЦЕССЫ ЭНДОЦИТОЗА СИНАПТИЧЕСКИХ ВЕЗИКУЛ В НЕРВНО-МЫШЕЧНОМ СОЕДИНЕНИИ МЫШИ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ АЛЛОКСАНОВОГО И СТРЕПТОЗОЦИНОВОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА.

Альбова П.Е., Ярмиев И.З.

ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
albova.polina96@mail.ru

Для изучения осложнений сахарного диабета, заболевания связанного с нарушением работы поджелудочной железы, используют различные экспериментальные модели. Применяемые нами стрептозоцин и аллоксан являются наиболее исследованными веществами для создания модели сахарного диабета 1 типа. Стрептозоцин является токсическим соединением, избирательно проникающим в панкреатические бета-клетки островков Лангерганса поджелудочной железы посредством переносчика GLUT-2. Приводит к фрагментации ДНК бета-клеток, в ответ на которую активируется участвующий в репарации ДНК фермент полимераза (PARP). Развивающийся в связи с этим дефицит запасов кофактора NAD⁺ и энергетических субстратов в виде АТФ приводит к некрозу бета-клеток (Yamamoto H, 1981). Аллоксан вызывает избирательное повреждение проницаемости плазмолеммы бета-клеток, в результате обмен веществ в бета-клетках нарушается, и они погибают.

Целью нашего исследования было сравнение эндоцитоза синаптических везикул в нервно-мышечном соединении мышцы при экспериментальной модели аллоксанового и стрептозоцинового сахарного диабета.

Эксперименты проводили на изолированных нервно-мышечных препаратах диафрагмальной мышцы лабораторных мышей. Для исследования процессов эндоцитоза синаптических везикул в двигательном нервном окончании использовали флуоресцентный маркер FM 1-43, который обратимо связывается с пресинаптической мембраной и во время эндоцитоза оказывается внутри нервной терминали. Краситель присутствовал в ванночке с препаратом во время 1 минуты раздражения при частоте 50 Гц и в течение 7 минут после стимуляции. Для исследования процессов эндоцитоза использовали флуоресцентный микроскоп AxioScore A1 и черно-белую видеокамеру AxioCam. Экспериментальный сахарный диабет 1 типа вызывали однократной инъекцией аллоксана (250 мг/кг), либо стрептозоцина (80-100 мг/кг), контрольным животным вводился физиологический раствор в эквивалентных объемах. Измерение уровня глюкозы в крови проводили каждые 10 дней и на 45 день животные с уровнем глюкозы выше 9 ммоль/л выводились из опыта.

У контрольных животных при добавлении FM 1-43 на весь период во время стимуляции и после ее окончания свечение нервных терминалей составило 87 ± 3 о.е. ($n=13$). У животных как с аллоксановым сахарным диабетом, так и со стрептозоциновым происходило усиление свечения нервных терминалей до 96 ± 2 о.е. ($n=8$, $p<0.05$) и 92 ± 1 о.е. ($n=7$, $p<0.05$) соответственно.

Несмотря на различную химическую природу диабетогенного вещества мы наблюдали идентичные изменения в эндоцитозе синаптических везикул нервно-мышечного соединения мышцы.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ *DROSOPHILA MELANOGASTER* К СТРЕСС-ФАКТОРАМ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ ДЛЯ ОЦЕНКИ БИОЛОГИЧЕСКОГО ВОЗРАСТА.

Белый А.А.^{1,2}, Алексеев А.А.³, Москалев А.А.^{1,2}

¹ ФГБОУ ВПО Сыктывкарский государственный университет имени Питирима Сорокина, Сыктывкар, Россия;

² ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия; ³ ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

alichio13@gmail.com

Старение — это сложный процесс, связанный с накоплением в клетках и тканях ошибок, ведущих к прогрессирующему снижению физиологических функций и гомеостаза. Постепенное ухудшение механизмов реагирования на стресс может являться общим признаком старения для различных организмов. В данной работе мы попытались найти новый подход к определению биологического возраста *D. melanogaster* по данным стрессоустойчивости. Для мух различных возрастов (от 5 до 50 сут.) мы использовали окислительный стресс (паракват, ионы железа, меди и цинка), голодание, протеотоксический стресс (гипертермия, ионы кадмия), осмотический стресс и ответ на инфекционное заражение *Beauveria bassiana*.

Для анализа полученных экспериментальных данных нами предложена двухпараметрическая модель кривой вымирания, хорошо описывающая вымирание от различных стрессов. Для данной модели создан алгоритм оценки биологического возраста на основе сравнения распределения параметров модели, полученных для «эталонных» кривых и для кривой, соответствующей определяемому возрасту. Устойчивость предсказаний

была оценена с помощью бутстреппинга. Мы использовали алгоритм оценки точности предсказаний биологического возраста для рассмотренных стрессов и особей разного возраста и пола. В случае самок наилучшее качество предсказания наблюдается в варианте с 5 мМ CdCl₂ со средней погрешностью за период – 0.55 сут. для самцов наилучшие результаты получены при воздействии паракватом со средней погрешностью за период – 0.98 сут. В среднем по всем стрессам наша модель определяет биологический возраст с точностью – 2.17 сут.

Также, нами выявлены зависимости от возраста скорости изменения стресс-устойчивости, оцененной по параметрам кривых дожития. Во всех вариантах нами обнаружена высокая отрицательная корреляция между стрессоустойчивостью и возрастом. Самки дрозофил имеют более высокую стрессоустойчивость по сравнению с самцами (Hazard ratio = 0.5362). Наибольшее изменение выживаемости с возрастом у дрозофил наблюдали в случае окислительного и осмотического стресса. В наименьшей степени стрессоустойчивость изменялась в ответ на протеотоксический стресс и окислительный стресс при воздействии ионами железа и цинка в высоких концентрациях.

Исследование поддержано проектом программы фундаментальных исследований Президиума РАН № 15-4-4-23 (руководитель: д.б.н. Москалев А.А.).

КЛЕТОЧНЫЙ СОСТАВ И ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ОЧАГОВ ГЕМОПОЭЗА В ГОЛОВНОЙ ПОЧКЕ И СЕЛЕЗЕНКЕ МОРСКОГО ЕРША

Андреева А.Ю., Солдатов А.А., Кухарева Т.А.

ФГБУН Институт морских биологических исследований имени А.О. Ковалевского РАН, Севастополь
andreevaal@gmail.com

Рыбы, в сравнении с млекопитающими, обладают рядом отличий гемопоэза. Основными кроветворными органами является головная почка (пронефрос) и селезенка. Специализация каждого органа и его доля в гемопоэзе - видоспецифичный показатель. Отличия существуют и в морфологии форменных элементов. Известно также, что процессы эритропоэза в кроветворной ткани рыб протекают нерегулярно и сопряжены с нерестом.

Цель работы – исследовать клеточный состав и пролиферативную активность головной почки и селезенки у морского ерша (*Scorpaena porcus*) в период пассивного и активного эритропоэза.

Работа выполнена на взрослых особях морского ерша в период пассивного (декабрь-февраль) и активного (июнь-август) эритропоэза. Из образцов селезенки и головной почки готовили однородную суспензию. Суспензию использовали для изготовления мазков и анализа на проточном цитометре. Мазки окрашивали по комбинированному методу Паппенгейма. Для анализа содержания ДНК методом проточной цитометрии в пробах использовали краситель SYBR Green I.

В период пассивного эритропоэза методом проточной цитометрии в селезенке и пронефросе было выделено два многочисленных кластера крупных клеток ($47,1 \pm 3,7\%$ и $48,8 \pm 4,0\%$) и небольшое число мелких клеточных форм. Анализ мазков позволил установить, что основную массу субпопуляций крупных клеток в пронефросе составляли бластные формы всех направлений гемопоэза, макрофаги и незрелые форменные элементы. Мелкий кластер был представлен лимфоцитами, тромбоцитами, а также клетками, морфология которых соответствуют стволовым гемопоэтическим клеткам рыб. В селезенке основную массу клеток составляли стареющие эритроциты. Бластные и созревающие элементы не обнаруживались. Мелкие клетки были представлены формами по морфологическим признакам близким к элементам головной почки. Во время активного эритропоэза на мазках пронефроса отмечалось увеличение доли эритробластов а также появление этих клеток в образцах селезенки.

В период пассивного эритропоэза единственной группой делящихся клеток пронефроса являлись элементы с наивысшим значением прямого рассеяния. Доля пролиферирующих клеток составляла 39,6-74,3%. В селезенке делящихся элементов не выявлялось.

Во время летних измерений в пронефросе была отмечена пролиферация клеток среднего размера ($18,9 \pm 9,7\%$ делящихся клеток). Доля делящихся элементов среди наиболее крупных клеток достоверно увеличилась на 20%. В селезенке среди клеток со средней величиной прямого рассеяния отмечены размножающиеся клетки, доля которых составляла 22%.

ВЛИЯНИЕ СТАРЕНИЯ НА МЕХАНИЗМЫ ИШЕМИЧЕСКОЙ ТОЛЕРАНТНОСТИ ПОЧКИ

Андрианова Н.В.¹, Янкаускас С.С.², Плотников Е.Ю.², Зоров Д.Б.²

¹ГБОУ ВПО Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова Министерства здравоохранения РФ, Москва; ²НИИ Физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия
andnadya12@yandex.ru

Острое почечное повреждение (ОПП) является распространённой патологией с высокой смертностью. В большинстве случаев основным повреждающим фактором паренхимы почки при ОПП выступает ишемия и последующая реперфузия органа. Одним из методов, защищающих почку от повреждения, является ишемическое preconditionирование (ИПК).

Целью данной работы было исследование внутриклеточных механизмов ишемической толерантности почки, приобретаемой в результате ИПК, а также оценка влияния на эти механизмы процесса старения.

ОПП моделировали при помощи ишемии/реперфузии (И/Р) почки, которую осуществляли на крысах путём пережатия сосудистого пучка левой почки на 40 минут с последующим восстановлением кровотока. Часть крыс дополнительно подвергали ИПК, которое заключалось в 4-х циклах, состоящих из 15 секунд ишемии и 15 секунд реперфузии, непосредственно перед 40-мин ишемией. Все эксперименты проводили на молодых (4-5 месяцев), старых (20-23 месяца) и преждевременно стареющих крысах линии OXYS (4-5 месяцев). Тяжесть ОПП оценивали через 48 часов по показателям креатинина и мочевины в плазме крови.

Через 40 минут после И/Р на срезах зафиксированных почек исследовали уровень ацетилирования белков, окрашивание преимущественно затрагивало ядра клеток канальцев. У молодых интактных крыс наблюдали ацетилирование ядерных белков в 10% канальцев на срезе, у старых интактных крыс данный параметр был в 2 раза выше. Интактные крысы линии OXYS обладали еще большим уровнем ацетилирования белков. После И/Р процент канальцев с высоким уровнем ацетилирования белков возрастал у молодых, но не увеличивался у старых крыс. ИПК уменьшало уровень ацетилирования у молодых, однако, наоборот, увеличивало его уровень у старых крыс и крыс линии OXYS. Аналогичные тенденции наблюдались при подсчете процента проксимальных канальцев с высоким уровнем ацетилирования белков.

Через 24 часа после И/Р при помощи окрашивания витальных срезов красителем Lysotracker оценивали количество лизосом. У молодых крыс происходило значительное увеличение интенсивности флуоресценции Lysotracker после И/Р, чего не наблюдали в группе с предварительным ИПК. У старых и крыс линии OXYS увеличения интенсивности флуоресценции Lysotracker после И/Р и И/Р с ИПК не выявили.

Таким образом, ИПК оказывает защитное действие при И/Р почки у молодых крыс, уменьшая тяжесть ОПП, нормализуя процессы ацетилирования и аутофагии в ткани органа. Данные положительные эффекты исчезают у старых крыс и крыс линии OXYS.

Поддержано грантами РФФИ 16-34-01314; 14-04-00300; 17-04-02037.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВРЕМЕНИ ЖИЗНИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ФЛУОРОФОРОВ ЛИПОФУСЦИНОВЫХ ГРАНУЛАХ ИЗ КЛЕТОК РЕТИНАЛЬНОГО ПИГМЕНТНОГО ЭПИТЕЛИЯ КАДАВЕРНЫХ ГЛАЗ ЧЕЛОВЕКА БЕЗ ПРИЗНАКОВ ПАТОЛОГИИ

**Арбуханова П.М.¹, Яковлева М.А.², Фельдман Т.Б.³, Кузьмин В. А.², Борзенко С.А.¹,
Островский М.А.^{2,3}**

¹ФГБУ Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова; ²ФГБУН Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля РАН; ³ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия
pm.arbukhanova@mail.ru

Основным источником аутофлуоресценции (АФ) глазного дна являются липофусциновые гранулы (ЛГ), которые накапливаются в клетках ретинального пигментного эпителия (РПЭ) глаза человека в процессе старения и, особенно интенсивно, при некоторых патологиях, например, при возрастной макулярной дегенерации сетчатки (ВМД). ЛГ содержат более 20 флуорофоров, которые являются, в основном, производными полностью *транс*-ретины. Наиболее изученным из них является бис-ретиноилиденэтаноламин (А2Е). Компонентный спектральный анализ флуорофоров ЛГ может стать важным дополнением для развития диагностического метода АФ. В этой связи метод детектирования времени жизни аутофлуоресценции глазного дна позволяет, в том числе и *in vivo*, разделять флуоресценцию от различных флуорофоров. Целью данной работы было провести сравнительный анализ вклада различных флуорофоров ЛГ в общий спектр флуоресценции хлороформного экстракта из ЛГ, полученных из клеток РПЭ кадаверных глаз человека при помощи метода подсчета коррелированных во времени фотонов. Кадаверные глаза человека без

признаков патологии были получены из Глазного тканевого банка ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России. Измерения времени жизни флуоресценции (ВЖФ) были выполнены *методом счета коррелированных во времени фотонов*. При помощи метода высокоэффективной жидкостной хроматографии были получены отдельные фракции А2Е и продуктов фотоокисления и фотодеградации А2Е (А2Е_{дег}). Дана количественная оценка вклада отдельных флуорофоров или их групп в общую флуоресценцию хлороформного экстракта. Показано, что основной вклад в суммарный спектр флуоресценции при возбуждении длиной волны 488 нм дает фракция А2Е_{дег}. Проведен анализ кривых затухания флуоресценции для отдельных фракций хлороформного экстракта. Основным результатом анализа состоит в следующем: А2Е характеризуется очень маленьким ВЖФ по сравнению с хлороформным экстрактом. Это позволяет предположить, что вклад А2Е в общую флуоресценцию не может быть значительным. Результаты этих экспериментов подтвердили полученные ранее данные, что А2Е не является основным флуорофором ЛГ. *Результаты сравнительного анализа* времен жизни флуоресценции бисретиноидов и продуктов их фотоокисления и фотодеградации позволяют заключить, что метод *подсчета коррелированных во времени фотонов* может стать основой для расширения диагностических возможностей современного неинвазивного метода АФ глазного дна при ранней диагностике ВМД.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТЕОМНОГО ПРОФИЛЯ ТКАНИ ТРАВМИРОВАННОГО СПИННОГО МОЗГА

Ахметзянова Э.Р., Мухамедшина Я.О., Романова Ю.Р., Салафутдинов И.И., Лайков А.В.

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

elyaelya18@gmail.com

Травматическое повреждение спинного мозга запускает целый каскад неблагоприятных реакций, включающих апоптоз, окислительный стресс, изменения в метаболизме, дезинтеграцию цитоскелета и прочее. Существует множество белков, реагирующих на травму спинного мозга, и знание их влияния на указанные выше процессы представляет особый интерес для прогнозирования возможности посттравматической регенерации. Исследования временных и количественных изменений в белковом профиле травмированного спинного мозга дает нам возможность подбора новых эффективных подходов к терапии данного заболевания.

В качестве модели была выбрана дозированная контузионная травма спинного мозга крысы на уровне Th8, воспроизводимая при помощи импактора. На 30 сутки после операции производили забор ткани спинного мозга из эпицентра повреждения для последующего проведения протеомного анализа.

Нами было выявлено изменение содержания отдельных белков в ткани спинного мозга крыс после травмы по сравнению с показателями до травмы. В ходе масс-спектрометрического анализа нами было выявлено более 45 белков, имеющих как повышенную, так и пониженную концентрацию в области травмы спинного мозга при сравнении с интактной тканью. Проведенное исследование позволило определить потенциальные прогностические маркеры течения регенерации в период после травмы спинного мозга у животных. Существует необходимость продолжить поиск и валидацию маркеров у человека, сопряженных с посттравматической регенерацией, в том числе при помощи протеомного анализа ликвора пациентов с травматическим повреждением спинного мозга. Кроме того, выявление особенностей белкового профиля и посттравматических реакций у человека может способствовать созданию искусственной модели для тестирования новых лекарственных средств для лечения травматических повреждений ЦНС и нейродегенеративных заболеваний.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ (МК-1894.2017.7).

ИССЛЕДОВАНИЕ СОСУДИСТЫХ ЭФФЕКТОВ У СПОНТАННО-ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ КРЫС (SHR) В ОТВЕТ НА АКТИВАЦИЮ СИМПАТИЧЕСКИХ НЕРВОВ

Бабажанова В.А., Ережепова Г.Д., Матчанов А.Т.

Нукусский филиал Ташкентского Педиатрического Медицинского института, Нукус, Узбекистан

venus82@inbox.ru

Опыты проведены на 31 крысе SHR 5-7 месячного возраста. В качестве контрольной группы использовали 29 нормотензивных крыс линии Вистар-Киота (WKY) такого же возраста. Наркоз уретановый из расчета 1г/кг. Объектом исследования являлось мышцы задней конечности. Перфузию мышц осуществляли кровью подопытного животного с добавлением крови крысы-донора. Использовали два режима перфузии: под постоянным давлением ($P=Const$) и при постоянном притоке ($Q=Const$). Электрическую стимуляцию симпатической цепочки на ипсилатеральной стороне производили на уровне L4-L5 параметры стимуляции: длительность 5 мс, частота 20 имп/с, амплитуда равнялась двойному пороговому значению. Оценка реакций сосудов скелетных мышц осуществлялось по изменениям их резистивной функции (сосудистого

сопротивления), капиллярного гидростатического давления и коэффициента капиллярной фильтрации, методам волюмометрии экстракорпорально циркулирующей крови. Исходное перфузионное давление в скелетных мышцах устанавливали равным величине системного артериального давления у животного. Определенные различия результатов наших опытов с цитированными выше частично с различиями перфузируемых препаратов. В наших исследованиях перфузии подвергались только скелетные мышцы, тогда как в приведенных работах перфузировался кожно-мышечный препарат. Эта структурная неоднородность перфузируемой области может быть источником количественных даже качественных различий в сосудистых ответах при активации симпатических эфферентов при разных условиях перфузии сосудов, поскольку биофизические характеристики (например, растяжимость) кожных и мышечных сосудов существенно различаются.

Отсутствие в наших опытах различий у крыс WKY и SHR в изменениях коэффициента капиллярной фильтрации можно объяснить тем, что микроциркуляторное русло скелетных мышц у крыс SHR в возрасте 5-7 месяцев, вероятно, не отличается существенным образом от такового у крыс WKY, по крайней мере, в отношении адренореактивности прекапиллярных артериол, которая определяет число функционирующих капилляров.

Что касается капиллярного гидростатического давления, то, по-видимому, активация симпатических нервов вызывает у SHR и WKY пропорциональные сдвиги прекапиллярного и посткапиллярного сопротивления относительно их исходных значений в обеих группах животных, и таким образом, не возникает различий в изменениях капиллярного гидростатического давления.

РОЛЬ РЕЦЕПТОРОВ, АКТИВИРУЕМЫХ ПРОТЕИНАЗАМИ, В РЕГУЛЯЦИИ СИНАПТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ В МОТОРНЫХ СИНАПСАХ МЫШИ

Белоусова Ю.В., Гайдуков А.Е., Балезина О.П.

ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия
dzhulia.belousova@yandex.ru

PAR (Proteinase-Activated Receptor) – семейство G-белок сцепленных метаботропных рецепторов, активируемых как протеиназами гемостаза, так и синтетическими пептидами - PAR-агонистами. Использование PAR-агонистов выявило присутствие PAR и в нервных терминалах, где они участвуют в регуляции кальциевого гомеостаза и синаптической пластичности. Показано наличие PAR1 в моторных синапсах, но их роль в регуляции секреции ацетилхолина (АХ) – мало изучена. Целью работы было исследование действия экзогенного пептида-агониста PAR1 – TRAP6 – на параметры спонтанной секреции квантов АХ.

Эксперименты проводились на нервно-мышечном препарате диафрагмы мыши с использованием микроэлектродной регистрации миниатюрных потенциалов концевой пластинки (МПКП). Анализировали амплитуду МПКП, частоту и временной ход.

TRAP6 (1 мкМ) увеличивал амплитуду МПКП на 39% от контроля, не изменяя частоту и временной ход МПКП. В ходе отмывки от TRAP6 амплитуда МПКП не возвращалась к контрольным значениям. В присутствии специфического непептидного антагониста PAR1 – FR171113 (1 мкМ) - TRAP6 утрачивал способность увеличивать амплитуду МПКП.

Ингибитор везикулярной Н-АТФазы – бафиломицин А1 (0,5 мкМ) предотвращал прирост амплитуды МПКП, вызываемый TRAP6. Блокатор протеинкиназы А (ПКА) – H-89 (1 мкМ) также предотвращал возрастание амплитуды МПКП под действием TRAP6. Эти данные позволяют предполагать, что на пресинапсе следствием активации PAR1 является усиление накачки АХ в везикулу с участием ПКА, что приводит к росту размера кванта.

Анализ сигнальных механизмов выявил участие депонированного кальция в реализации эффектов TRAP6. Блокатор рианодиновых рецепторов рианодин (5 мкМ) – не изменил прирост амплитуды МПКП при аппликации TRAP6, однако полностью предотвращал увеличение амплитуды МПКП на отмывке.

Таким образом, впервые показано: активация PAR1-рецепторов экзогенным пептидом-агонистом приводит к росту амплитуды МПКП в моторных синапсах мыши за счет прироста размера кванта АХ с участием депонированного кальция.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА НА МОРФОЛОГИЮ И ПРОЛИФЕРАЦИЮ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Кузьменко В.В., Стойнова А.М., Станишевская И.Е., Станищевский Я.М.

ГОУ ВПО Институт биохимической технологии и нанотехнологии Российского Университета Дружбы
Народов, Москва, Россия
kuzmenko.valeria@gmail.com

Наночастицы серебра широко используются в костных и хрящевых трансплантатах благодаря своим антибактериальным и противовирусным свойствам. Исследования сосредоточены на изучении цитотоксичности, генотоксичности и клеточной дифференцировке, в зависимости от размера частиц, их концентрации и длительности экспонирования.

Исходя из литературных данных, наблюдается зависимость жизнеспособности клеток от концентрации и размеров частиц. Поэтому при использовании наносеребра необходимо синтезировать частицы определенной размерности и концентрации, а при добавлении в культуру клеток следить за изменением морфологии клеток.

Раствор наночастиц серебра получали с помощью восстановления танина в присутствии буферного раствора тетрабората натрия с pH=9: к 1000 мл дистиллированной воды добавляли 30 мл 0,05 М $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$, 20 мл 0,1% раствора танина. Затем отбирали 650 мл раствора и добавляли 2,5 мл 0,025М раствора AgNO_3 . Далее выпаривали жидкость до концентраций: 0,002% из соли AgNO_3 , 0,006% из соли AgNO_3 , 0,008% из соли AgNO_3 . Полученные суспензии анализировали с помощью метода кросс-корреляции фотонов (Nanophox): суспензия содержала наночастицы от 25 до 60 нм, пик на графике распределения в пределах от 30 до 50 нм.

В работе использовали мезенхимальные стволовые клетки (МСК), полученные из плаценты здоровых рожениц, после №2 пассажа. Культура клеток отвечала требованиям, предъявляемым к МСК: CD34-, CD45-, CD14-, CD20-, CD44+, CD73+, CD90+, CD105+.

Схема опыта:

1. Контроль: МСК в среде без антибиотика и без наночастиц (4 мл (DMEM+глутамин+0,1% раствор незаменимых аминокислот +10% фетальной бычьей сыворотки)).

2. 2xAg из AgNO_3 (4 мл (DMEM+глутамин+0,1% раствор незаменимых аминокислот +10% фетальной бычьей сыворотки) +1 мл 0,004% Ag из AgNO_3).

3. 3xAg из AgNO_3 (4 мл (DMEM+глутамин+0,1% раствор незаменимых аминокислот +10% фетальной бычьей сыворотки) +1 мл 0,006% Ag из AgNO_3).

4. 4xAg из AgNO_3 (4 мл (DMEM+глутамин+0,1% раствор незаменимых аминокислот +10% фетальной бычьей сыворотки) +1 мл 0,008% Ag из AgNO_3).

Результаты и выводы:

1. За весь период ведения эксперимента контрольный образец не был контаминирован, что говорит о тщательно соблюдаемых асептических условиях работы с культурами клеток.

2. Доказано, что долгосрочная экспозиция наночастиц серебра в культурах клеток МСК влияет на их жизнеспособность.

3. После двух недель культивирования клеточных линий с наночастицами серебра 0,002%-0,008% удалось установить, что с увеличением содержания серебра в среде происходит апоптоз, замедление пролиферации, дифференцировка МСК в другие типы клеток.

НЕЙРОМОДУЛЯТОР НИКОТИНОВЫХ АЦЕТИЛХОЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ LYNX1 ЧАСТИЧНО СНИМАЕТ ИНГИБИРУЮЩИЙ ЭФФЕКТ БЕТА-АМИЛОИДНОГО ПЕПТИДА (1-42) НА ДЛИТЕЛЬНУЮ ПОТЕНЦИАЦИЮ В ПОЛЕ CA1 ГИППОКАМПА

**Васильева Н.А.^{1,2}, Шулепко М.А.^{1,3}, Долгих Д.А.^{1,2}, Балабан П.М.^{3,2}, Кирпичников М.П.^{1,2},
Люкманова Е.Н.^{1,2}**

¹ ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва; ² ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва; ³ ФГБУН Институт биоорганической химии имени М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
ekaterina-lyukmanova@yandex.ru

Болезнь Альцгеймера является наиболее распространенной формой деменции, приводящей к когнитивным нарушениям. Известно, что бета-амилоидный пептид участвует в патогенезе болезни Альцгеймера. Показано, что растворимая форма бета-амилоидного пептида блокирует долговременную потенцию (ДП) в гиппокампе. Также показано, что бета-амилоидный пептид, связываясь с никотиновыми ацетилхолиновыми рецепторами (nAChR), способствует усилению их интернализации, что приводит к ухудшению холинергической иннервации в мозге. Белок человека Lynx1 из семейства Lyb/uPAR является эндогенным нейромодулятором nAChR мозга. В предыдущих работах на клеточной культуре нейронов было

выявлено, что водорастворимый рекомбинантный аналог человеческого Lynx1 (вд-Lynx1) конкурирует с бета-амилоидным пептидом (1-42).

В данной работе исследовалось влияние вд-Lynx 1 на ДП в присутствии бета-амилоидного пептида(1-42). Для начала с целью определения эффективной концентрации вд-Lynx1 на срезах мозга крыс были протестированы две концентрации 1 мкМ и 10 мкМ вд-Lynx1. С помощью метода пэтч-клямпа и системы быстрой аппликации веществ было показано, что вд-Lynx1 в концентрации 1 мкМ не влияет на амплитуду АХ-вызванного тока в интернейронах первого слоя коры, содержащих НАХР. В то же время, в присутствии 10 мкМ вд-Lynx1 наблюдалось увеличение амплитуды АХ-вызванного тока на ~ 18%.

Инкубация срезов мозга мышей в регистрирующем растворе, содержащем 10 мкМ вд-Lynx1 в течение одного часа перед началом регистрации, приводила к значительному увеличению амплитуды посттетанических вызванных постсинаптических потенциалов (ВПСП) в поле СА1 гиппокампа в течение первых 30 минут, в то время, как инкубация с 200 нМ бета-амилоидным пептидом(1-42) приводила к уменьшению амплитуды ВПСП по сравнению с уровнем потенцииции в контроле. Инкубация срезов мозга в растворе, содержащем одновременно 200 нМ бета-амилоидного пептида(1-42) и 10 мкМ вд-Lynx1, приводила к частичному снятию ингибирующего эффекта бета-амилоидного пептида(1-42).

Таким образом, водорастворимый рекомбинантный аналог человеческого Lynx1 в концентрации 10 мкМ частично предотвращает блокаду длительной потенцииции в поле СА1 гиппокампа, вызванную действием бета-амилоидного пептида. Следовательно, Lynx1 можно рассматривать как прототип лекарственного препарата для лечения болезни Альцгеймера.

Данная работа проведена при поддержке Российского Научного Фонда (грант # 16-14-00102).

ИЗУЧЕНИЕ МОРФОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ПЕЧЕНИ ПТИЦ, ОТЛИЧАЮЩИХСЯ ПО ПРОДУКТИВНЫМ КАЧЕСТВАМ

Ведерников А.А., Дубинин М.В., Теньков К.С., Самарцев В.Н.

ФГБОУ ВПО Марийский государственный университет, Йошкар-Ола, Россия
aa.vedernikov90@gmail.com

Активная селекционная работа, направленная на повышение продуктивных качеств сельскохозяйственной птицы в ряде случаев, негативно сказывается на здоровье популяции этих птиц. Достаточно часто патологическим процессам подвержена печень продуктивных пород сельскохозяйственной птицы. Показано, что цесарки обладают более высокой устойчивостью к характерным заболеваниям отряда Курообразные. Значительный интерес представляет изучение механизмов, лежащих в основе естественной резистентности к ряду патологических процессов некоторых видов птиц. Известно, что митохондрии могут быть вовлечены в развитие различных заболеваний, и играют важную роль в гибели клеток по механизму апоптоза и некроза.

В работе использовались самцы цесарок серо-крапчатой популяции (СКП) и загорской белогрудой породы (ЗБП), а также куры мясо-яичной породы Хайсекс Браун и высокопродуктивные куры-бройлеры.

Установлено, что у всех указанных птиц встречаются воспалительные процессы и дистрофические изменения в печени, которые в большей степени характерны для высокопродуктивных пород и популяций исследуемых птиц. Птицы продуктивных домашних пород, отличаются большим объемом ядер по сравнению с «дикиими», используемыми в качестве резервного генофонда, цесарками СКП. Предполагается, что наблюдаемые изменения связаны с повышенной функциональной нагрузкой на органы и ткани птиц, подверженных селекционному отбору, направленному на усиление продуктивных качеств. Были выполнены сравнительные исследования кальциевой емкости (КЕ) митохондрий печени указанных животных. Выяснено, что митохондрии печени цесарок СКП и ЗБП обладают существенно большей резистентностью к действию Ca^{2+} как индуктора митохондриальной поры по сравнению с митохондриями печени кур обоих кроссов. Показано, что наибольший эффект индуктора окислительного стресса трет-бутилгидропероксида (ТБГ) наблюдается в митохондриях печени кур Хайсекс Браун и бройлеров (снижение КЕ на 60 %). В то время как в митохондриях печени цесарок СКП и ЗБП ТБГ менее эффективен (снижение КЕ на 35 и 38% соответственно). Следовательно, митохондрии печени цесарок существенно более устойчивы к действию окисляющего агента ТБГ как индуктору Ca^{2+} -зависимой поры.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ (в рамках проектов №17.4999.2017 и 6.5170.2017) и гранта РФФИ (№16-34-00435).

ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ДЕПО-УПРАВЛЯЕМОГО ВХОДА КАЛЬЦИЯ В ПАЦИЕНТ-СПЕЦИФИЧЕСКИХ НЕЙРОНАХ ЧЕЛОВЕКА, МОДЕЛИРУЮЩИХ БОЛЕЗНЬ ХАНТИНГТОНА

Вигонт В.А., Казначеева Е.В.

ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия
vvigand@gmail.com

Болезнь Хантингтона является наследственным нейродегенеративным заболеванием и связана с мутацией в гене, кодирующем белок хантингтин. В результате мутации происходит увеличение длины полиглутаминового тракта хантингтина, причем степень тяжести заболевания прямо пропорциональна этой длине. Ранее мы показали, что экзогенная экспрессия мутантного белка хантингтина в различных линиях клеток нейрональной природы приводит к патологическому увеличению, одного из наиболее распространенных типов притока кальция в цитозоль – депо-управляемого входа кальция (SOCE).

В рамках данной работы мы изучили патологические изменения SOCE в нейронах человека, полученных путем соматического репрограммирования фибробластов, взятых у пациентов с болезнью Хантингтона, в индуцированные плюрипотентные стволовые клетки и их последующей дифференцировки в нейроны. Данная модель представляет особый интерес не только изучением влияния эндогенной экспрессии мутантного хантингтина на кальциевую сигнализацию, но и возможностью исследовать патологические процессы, связанные с экспрессией мутантного хантингтина с небольшой длиной полиглутаминового тракта (практически на границе с нормой), которая, как правило, не приводит к патологическим изменениям в других моделях.

Результаты показали, что в любой из линий Хантингтон-специфичных нейронов человека SOCE был примерно в два раза выше, чем в любой из линий контрольных нейронов, полученных от здоровых людей. Хорошая воспроизводимость увеличения SOCE в модели болезни Хантингтона, основанной на пациент-специфичных нейронах человека, может позволить ей быть использованной не только для фундаментальных исследований, но и в качестве платформы для скрининга лекарств.

Далее, используя молекулярно-генетические подходы (аллель-специфический нокдаун гена, кодирующего мутантный хантингтин, в хантингтон-специфичных нейронах и лентивирусная экспрессия мутантного хантингтина в нейронах, полученных от здоровых людей), мы доказали, что наблюдаемые эффекты патологического увеличения SOCE связаны именно с экспрессией мутантного хантингтина. Также было продемонстрировано, что являющееся перспективной фармакологической субстанцией, соединение EVP4593, способно снижать SOCE как в Хантингтон-специфичных, так и в контрольных нейронах.

В целом, результаты свидетельствуют, что SOCE может считаться перспективной мишенью для разработки терапевтических подходов к лечению болезни Хантингтона.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-14-00720, программой МКБ, стипендией Президента РФ.

АНАЛИЗ УЧАСТИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В СТИМУЛЯЦИИ ПРОЦЕССОВ РЕГЕНЕРАЦИИ ПОВРЕЖДЕННОГО СПИННОГО МОЗГА

Галиева Л.Р., Мухамедшина Я.О., Закирова Е.Ю., Костенников А.А.

ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
Loisa_@mail.ru

Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) могут быть выделены из различных источников и обладать различным регенеративным потенциалом. В связи с этим цель данного исследования – провести сравнительную оценку поведения МСК, полученных из жировой ткани (ЖМСК) и костного мозга (КММСК), при трансплантации в область дозированной контузионной травмы спинного мозга крыс.

Всем экспериментальным группам животных наносили дозированную контузионную травму спинного мозга на уровне Th8. Животным 1ой опытной группы через 2 недели после травмы на область повреждения спинного мозга (после удаления спаек) накладывали 1 млн. ЖМСК, трансдуцированных LV-EGFP и заключенных в Tissucol (Baxter, 18 мкл). Животным 2ой опытной группы в том же количестве трансплантировали КММСК, трансдуцированные LV-EGFP. Животным контрольной группы в аналогичных условиях накладывали Tissucol без клеток.

В ходе выполнения исследования была проведена оценка миграции и жизнеспособности трансплантируемых в область повреждения МСК из двух источников. Так в спинном мозге животных опытных групп специфическое свечение выявлено на расстоянии до 5 мм в ростральном и каудальном направлении от эпицентра травмы. Это свечение четко прослеживается как на ранних сроках после травмы и трансплантации клеток (7-14 сутки), так и на более поздних сроках (30-60 сутки).

В ходе проведения тестирования в открытом поле по методу BBB установлено, что наложение на область дозированной контузионной травмы спинного мозга крыс (подострый период) МСК способствует

восстановлению двигательной функции. В течение первых 60 суток после проведения терапии показатель восстановления двигательной функции в 1ой (ЖМСК) и 2ой опытной (КММСК) группах возрастает в 2,5 раза и на 75,4%, соответственно, при сравнении с животными контрольной группы.

Так же в ходе эксперимента регистрировались М- и Н-ответы с икроножной мышцы при стимуляции седалищного нерва. На 60 сутки в группе с трансплантацией ЖМСК отмечается нарастание амплитуды М-ответа, по сравнению со 2ой опытной и контрольной группой. Латентность Н-ответа остается неизменной к 60 суткам во всех исследованных группах.

Полученные позитивные результаты послужили толчком для проведения дальнейших доклинических испытаний ЖМСК на модели травматической болезни спинного мозга крупных животных (свиньи). Успехи последних определяют дальнейшие пути развития клеточной терапии с использованием аутологических мезенхимальных стволовых клеток в клинической практике.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №16-34-60101.

ОСОБЕННОСТИ РАНОЗАЖИВЛЕНИЯ У КРЫС СО СТРЕПТОЗОТОЦИН-ИНДУЦИРОВАННЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Горбачева А.М., Бердалин А. Б., Гаврилова С. А.

ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва
ann.gorbachewa@yandex.ru

Введение: Кератиноциты играют важную роль в ранозаживлении и содержат рецепторы к катехоламинам и ацетилхолину и сами могут продуцировать эти медиаторы. При сахарном диабете (СД) развивается комплексное поражение, определяющее специфику течения репаративного процесса и хронизацию ран. Механизмы нарушения иннервации кожи при СД изучены недостаточно.

Цель: Целью работы является изучение иннервации и динамики ранозаживления у крыс со стрептозотацин (СТЗ)-индуцированным СД (скорости ранозаживления, морфологических особенностей, экспрессии b2-адренорецепторов (АР), N7a-холинорецепторов (ХР), Ki67).

Материалы и методы: Исследование выполняли на самцах белых беспородных крыс весом $m=250\pm 25$ г. СД моделировали однократной в/б инъекцией СТЗ в ледяном 0.1М цитратном буфере (ЦБ = 4.5) в дозе 65 мг/кг. Контрольной группе вводился 0.1М ЦБ. На 42 сутки СД наносили стандартную рану, морфологическая оценка проводилась на 8, 16 и 24 сутки.

Фиксацию, проводку и заливку проводили по стандартным методикам. Образцы раскладывали на срезы толщиной 5 мкм на микротоме Microm HM 200 (Zeiss) и окрашивали гематоксилином и эозином, а также проводили иммуногистохимическое (ИГХ) окрашивание на b2- АР, Ki67 и a7n -ХР антителами Abcam. Срезы исследовали при помощи микроскопа Imager A1 Axio с камерой AxioCam MRc5. Оценку плотности адренорецепторов проводили на основе полученных микрофотографий в программе Image ProPlus. Результаты обрабатывали в IBM SPSS Statistica 23.0.

Результаты: Микроскопия гематоксалин-эозиновых препаратов выявила усиленную регенерацию края кожи, направленного к ране, выраженную воспалительную реакцию, гиперкератоз эпидермиса и обеднение сосудистого рисунка во всех временных точках, что характеризует патологическое течение процесса ранозаживления и хронизацию процесса при СД. При ИГХ окрашивании была выявлена сложная разнонаправленная динамика плотности b2-АР и a7n-ХР.

Заключение: Полученные данные позволяют утверждать, что оба отдела вегетативной нервной системы важны для полноценной репарации кожи при сахарном диабете, и изменение КЭ и ХЭ иннервации имеет сложную динамику. Открытым остается вопрос о том, когда начинает повреждаться нервная ткань при СД, какие типы нервных волокон вовлекаются в процесс первыми, как меняется их плотность и метаболизм нейромедиаторов на различных этапах патологической репарации. Все это обуславливает необходимость дальнейшего изучения проблемы.

Работа проводится при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант №161510365).

ВЫЯВЛЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ ИЗМЕНЕНИЙ ПРОЦЕССОВ ЭНДОЦИТОЗА СИНАПТИЧЕСКИХ ВЕЗИКУЛ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

Горшкова К.А., Альбова П.Е., Ярмиев И.З.

ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
ksu2129@gmail.com

Сахарный диабет (СД) - хроническое заболевание эндокринной системы человека, характеризующееся длительным повышением концентрации глюкозы в крови и сопутствующими изменениями процесса обмена веществ. Одним из серьезных осложнений СД являются периферические нейропатии, которые характеризуются

мышечной слабостью, уменьшением чувствительности, атрофией мышц и являются следствием функциональных нарушений сенсорных и двигательных нервных волокон, а также изменениями в нервно-мышечной передаче. Целью нашей работы являлось исследование процессов эндоцитоза синаптических везикул в двигательном нервном окончании мышцы при экспериментальном СД.

Эксперименты проводили на изолированных нервно-мышечных препаратах диафрагмальной мышцы лабораторных белых мышей. Для исследования процессов эндоцитоза синаптических везикул в двигательном нервном окончании использовали флуоресцентный маркер FM 1-43 (3 мкМ), который обратимо связывается с пресинаптической мембраной и во время эндоцитоза синаптических везикул оказывается внутри нервной терминали («загрузка» терминали). Для создания модели СД мышам после суточного голодания внутрибрюшинно инъецировали аллоксан (250 мг/кг, Sigma). На 45 сутки животных с повышенным уровнем глюкозы (>9 ммМ/л) выводили из опыта.

С помощью флуоресцентного метода было показано, что у животных с экспериментальным СД происходило усиление свечения нервных терминалей по сравнению с контролем. С учетом того, что уровень и активность GSK3 повышается при СД было предположено, что у мышей с моделью СД усиливается медленный путь эндоцитоза синаптических везикул. Действительно блокатор GSK3 1-azakenpaullone в концентрации 2 мкМ не влиял на свечение нервных терминалей в контроле (81 ± 4 о.е., $n=5$, $p > 0.05$), тогда как в условиях экспериментального СД при блокировании GSK3 происходило снижение свечения нервных терминалей (65 ± 2 о.е., $n=6$, $p < 0.05$).

Таким образом, в нервных окончаниях мышей с моделью сахарного диабета происходит усиление процессов эндоцитоза синаптических везикул, и этот феномен предотвращается при блокировании GSK3.

ЗАВИСИМОСТЬ «РСА-СИЛА» ВОЛОКОН БЫСТРОЙ И МЕДЛЕННОЙ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ КРОЛИКА

Дрёмина Н.В.^{1,2}, Кочубей П.В.², Щепкин Д.В.², Копылова Г.В.², Бершицкий С.Ю.²

¹ФГАОУ ВПО УрФУ имени Первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия; ²ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия
jakobian.nabla2013@yandex.ru

Сократительная активность скелетных мышц определяется составом изоформ тяжелых цепей миозина (ТЦМ) и регулируется уровнем внутриклеточного кальция. Волокна, содержащие медленную (I) изоформу ТЦМ обладают меньшей скоростью укорочения, чем волокна, экспрессирующие быстрые (IIa, IIb и IId/x) изоформы ТЦМ. Кальциевая активация сокращения быстрых и медленных волокон различна [Mounier et al., Pflügers Arch., 1989; Laszewski-Williamset *et al.*, *Am. J. Physiol.*, 1989] и зависит от температуры [Stephenson & Williams, *JPhysiol.*, 1981].

Мы исследовали значение изоформ ТЦМ для кальциевой регуляции сокращения волокон быстрой (*m. psoas*) и медленной (*m. soleus*) скелетных мышц кролика с помощью экспериментов на скинированных волокнах методом скачка температуры [Bershtsky & Tsaturyan *J. Physiol.*, 2002] и на изолированных белках в *invitro* подвижной системе, ИПС [Shchepkin *et al.*, *BiochemBiophysResCommun.*, 2010]. ТЦМ из *m. psoas* были преимущественно представлены IIx и IIb изоформами, в *m. soleus* преобладала I изоформа ТЦМ. Для экспериментов в ИПС тонкий филамент был реконструирован из актина, тропонина и тропомиозина. В экспериментах с миозином из *m. psoas* были использованы регуляторные белки, полученные из *m. psoas*, а с медленным миозином – из *m. soleus*.

При скачке температуры с 5°C до 30°C в волокнах обнаружен трехкратный рост напряжения, но при этом в отличие от волокон из *m. soleus* в волокнах из *m. psoas* не происходит увеличение жесткости. С ростом температуры увеличивается кальциевая чувствительность напряжения волокон.

Эксперименты в ИПС были проведены при 21°C до 30°C, так как при более низких значениях температуры мы не смогли бы измерить скорость тонких филаментов при низких значениях кальция. С ростом температуры увеличивается скорость скольжения тонких филаментов при насыщающей концентрации кальция по миозину из *m. psoas* в 2.5 раза, *m. soleus* – в 5 раз; увеличивается значение коэффициента кооперативности Хилла зависимости «*pCa*-скорость», а ее кальциевая чувствительность уменьшается.

Используя ИПС, мы обнаружили, что температурная чувствительность сократительного аппарата медленной мышцы выше, чем быстрой, что согласуется с полученными ранее данными [K. W. Ranatunga, *Biophys. J.*, 1996]. С помощью двух экспериментальных подходов мы показали, что кальциевая регуляция сокращения имеет свои особенности для скелетных мышц с разным составом изоформ ТЦМ и зависит от температуры.

Исследования поддержаны грантом РФФ № 16-14-10044.

МОНОЦИТАРНО-МАКРОФАГАЛЬНАЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКА КЛЕТОК ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА, ИНДУЦИРОВАННАЯ ГОМОТИПИЧЕСКОЙ МЕЖКЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИЕЙ

Евстратова Я.В.^{1,2}, Кобякова М.И.^{1,2}, Фадеев Р.С.^{1,2}, Акатов В.С.^{1,2}

¹ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт; ²ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия

yannaevstratova@gmail.com

Ранее нашим коллективом, было обнаружено повышение лекарственной устойчивости клеток острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) при активации гомотипической межклеточной адгезии в многоклеточных агрегатах. В качестве одного из механизмов данного феномена, можно предположить индукцию коммитирования и/или созревания (дифференцировки) клеток в многоклеточных агрегатах в моноцитарно-макрофагальном направлении, так как известно, что созревание клеток ОМЛ способствует повышению их лекарственной устойчивости.

В данной работе мы провели оценку степени моноцитарно-макрофагальной дифференцировки клеток ОМЛ в многоклеточных агрегатах. В качестве объекта исследования использовали клеточную линию ОМЛ человека ТНР-1. Для формирования многоклеточных агрегатов 96-луночные планшеты покрывали 1.5% раствором агарозы. Затем высевали по 5×10^3 клеток в лунку в 100 мкл полной ростовой среды. Клеточный фенотип определяли по экспрессии моноцитарно-макрофагальных маркеров CD11b, CD14, CD45, CD68, CD163, а также по продукции NO и относительному количеству лизосом.

Оценка продукции NO и относительного количества лизосом показала отсутствие различий между многоклеточными структурами и одиночными клетками (контрольные условия).

Также было установлено, что экспрессия CD11b, CD14, CD163 отсутствовала как у одиночных клеток, так и у клеток в многоклеточных структурах. Количество CD68+ клеток в многоклеточных структурах составляло - $60 \pm 4\%$, у одиночных клеток $8,6 \pm 0,8\%$. Количество CD 45+ клеток в многоклеточных агрегатах составляло $97 \pm 1\%$, что достоверно не отличалось от контрольных условий - $96 \pm 3\%$.

Таким образом, результаты указывают на возможное появление клеток, коммитированных в моноцитарно-макрофагальном направлении, что обусловлено увеличением количества CD68+ клеток в многоклеточных структурах.

Работа выполнена в рамках гранта Правительства РФ №14.Z50.31.0028.

МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ КАСКАД АРАХИДОНОВОЙ КИСЛОТЫ ОПРЕДЕЛЯЕТ ЭКСПРЕССИЮ РОСТОВЫХ И НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В МОДЕЛИ КОНКАНАВАЛИН-ИНДУЦИРОВАННОГО УВЕИТА У КРЫС

Ердяков А.К., Лобанова А.Д., Дементьева А.А.

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

erdiakov@fbm.msu.ru

Введение. Метаболиты арахидоновой кислоты (АК) определяют динамику и тяжесть течения увеита. В то же время, в глазу функционирует система нейротрофических и ростовых факторов, экспрессия которых может зависеть от продукции простагландинов в начальный период воспаления.

Цель. Изучить влияние ингибирования метаболизма АК на экспрессию нейротрофических и ростовых факторов (BDNF, NGF, VEGF), циклооксигеназ (COX) и простагландинсинтаз (PTGS) сетчаткой в конканавалиновой модели внутриглазного воспаления у крыс.

Материал и методы. Увеит моделировали в правом глазу крыс путем интравитреальной инъекции 2 мкл ($0,25$ мг/мл) раствора конканавалина А (КонА). Спустя 20 мин трем опытным группам интравитреально вводили физиологический раствор (ФР), $0,016$ мг неселективного ингибитора COX лорноксикама (Л) или $0,08$ мг блокатора фосфолипазы A2 триамцинолона (Т) (все вещества в объеме 2 мкл). На 1 и 2 сутки Л (230 мкг/кг) или Т (571 мкг/кг) вводили системно. На 1, 3, 7 и 56 сутки глаза энуклеировали, либо извлекали витреоретинальные блоки, в которых оценивали экспрессию мРНК BDNF, VEGF, NGF, COX и PTGS методом ОТ-ПЦР в реальном времени. Уровень относительной экспрессии мРНК (в пересчете на бета-актин) определяли в программе REST2009. Из энуклеированных глаз изготавливали микропрепараты и осуществляли иммуногистохимическое (ИГХ) окрашивание с использованием первичных антител (АТ), специфичных к BDNF, COX-1 и COX-2, и вторичных АТ, конъюгированных с пероксидазой хрена. В качестве контрольной группы использовали интактных животных (ИК). Результаты. На 1 и 7 сутки развития воспаления экспрессия мРНК BDNF значительно снижается в группе с применением Л относительно группы без лечения. На 56 сутки экспрессия мРНК BDNF была значимо ниже в группе с применением ФР по сравнению с ИК, в то время как использование Л в начальный период развития воспаления нормализовало продукцию BDNF. Результаты ИГХ

окрашивания показывают, что продукция BDNF при развитии внутриглазного воспаления имеет сложную динамику и зависит от того, на каком уровне был заблокирован метаболический каскад арахидоновой кислоты в начальный период воспаления. Применение противовоспалительной терапии нормализует продукцию COX-2 сетчатки.

Выводы. Ингибирование метаболизма АК на разных уровнях при развитии внутриглазного воспаления влияет на экспрессию ростовых и нейротрофических факторов, COX и PTGS сетчаткой. Пик выработки простагландинов в начальный период развития воспаления определяет не только интенсивность протекания воспалительной реакции, но и имеет долгосрочное влияние на экспрессию BDNF и COX-2.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЖЕЛЕЗО-ОКСИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ НА ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ МЫШЕЙ

Петрова И.М., Жданова А.В.

ФГАОУ ВПО УрФУ имени Первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия
marygane6@mail.ru

Одной из проблем внедрения наночастиц в клиническую практику является их безопасность. Известно, что наночастицы способны накапливаться в тканях, вызывая изменения со стороны микроциркуляторного русла, а также воспалительные реакции и процессы деструктивного характера. В связи с этим представляется интересным оценить влияние наночастиц на гематологические показатели периферической крови мышей.

В эксперименте использовали белых лабораторных мышей ($n=5$), которым однократно вводили суспензию с наночастицами в хвостовую вену в концентрации 0,3 мг/мл; объем инъекции составлял 0,5 мл. Животных выводили из эксперимента через 1 сутки после введения частиц. Железо-оксидные наночастицы, модифицированные 3-аминопропилсиланом Fe_3O_4 -АПС были получены в Институте органического синтеза УрО РАН. Для исследований *in vivo* были приготовлены коллоидные растворы частиц в физиологическом растворе с добавлением 1% бычьего сывороточного альбумина. Контрольной группе ($n=5$) вводился физиологический раствор. На гематологическом анализаторе определяли общее количество эритроцитов и гемоглобина, среднее содержание гемоглобина в эритроцитах и гематокритный показатель. Лейкоцитарную формулу (процентное соотношение различных видов лейкоцитов) подсчитывали в мазках крови, окрашенных по Романовскому-Гимзе. Подсчет производился на 100 лейкоцитов. Статистическую обработку результатов проводили в программах «Microsoft Excel» и «Статистика».

Анализ показателей красной крови показал, что после введения наночастицы вызывают небольшое понижение числа эритроцитов крови ($5,403 \pm 0,964$ Т/л) по сравнению с контролем ($7,250 \pm 0,988$ Т/л), при этом содержание гемоглобина в них не изменяется. Обнаруженное снижение концентрации эритроцитов может быть связано с их частичным гемолизом, что приводит также к снижению гематокритного числа ($29,167 \pm 5,031\%$) относительно контрольного значения ($31,700 \pm 3,785\%$). Исследование показателей белой крови указывает на развитие воспалительной реакции в организме. Наблюдается увеличение лейкоцитов, обусловленное увеличением числа лимфоцитов до $83,775 \pm 1,620\%$ от контрольного значения $70,433 \pm 2,693\%$. При этом количество гранулоцитов значительно снижается ($5,325 \pm 1,121\%$) по сравнению с контролем ($11,767 \pm 1,690\%$), что обусловлено миграцией этих клеток в органы и ткани, в очаг воспаления. Указанный феномен подтверждается и гистологическими исследованиями тканей, аккумулирующих наночастицы.

ВЛИЯНИЕ СЕРОВОДОРОДА НА РАЗВИТИЕ КРЫСЯТ ПЕРВОГО МЕСЯЦА ЖИЗНИ

Зиганшина А. Р., Попова А.В., Яковлева О.В.

ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
fenix_milenium@mail.ru

Сероводород (H_2S), газ, эндогенно синтезируемый ферментами цистатиони β-синтаза (CBS) и цистатионин γ-лиаза (CSE), является сигнальной молекулой в различных тканях и участвует в развитии ряда патологических процессов. Кроме этого, H_2S оказывает кардиопротекторное действие при повреждениях, связанных с ишемией.

Целью данного исследования было изучение влияния сероводорода на постнатальное развитие крысят.

Объектом исследования были крысята в возрасте от 0 до 16 дня жизни. Крысята были разделены на две группы: 1) контрольную группу составили крысята ($n=47$) полученные от самок, находящихся на стандартном рационе питания, 2) опытную группу составили крысята ($n=36$) от самок перед планированием, во время беременности и в период кормления детенышей, получавших инъекции донора сероводорода $NaHS$ (3 мг/кг).

Изучение пренатального действия веществ при помощи поведенческих тестов позволяет оценить серьезные нарушения развития животных в динамике. Оценивалось физическое развитие крысят: ежедневно определяли вес животных опытной и контрольной групп, регистрировался день отлипания ушной раковины,

появления первичного волосяного покрова и открытия глаз. Для исследования соматосенсорного созревания в крысят использовали стандартную батарею тестов по оценке развивающегося поведенческого фенотипа крыс в период вскармливания.

В опытной группе при оценке физического развития крысят (отлипание ушной раковины, появление первичного волосяного покрова, прорезывание резцов, открытие глаз) не отмечено значимых отставаний в развитии при сравнении с показателями контрольных животных. Наиболее важным показателем соматического развития животных является динамика массы тела. При анализе динамики веса новорожденных крысят был показан недобор веса животных опытной группы по сравнению с контрольными животными. Возможно это связано с увеличением количества крысят в помете: 8.6 ± 1.2 и 13.3 ± 1.5 ($p < 0.05$).

В тестах «отрицательный геотаксис», «избегание обрыва, вызванное визуальным стимулом», «переворот в падении», «обоняние», «маятниковый рефлекс» не наблюдалось отличий в дне формирования рефлекса.

В ряде тестов наблюдалось ускорение формирования рефлекса. В тесте «избегание обрыва» с фиксированным временем (10 секунд) мы наблюдали достоверное ускорение формирования рефлекса в опытной группе. Так у крысят контрольной группы этот рефлекс был сформирован к 6 дню жизни, а в опытной группе к 5 дню ($p < 0.05$). В тесте «переворот на плоскости» наблюдалось также ускорение формирования рефлекса без изменения времени, потраченного на действие.

Таким образом, при оценке состояния неврологического развития на ранних сроках развития у животных опытной группы было отмечено опережение в развитии по сравнению с контрольными животными.

Поддержано фондом РФ № 14-1500618.

ОСОБЕННОСТИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ В ПЕРВЫЕ СУТКИ ПОСЛЕ ИНФАРКТА МИОКАРДА В МОДЕЛЯХ НЕОБРАТИМОЙ ИШЕМИИ И ИШЕМИИ/РЕПЕРФУЗИИ МИОКАРДА КРЫСЫ

Иванов Е.В., Марков М.А., Бердалин А.Б., Волкова Ю.Л.

ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

ivanovev101@gmail.com

Введение. Современная терапия инфаркта миокарда (ИМ) позволяет спасти многих пациентов, однако многие аспекты патогенеза заболевания остаются не ясны. Одним из них является роль воспалительной реакции организма в формировании ишемического и реперфузионного повреждения. В современной литературе существуют указания на существование воспалительного компонента повреждения миокарда при инфаркте, наибольшую роль в этом играют нейтрофилы. Классическая концепция воспаления при ИМ подразумевает максимальную нейтрофильную реакцию через 24 – 48 часов после наступления ишемии. Целью нашей работы стало патоморфологическое описание воспалительной реакции в ишемизированном и интактном миокарде крыс через 2 – 24 часа после необратимой ишемии или ишемии/реперфузии.

Материалы и методы. Исследование проводили на самцах белых беспородных крыс массой 300 – 400 г. Ишемию моделировали по модифицированному методу Селье перевязкой левой коронарной артерии. Реперфузию проводили через 2,5 часа. Срезы сердца в средней трети окрашивали гематоксилин-эозином и по Романовскому-Гимзе по стандартным методикам. На фотографиях срезов, окрашенных гематоксилин-эозином, число немиоцитарных клеток подсчитывали в узлах наложенной решетки. На фотографиях срезов, окрашенных по Романовскому-Гимзе, подсчитывали общее число нейтрофилов и лимфоцитов. Статистическую обработку данных проводили с помощью однофакторного дисперсионного анализа.

Результаты. В зоне ишемии статистически значимое ($p < 0.05$) увеличение числа немиоцитарных клеток и нейтрофилов по сравнению с контролем в 5 – 50 раз было зафиксировано в обеих моделях через 2 – 24 часа после наступления ишемии. Обращали на себя внимание значимое по сравнению с рядом других временных точек увеличение числа нейтрофилов и лимфоцитов через 7 – 8 часов и уменьшение через 12 – 24 часа в модели ишемии/реперфузии и пик инфильтрации через 24 часа в модели необратимой ишемии. В областях межжелудочковой перегородки и задней стенки левого желудочка при окраске гематоксилин-эозином мы обнаружили увеличение числа немиоцитарных клеток, однако число нейтрофилов и лимфоцитов лишь в нескольких временных точках оказалось статистически значимо выше, чем в контроле.

Выводы. Уже через 2 – 4 часа после перевязки артерии в области ишемии можно обнаружить значительную инфильтрацию миокарда. В модели необратимой ишемии пик инфильтрации приходится на 24 часа, что согласуется с данными литературы. В модели ишемии/реперфузии пик инфильтрации миокарда происходит через 7 – 8 часов.

ПЕПТИД THR-SER-LYS-TYR ВЛИЯЕТ НА РЕЦИПРОКНУЮ РАБОТУ МАУТНЕРОВСКИХ НЕЙРОНОВ ЗОЛОТЫХ РЫБОК

Ивличева Н.А.¹, Безгина Е.Н.², Бобылева Л.Г.², Михайлова Г.З.²

¹ФГБУН Институт биофизики клетки РАН; ²ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики
РАН, Пущино, Россия
mihailova_g@rambler.ru

Ранее было показано, что нервные клетки моллюска при обработке пептидом Thr-Ser-Lys-Tyr (TSKY) могут длительное время находиться в состоянии гипометаболизма без потери жизнеспособности [Ивличева и др., 2012], но со снижением способности формировать отростки. Целью данной работы было изучить влияние внутримозговой инъекции данного пептида на структуру и функциональную активность идентифицированных ретикулоспинальных Маутнеровских нейронов (МН) продолговатого мозга золотых рыбок *Carrassius auratus*. Результаты экспериментов показали, что пептид TSKY дозозависимым способом вызывал угнетение функциональной активности одного из МН и усиление активности его напарника. Частоту активации нейронов косвенно оценивали, вычисляя скорость спонтанных поворотов, совершаемых рыбкой в узком прямолинейном коридоре. Максимальный эффект в большинстве случаев сохранялся до 6 часов. Визуализация МН подопытных рыб выявила уменьшение объема и уплотнение цитоскелета вентрального дендрита МН, частота активации которого была повышена вследствие аппликации TSKY. Для того чтобы косвенно оценить влияние TSKY на активный компонент цитоскелета, мы провели электронно-микроскопический анализ взаимодействия TSKY и актина *in vitro*. Было обнаружено, что пептид взаимодействует с фибриллярным актином (в концентрациях 10^{-4} М и 10^{-6} М, соответственно), вызывая уменьшение плотности истинных нитей в поле зрения. Данные обсуждаются с точки зрения влияния пептида TSKY на реципрокную работу Маутнеровского аппарата, которая основана на реорганизации единого внутриклеточного органоида – цитоскелета нейрона. Работа поддержана грантом РФФИ №16-04-01759а.

ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ КРЫС ФРАГМЕНТОМ ХЕМОКИНА МСР-1 - ПЕПТИДОМ IX (ПХ, 29-40 ак) УЛУЧШАЕТ РАБОТОСПОСОБНОСТЬ СЕРДЦА В ОСТРЫЙ, НО НЕ ХРОНИЧЕСКИЙ ПЕРИОД ПОСЛЕ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ МИОКАРДА

Исхакова М.Р.

ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия
marina2842@gmail.com

В экспериментах показано, что снижение воспаления при ишемии-реперфузии (ИР) миокарда, уменьшает размер поражения, но есть данные и об ускорении заживления сердца при усилении воспаления. МСР-1 привлекает в область некроза моноциты/макрофаги (ММ), готовые повредить ткань к формированию рубца. Мы усиливали МСР-1 опосредованную миграцию ММ в зону риска, введением его фрагмента, ПХ, синтезированного ранее. Настоящее исследование направлено на изучение влияния ПХ на функциональное состояние сердечно-сосудистой системы в острый (ОП, 3 сутки) и хронический период (ХП, 28 сутки) после ИР. Ишемию создавали перевязкой левой коронарной артерии на 2,5 часа, затем реперфузировали. Внутрисердечно вводили ПХ (группа ИР-ПХ) или физ. раствор (ИР-ФР). Функцию сердца (ФС) оценивали на наркотизированных крысах. Нагрузочные пробы выполняли внутривенной инфузией: ацетилхолина (Ach), добутамина (Dbt) и фенилэфрина (Phe). Систolicкое и диastolicкое ЛЖД (ЛЖДс, ЛЖДд) скорость сокращения и расслабления миокарда (+dP/dT, -dP/dT) регистрировали системой Millar. Системно измеряли АДср., ЧСС. В результате ИР в ОП после операции ФС была угнетена, в ХП еще сильнее снижалось АДср. При введении Dbt у интактных крыс (ИК) возрастала работоспособность сердца. Введение Dbt ИР-ФР крысам в ОП снижало ФС по сравнению с ИК, ПХ способствовал большему, чем у ИР-ФР приросту +dP/dT, -dP/dT и ЧСС. На 28 сутки введение Dbt ИР-ФР крысам показало улучшение ФС по сравнению с 3 сутками, ответ ИР-ПХ крыс не отличался. Введение Ach ИК снижало постнагрузку на сердце, +dP/dT, -dP/dT, ЛЖДс, ЛЖДд. У ИР-ФР крыс на 3 сутки эксперимента при инфузии Ach меньше снижались АД и ЛЖДд, чем в ИК, -dP/dT был как у ИК; ПХ больше снижал АДср, в остальном ответ не отличался от ИР-ФР. На 28 сутки при введении Ach ИР-ФР крысам снижение АДср, ЛЖДс, +dP/dT было как в ОП, а снижение ЛЖДд - большим, ответы группы ИР-ПХ были такими же. Введение Phe ИК увеличивало АДср, +dP/dT, -dP/dT и снижало ЧСС, у ИР-ФР крыс на 3 сутки после ИР ответ этот снижался по сравнению с ИК, с ПХ прирост АДср снижался сильнее, чем в ИР-ФР, меньшим был и прирост ЛЖДс, а изменение +dP/dT было как в ИР-ФР группе. В ХП по сравнению с ОП в ИР-ФР еще больше снижался прирост АДср, -dP/dT, ЛЖДс, прирост +dP/dT был таким же, как и в ОП, прирост ЛЖДд был меньшим, чем на 3 сутки, в группе ИР-ПХ прирост АДср, ЧСС

был большим, чем у ИР-ФР крыс, а ЛЖДс - меньшим. ПИХ в ОС улучшает ФС, усиливает снижение АДср при введении Ach, уменьшает в ОП и повышает в прирост АДср в ответ на инфузию Phe.

МЕТАБОЛИЗМ МЕДИ В КЛЕТКАХ ЖИРОВОЙ ТКАНИ У КРЫС, СОДЕРЖАВШИХСЯ НА НИЗКО- ИЛИ ВЫСОКОКАЛОРИЙНЫХ ДИЕТАХ

Канааш Л. А.¹, Тимирова З. Р.¹, Ильичева Е. Ю.^{1,2}

¹ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики; ²ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия
kanash2221@yandex.ru

Медь является структурным и каталитическим ко-фактором жизненно важных ферментов и выполняет функции вторичного мессенджера. Центральным органом, контролирующим баланс меди в организме, является печень. В нее поступает вся медь, абсорбированная в кишечнике. Здесь она расходуется на поддержание уровня собственных купроэнзимов, депонируется в металлотионеине, и включается в церулоплазмин (ЦП, голубую мультимедную (ферр)оксидазу, выполняющую также роль основного донора меди для клеток негепатоцитарных рядов). Примерно треть абсорбированной меди, не вступая в метаболизм, экскретируется через желчь. ЦП содержит почти 95% внеклеточной меди. Его уровень в крови меняется в зависимости от потребностей органов в меди. Это дает основание считать, что существует надорганный уровень регуляции метаболизма меди (ММ) в печени. Нами показано, что при хроническом дефиците холо-ЦП его уровень компенсируется клетками жировой ткани. Данных об экспрессии генов, ассоциированных с ММ в жировой ткани нет. Цель данной работы – изучить экспрессию генов, чьи белковые продукты ответственны за импорт меди в клетки, продукцию ЦП и его металлизацию в жировой ткани. Работа выполнена на 3-месячных крысах линии Вистар. Группу 1 (контроль) составили крысы в течение опыта, получавшие стандартный корм (295 Ккал на 100г). Крысы группы 2 получали низкокалорийный корм (194 Ккал на 100г). Животных группы 3 содержали на высококалорийной диете (490 Ккал на 100г). Корм и питье крысы всех групп получали без ограничения. Эксперимент длился в течение 75 дней. К концу опыта вес крыс в группах 2 и 3 был соответственно достоверно ниже и выше, чем в группе 1. Масса жировой ткани, по сравнению с группой 3, была ниже у крыс 1 и 2 группы в 2 и 4 раза, соответственно. По окончании эксперимента у крыс каждой группы забирали кровь, образцы печени, подкожного и внутреннего жира. Показано, что в сыворотке крови уровень ЦП, по сравнению с контролем, снижается у крыс, содержащихся на высококалорийной диете. ОТ-ПЦР анализ и иммуноблотинг показали, что в жировой ткани формируются обе сплайс-формы ЦП (растворимый ЦП и ЦП, связанный с мембраной через ГФИ-якорь), экспрессируются оба импортера меди (CTR1 и DMT1), а также обе Су-транспортные АТФазы Р1 типа, переносящие медь из цитозоля в люмен аппарата Гольджи для металлизации ЦП (АТР7А и АТР7В). Обсуждается роль жировой ткани в гомеостазе меди и связь между ростом клеток жировой ткани и экспрессией генов ММ в них. Работа поддержана грантами РФФИ 16-34-60219, 17-04-01642, 15-04-06770.

ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА В МНОГОКЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУРАХ

Кобякова М. И.^{1,2}, Евстратова Я. В.^{1,2}, Фадеев Р. С.^{1,2}, Акатов В. С.^{1,2}

¹ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт; ²ФГБНУ Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушино, Россия
rita49@gmail.com

Ранее нами было показано, что в многоклеточных структурах (агрегатах) клеток острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) происходит повышение устойчивости к индукции клеточной гибели. Однако точные механизмы данного явления остаются не изученными. Принято считать, что действие химиотерапевтических препаратов направлено на активно пролиферирующие клетки. Поэтому повышение лекарственной устойчивости клеток ОМЛ в многоклеточных структурах может быть связано со снижением их пролиферативной активности.

Целью данной работы было исследование пролиферативной активности клеток ОМЛ в многоклеточных структурах (агрегатах).

В качестве объекта исследования использовали клетки ОМЛ человека линии ТНР-1. Для формирования многоклеточных агрегатов 96-луночные планшеты покрывали 1.5% раствором агарозы (PanReac, Испания). Затем высевали по 5×10^3 клеток в лунку в 100 мкл полной ростовой среды. Через 24 часа культивирования клеток проводили анализ пролиферативной активности.

Пролиферативную активность оценивали по распределению клеточной популяции по фазам клеточного цикла, с помощью проточной цитометрии, и количеству митотических клеток с помощью флуоресцентной микроскопии. Для анализа распределения клеточной популяции по фазам клеточного цикла клетки окрашивали

йодидом пропидия и анализировали на проточном цитометре AccuriC6 (BD, США). Полученные результаты обрабатывали в программе ModFitLT 4.1. Для анализа митотической активности клетки окрашивали bisBenzimide Hoechst 33342. Подсчет числа митотических клеток проводили с помощью флуоресцентного микроскопа DM 6000 (Leica, Германия).

Было показано, что в многоклеточных агрегатах распределение по фазам клеточного цикла соответствовало $G_1 - 53 \pm 3\%$, $S - 40 \pm 3\%$, $G_2 - 8 \pm 1\%$, в контрольных условиях (одиночные клетки) распределение составляло $G_1 - 49 \pm 3\%$, $S - 39 \pm 3\%$, $G_2 - 8 \pm 1\%$.

Далее было установлено, что количество митотических клеток в многоклеточных агрегатах составляло $2,6 \pm 0,4\%$, что достоверно не отличалось от контрольных значений ($2,1 \pm 1,2\%$).

Таким образом, показано, что фенотипом лекарственной устойчивости в многоклеточных структурах могут обладать активно пролиферирующие клетки.

Работа выполнена в рамках гранта Правительства РФ №14.Z50.31.0028.

ВЛИЯНИЕ УМЕРЕННОЙ ГИПОТЕРМИИ НА ЦИТОКИНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ЭРИТРОЦИТАРНЫЕ ИНДЕКСЫ КРЫС

Койсултанова З.К., Шихамирова З.М., Муртазаева А.З.

ФГБОУ ВПО Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

zuma0207@mail.ru

Данные нашей лаборатории и других исследователей свидетельствуют о том, что при гипотермии в крови крыс снижается количество дискоцитов, увеличивается доля измененных форм (стоматоцитов и сфероцитов), а также повышается осмотическая хрупкость и усиливается гемолиз эритроцитов. Для выяснения причин негативного влияния гипотермии на формы эритроцитов и гемолитическую устойчивость мы изучили их цитокинетические характеристики и индексы. Гипотермию крыс вызывали наружным охлаждением. В течение 30 мин температуру тела крыс снижали до 30°C (кратковременная умеренная гипотермия). Для анализа гемолитических характеристик использовали анализатор «Sismex KX-21» (Япония). Сразу после снижения температуры тела отмечается увеличение количества ретикулоцитов в крови до $50,2\%$. При этом почти в два раза ускоряется созревание ретикулоцитов: время созревания ретикулоцитов уменьшается на $43,1\%$. При кратковременной гипотермии наблюдается закономерное снижение продолжительности жизни эритроцитов ($p < 0,001$) и, как следствие, происходит усиление суточного эритропоза ($p < 0,001$) в качестве компенсации. Возможно, по этой причине анализ количества эритроцитов в крови не выявил существенного изменения их уровня при гипотермии. Содержание гемоглобина также существенно не меняется сразу после снижения температуры тела. Сразу после снижения температуры тела возрастает величина гематокрита на $8,9\%$. Увеличение величины показателя гематокрита при гипотермии может быть связано с тем, что в результате изменения проницаемости сосудов плазма поступает в экстрасосудистые пространства, что приводит к гемоконцентрации. При гипотермии имеется тенденция к снижению среднего объема эритроцитов (MCV). Среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH) и насыщенность эритроцита гемоглобином (MCHC) при гипотермии не изменяется. Изучение степени анизоцитоза (RDW) – ширины распределения эритроцитов по объему – не выявило различий этого показателя у животных с низкой температурой тела относительно контроля. Анализ гетерогенности эритроцитов по форме (RDW_CV) свидетельствует о выраженном пойкилоцитозе после кратковременной гипотермии. Факт повышения анизоцитоза на начальных этапах гипотермии, с нашей точки зрения, связан с повышением количества измененных форм эритроцитов в крови.

ЭФФЕКТЫ ПЕРОКСИРЕДОКСИНА 6 И ПАРАКРИННЫХ ФАКТОРОВ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА ДИНАМИКУ РЕГЕНЕРАЦИИ КОЖИ ПРИ ХИМИЧЕСКОМ ОЖОГЕ

Кочкина А.В.^{1,2}, Темнов А.А.¹, Новосёлов В.И.¹

¹ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия; ²ФГБОУ ВО Тульский государственный университет, Тула, Россия

a-kochkina@rambler.ru

Исследование заключалось в изучении процессов репарации на модельной ожоговой ране животных. Химический ожог моделировали на крысах линии Wistar. Работа с лабораторными животными проводилась в соответствии с положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для эксперимента и других научных целей» и законодательством Российской Федерации.

Протокол эксперимента включал введение животного в длительный наркоз. После депиляции паравертебральной области спины, создавали контактный ожог 40% трихлоруксусной кислотой. Время

экспозиции составило 3 минуты. После нанесения ожога через 2 часа в область спины были сделаны инъекции. 1 – физ. раствор; 2 – пероксиредоксин-6 (Ргх 6); 3 – паракринные факторы мезенхимальных стволовых клеток (МСК); 4 – Ргх 6 + факторы МСК. Оценку результатов проводили на основе динамического визуального, гистологического, иммуногистохимического, иммуноферментного анализов состояния раневой поверхности. Контрольные точки: 1, 3, 7 суток с момента ожога.

Визуальная и гистологическая оценка эффективности применения Ргх 6 и факторов МСК на процесс регенерации кожи при химическом ожоге показала, что в контрольной группе регенерация кожи происходит дольше, чем в группах с лечением. В группах с применением Ргх 6 наблюдается наилучший эффект, применение факторов МСК так же благотворно повлияло на регенерацию эпителия по сравнению с контрольной группой.

В анализе на наличие фермента Cas 3, индуцирующего процессы апоптоза, было отмечено, что при применении после ожога Ргх 6 и факторов МСК, относительная концентрация Cas 3 была ниже, по сравнению с контрольной группой. Применение данных препаратов по-отдельности и совместно также ведет к повышению концентрации Ki-67 в процентах относительно контроля. Исходя из результатов анализа профиля цитокинов, можно сделать вывод о том, что применение фермента-антиоксиданта факторов МСК снижает уровень цитокинов в поврежденной ткани. В группе с применением Ргх6 и факторами МСК активнее всего проходят процессы клеточной пролиферации и заживления ткани, так как общий уровень цитокинов, стимулирующих воспаление, наиболее низкий в данной группе.

По результатам данной работы можно сделать вывод об эффективности применения Ргх 6 и паракринных факторов МСК при химическом ожоге. Комплекс антиоксиданта и ростовых факторов обеспечивает наиболее оптимальные условия для заживления ожоговой раны, подавляя окислительный стресс и способствуя сокращению сроков регенерации.

ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭЭГ В ПРОЦЕССЕ РЕШЕНИЯ КОГНИТИВНЫХ ЗАДАЧ

Кундупьян О.Л., Кундупьян Ю.Л., Бибов М.Ю.

ФГАОУ ВПО Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии,
Ростов-на-Дону, Россия
olkundupyan@sfnedu.ru

Межполушарные отношения, возникающие в процессе выполнения вербальных и невербальных задач, могут влиять на эффективность и качество деятельности, а также на паттерны ЭЭГ. Индивидуальные особенности фоновых ритмов ЭЭГ отражают характер регуляторных процессов, обеспечивающих координацию внутрикорковых и корково-подкорковых взаимоотношений, общее состояние мозга. Однако существуют противоречивые данные о характере межполушарных отношений при решении вербальных и невербальных задач. Целью нашего исследования было изучить динамику времени реакции (ВР), спектральные характеристики ЭЭГ и уровень когерентности при решении когнитивных задач.

В исследовании принимало участие 35 человек, средний возраст – 25 лет. В качестве модели деятельности использовали вербальные и невербальные задачи. Каждый обследуемый должен был проанализировать 100 слайдов для каждой задачи, исключая неподходящее по смыслу слово или картинку на слайде. Во время выполнения теста регистрировали ВР, ЭЭГ. Оцифрованная ЭЭГ и ВР экспортировались в программную среду MATLAB, где проводилась дальнейшая обработка сигналов.

Анализ ВР показал, что невербальные задачи человек решал быстрее и эффективнее при использовании левой руки, а для решения вербальных задач обследуемые использовали 2 стратегии распознавания (быстрые реакции, требующие нажатия правой рукой и быстрые реакции, требующие нажатия левой рукой). По результатам спектральных характеристик ЭЭГ, было обнаружено, что в процесс эффективного решения когнитивных задач одновременно вовлекались механизмы передней и задней систем внимания. Эффективное решение невербальных задач сопровождалось более высоким уровнем когерентности в лобно-теменных отведениях обоих полушарий, а также теменно-затылочной области правого полушария в диапазоне дельта- и бета-активности.

Таким образом, вероятно, что решение вербальных и невербальных задач, контролируется разными механизмами функциональной межполушарной асимметрии, что проявляется в наличии фронтально-окципитальной асимметрии в диапазоне изучаемых ритмов, также повышенным уровнем когерентности внутри правого полушария при решении невербальных задач.

РЕСПИРАТОРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭРИТРОЦИТОВ БЫЧКА-КРУГЛЯКА В ПРОЦЕССЕ КЛЕТОЧНОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ

Кухарева Т.А., Солдатов А.А.

ФГБУН Институт морских биологических исследований имени А.О. Ковалевского РАН, Севастополь
altali@yandex.ru

Созревание клеток крови у рыб происходит в пронефросе (предпочка) и частично в селезенке. Достигая стадии базофильного нормобласта, клетки вымываются в кровоток, где завершают процесс дифференцировки. При этом, в ходе превращения базофильного нормобласта в зрелый эритроцит, в этих клетках происходит ряд последовательных изменений, направленных на усовершенствование их респираторных характеристик. Количественной оценке этих преобразований посвящена настоящая работа.

Была проведена цитометрическая оценка эритроцитов бычка-кругляка, находящихся на разных этапах дифференцировки, таких как: базофильный нормобласт (БН), полихроматофильный нормобласт (ПН) и зрелый эритроцит. Измеряли размер большой и малой оси клеток, а затем рассчитывали ряд морфометрических характеристик.

Показано, что по мере созревания площадь поверхности эритроцита увеличивалась на 40 %. Толщина диффузионного слоя – на 11%. На стадии ПН за счет роста большой оси клетки эритроидный элемент начинал приобретать форму эллипса. Увеличение объема клетки происходило при переходе из стадии БН в ПН и составило 20%. Удельная поверхность выросла на 17%, что способствовало росту респираторных характеристик эритроцита.

Этим процессам сопутствовало уменьшение объема ядра на 36% (на стадии ПН-зрелый эритроцит), при этом в ядре росло содержание гетерохроматина, что свидетельствовало о снижении обменных процессов в клетке. Ядерно-плазматическое отношение увеличивалось в 2 раза.

Изменение формы и объема эритроцита совпадало с накоплением гемоглобина. Об этом свидетельствовало изменение цвета цитоплазмы с базофильного до светло-серого. Ранее была обнаружена связь между содержанием гемоглобина и уровнем спектрина в клетке. Спектрин – основной белок цитоскелета клетки, а гемоглобин стабилизирует ее конфигурацию. Это позволяет предположить, что именно накопление гемоглобина вызывает изменение формы и размеров эритроцита.

Таким образом, процесс созревания эритроидных элементов (БН → ПН → нормоциты) в циркулирующей крови *Neogobius melanostomus* Р. предполагает обеспечение наиболее эффективного участия эритроцитов в газотранспортных процессах. Основные изменения происходят на этапе: ПН → нормоциты. Они включают: накопление гемоглобина в цитоплазме, подавление функциональной активности ядра и значительный рост диффузионной поверхности. При этом клетки приобретают форму эллипса.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ФРОНТО-ТЕМПОРАЛЬНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ НА ЛИНИИ МЫШЕЙ С ЭКСПРЕССИЕЙ УКРОЧЕННОЙ ФОРМЫ БЕЛКА FUS ЧЕЛОВЕКА

Лыскова Е.А.

ФГБУН Институт физиологически активных веществ РАН, Черноголовка, Россия
lyiskova_katerina@mail.ru

Фронтально-темпоральная лобарная дегенерация (ФТЛД) является третьей по распространенности деменцией после болезни Альцгеймера и болезни Пракинсона и наиболее часто затрагивает пациентов среднего и молодого возраста. Недавние исследования показали, что мутации в генах, кодирующих ДНК/РНК-связывающие белки FUS и TDP-43, могут являться причиной развития бокового амиотрофического склероза (БАС) и ФТЛД.

У больных с БАС поражаются верхние и нижние двигательные нейроны. Заболевание характеризуется мышечной атрофией и прогрессирующими параличами, стремительно развивается и имеет летальный исход. У пациентов с ФТЛД наблюдается медленно прогрессирующая атрофия лобных и височных долей, другие отделы головного мозга остаются практически неповрежденными вплоть до самых поздних стадий заболевания. Заболевание сопровождается нарушением социального поведения, изменением личности, расстройствами речи.

В нашей лаборатории создана линия трансгенных мышей, моделирующих FUSопатию с характерными патогистологическими включениями в разных отделах нервной системы мыши. От одного общего фаундера после четырех генераций выделены две сублинии с различающейся продолжительностью жизни модельных животных. У мышей с преимущественной локализацией патологического процесса в двигательных нейронах спинного мозга (FUS-SL) воспроизводится клиническая картина БАС со стремительным течением модельного заболевания и ранней летальностью. Вторая сублиния FUS-мышей, в которой патология обеспечивается эктопной экспрессией той же трансгенной кассеты, кодирующей укороченную форму белка FUS человека под нейроспецифичным промотором, характеризуется высокой продолжительностью жизни животных и

отсутствием двигательных расстройств (FUS-LL). Исключительно важным является вопрос, чем определяется анатомическая локализация патологического процесса при одной и той же молекулярной патологии.

Методом иммуногистохимического анализа было подтверждено присутствие FUS реактивных включений в нейронах лобных долей коры головного мозга у FUS-LL мышей. С помощью проведения простых поведенческих тестов и тестов на социальное поведение было показано изменение когнитивных функций у сублинии FUS-LL по сравнению с контрольными животными дикого типа. Методом ОТ-ПЦР в реальном времени были изучены профили уровней экспрессии трансгенной кассеты в различных отделах нервной системы FUS-LL и FUS-SL мышей. Полученные результаты являются достаточным основанием для дальнейших исследований, направленных на валидацию сублинии FUS-LL в качестве трансгенной модели ФТЛД.

ВЛИЯНИЕ ВИТАМИННОГО КОМПЛЕКСА МУЛЬТИВИТ ШАТТЛ НА МИКРОЦИРКУЛЯЦИЮ В КОЖЕ ЧЕЛОВЕКА

Миронова М.В., Оводова А.И., Коняева Т.Н.

ФГБОУ ВПО Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого, Тула, Россия
conyata@mail.ru

С целью объективной диагностики микроциркуляции в коже и оценки эффективности воздействия витаминного комплекса, входящего в состав ряда косметических средств, в нашей работе мы использовали метод лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ). Целью работы было выяснение механизмов воздействия на кровоток в микроциркуляторном русле кожи человека витаминного комплекса на основе данных амплитудно-частотного анализа ЛДФ. В работе использован витаминный комплекс Мультивит Шаттл (Multivit Shuttle), представляющий собой комплекс витаминов Е, F (омега 3-6), пантенола и экстракта Гаммамелиса. Исследования проводились с участием условно здоровых испытуемых, юношей и девушек 18-21-летнего возраста. Анализировали динамику изменения показателя микроциркуляции (ПМ) в ходе реакции и амплитудно-частотные характеристики ЛДФ-грамм.

Установлено, что в ответ на применение комплекса Мультивит Шаттл в группе испытуемых обоих полов величина ПМ достоверно снижается в 1,9 раза по сравнению с ПМ в нативном состоянии, что указывает на снижение средней перфузии в микроциркуляторном русле исследуемой области кожи. О снижении подвижности эритроцитов свидетельствует и достоверное снижение в 1,54 раза показателя колеблемости потока крови – СКО. Амплитудно-частотные характеристики (спектры) ЛДФ-грамм в целом по группе испытуемых обнаружили достоверное снижение амплитуд в диапазонах эндотелиальной, нейрогенной и миогенной активности (на 36, 48 и 47%, соответственно).

Нами обнаружены также половые различия в статистических и спектральных показателях ЛДФ-грамм: величина ПМ достоверно снижается по сравнению с контролем как в группе юношей, так и в группе девушек (в 2,3 раза и 1,7 раза, соответственно), что указывает на более выраженное снижение перфузии в микроциркуляторном русле юношей в исследуемой области кожи. О более выраженном снижении подвижности эритроцитов у юношей свидетельствует также и достоверное снижение в 1,7 раза показателя СКО. Амплитудно-частотный анализ ЛДФ-грамм обнаруживает у юношей достоверное снижение на 48% амплитуды колебаний в диапазоне эндотелиальной активности; у девушек отмечается обратная закономерность: достоверно снижаются амплитуды колебаний в диапазонах нейрогенной и миогенной активности (на 44% и 45%, соответственно) и не выявлено достоверных различий показателей в диапазоне эндотелиальной активности. Таким образом, можно говорить о выраженных половых различиях в доминирующих механизмах регуляции кожного кровотока в ответ на применение комплекса Мультивит Шаттл.

ФОРМИРОВАНИЕ СПОНТАННОЙ Ca^{2+} АКТИВНОСТИ КЛЕТОК СА3 ПОЛЯ СРЕЗОВ ГИППОКАМПА КРЫС ПОЗДНЕГО (P21-25) НЕОНАТАЛЬНОГО ПЕРИОДА ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА

Митаева Я.И.¹, Можеров А.М.¹, Мухина И.В.^{1,2}

¹ФГАОУ ВО Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского; ²ГБОУ ВПО
Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава России, Нижний Новгород, Россия
yasya13@mail.ru

Данная работа была посвящена изучению влияния двух принципиально разных групп рецепторов и каналов, отвечающих за возникновение Ca^{2+} осцилляций в нейронах и астроцитах. Первая группа Ca^{2+} каналов и рецепторов располагается на клеточной мембране и регулируют проникновение Ca^{2+} внутрь клетки из внеклеточного пространства. Вторая группа Ca^{2+} каналов и рецепторов, располагаясь на мембранах внутренних

органел (митохондрии и эндоплазматический ретикулум), регулируют высвобождение Ca^{2+} из внутриклеточных депо. В работе был использован микроскоп Carl Zeiss LSM 510 Duoscan. Записи кинетики флуоресценции велись с частотой сканирования 1 Гц. Флуоресценция индикаторов регистрировалась в диапазонах 500-530 нм (Oregon Green 488 ВАРТА-1 АМ) и 650-710 нм (Sulforhodamine 101). Для изучения вклада каналов и рецепторов в генерацию Ca^{2+} осцилляций нейронов и астроцитов поля СА3 срезов гиппокампа крыс (P21-25), в перфузионный раствор добавлялись блокаторы и антагонисты. Было показано, что при добавлении в перфузионный раствор антагониста NMDA рецептора - МК-801, происходит снижение количества Ca^{2+} осцилляций в клетках поля СА3 гиппокампа крыс: в пирамидных нейронах на 30%, в интернейронах на 28%. При применении CNQX- антагониста АМРА и каинатных рецепторов Ca^{2+} активность пирамидных нейронов уменьшалась на 31%, а интернейронов на 21%. Добавление в перфузионный раствор антагониста метаботропных глутаматных рецепторов приводило к снижению количества Ca^{2+} осцилляций на 30% только у пирамидных нейронов. Блокатор потенциал-зависимых Ca^{2+} каналов Verapamil влиял на активность пирамидных нейронов и интернейронов, снижая Ca^{2+} активности клеток на 45% и 30%, соответственно. При регистрации Ca^{2+} активности клеток в перфузионном растворе, содержащем все исследуемые блокаторы и антагонисты, наблюдалось снижение количества Ca^{2+} осцилляций у пирамидных нейронов и интернейронов на 70%, у астроцитов на 53%. Полное исчезновение Ca^{2+} осцилляций у клеток происходило только при регистрации активности клеток среза в бескальциевом перфузионном растворе. В результате проведенного исследования было выявлено, что основной вклад в возникновении Ca^{2+} осцилляций в клетках гиппокампа крыс позднего неонатального периода постнатального онтогенеза вносит группа Ca^{2+} рецепторов и каналов, располагающихся на клеточной мембране. При детальном изучении Ca^{2+} каналов и рецепторов этих двух групп выявлена ключевая роль первой группы Ca^{2+} каналов и рецепторов в возникновении Ca^{2+} осцилляций в нейронах, в частности, ионотропные и метаботропные рецепторы глутамата и потенциал зависимые Ca^{2+} каналы L-типа.

ХАРАКТЕРИСТИКА МИНЕРАЛЬНОГО ОБМЕНА В РАННИЙ ПЕРИОД ЛАКТАЦИИ У КОРОВ С РАЗНОЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ ЯИЧНИКОВ

Митяшова О.С., Соломахин А.А., Смекалова А.А., Лебедева И.Ю.

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства имени академика Л.К. Эрнста,
Московская область, Россия
mityashova_o@mail.ru

Реализация воспроизводительной функции самок млекопитающих зависит от сигналов, поступающих из метаболической системы. Такая зависимость особенно остро проявляется у коров с высоким генетическим потенциалом молочной продуктивности, которые в ранний период лактации находятся в состоянии метаболического стресса. Большинство репродуктивных нарушений у этих животных связано с состоянием обмена веществ. Поэтому в представленном исследовании были охарактеризованы изменения ряда показателей минерального обмена в динамике послеродового периода у коров голштинской породы с разной степенью угнетения овариальной активности. За 2 недели до родов и через 1, 3, 5, 7 и 13 недель после родов у животных была взята кровь для биохимического анализа и иммуноферментного определения концентрации прогестерона. Через 7 недель после родов методом ректального исследования и с помощью УЗИ сканера была проведена оценка функционального состояния яичников, на основании которой коров поделили на 3 группы: 1) с активными яичниками (при наличии желтых тел или крупных фолликулов, $n=26$), 2) с низкой активностью яичников (при отсутствии желтых тел и крупных фолликулов, $n=11$) и 3) с неактивными яичниками (при отсутствии желтых тел, а также крупных и средних фолликулов, $n=10$). Дополнительным критерием служил уровень прогестерона в крови. У животных всех групп содержание кальция в крови снижалось на 9-11% через 1 неделю после родов ($p<0,05$ - $p<0,001$), но затем постепенно повышалось. Это повышение наблюдалось уже через 3 недели после родов у животных 1-й группы и только через 7 недель – у животных 2-й группы ($p<0,05$). В то же время у коров 3-й группы концентрация кальция не достигала исходного уровня даже к 13-й неделе послеродового периода и была на 8% ниже, чем в 1-й группе ($p<0,01$). Содержание фосфора в крови не изменялось у коров с активными яичниками, возрастало на 25-30% ($p<0,01$) через 13 недель у коров с низкой активностью яичников и было пониженным на 25-30% ($p<0,001$) через 1 неделю после родов у коров с неактивными яичниками. Кроме того, через 3 недели после родов концентрация магния в крови животных 3-й группы была ниже ($p<0,05$), чем у животных двух других групп. Полученные данные указывают на особенности в изменении содержания кальция, фосфора и магния в крови высокопродуктивных молочных коров с разной степенью угнетения овариальной активности в ранний период лактации. Работа выполнена при финансовой поддержке ФАНО (тема № 0600-2016-0005) и РФФИ (проект № 16-34-00875).

ВЛИЯНИЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ ТРОПОМИОЗИНА НА КАЛЬЦИЕВУЮ РЕГУЛЯЦИЮ АКТО-МИОЗИНОВОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В МИОКАРДЕ

Ощепкова В.Ю.^{1,2}, Щепкин Д.В.², Матюшенко А.М.^{3,4}, Копылова Г.В.², Бершицкий С.Ю.²

¹ФГАОУ ВПО УрФУ имени Первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия; ²ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия; ³ФГБУН Институт биохимии имени А.Н. Баха РАН, Москва, Россия; ⁴ФГБОУ ВПО Московский государственный университет им. М.В.

Ломоносова, Москва, Россия
valeoupi@gmail.com

Фосфорилирование белков саркомера поперечнополосатых мышц является одним из механизмов регуляции их функции. Фосфорилирование тропомиозина (ТМ) меняется в онтогенезе, а также при патологиях миокарда [Rao *et al. Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007]. Функциональное значение фосфорилирования ТМ до конца не изучено. Schulz *et al. [Schulz et al. J Biol Chem.* 2012] не выявили влияния фосфорилирования ТМ на характеристики сокращения сердца мышей, но показали, что его уменьшение нарушает способность миокарда противостоять механическому стрессу. Lu *et al. [Lu et al. J Muscle Res Cell Motil.* 2010] показали, что фосфорилирование ТМ увеличивает Ca^{2+} чувствительность силы в препаратах миокарда. Мы исследовали значение фосфорилирования ТМ для Ca^{2+} регуляции акто-миозинового взаимодействия в миокарде с помощью *in vitro* подвижной системы. В качестве фосфорилированной формы ТМ использовали S283D ТМ.

Мы проанализировали зависимость скорости скольжения тонких нитей, содержащих актин, тропонин и ТМ, от концентрации Ca^{2+} в *in vitro* подвижной системе по миозину из желудочков и предсердий. S283D ТМ не влиял на максимальную скорость тонких нитей и Ca^{2+} чувствительность скорости, но увеличивал скорость при низких концентрациях Ca^{2+} (при pCa 6.5-7.5). Таким образом, на молекулярном уровне фосфорилирование ТМ нарушает ингибирование акто-миозинового взаимодействия в миокарде при низких концентрациях Ca^{2+} .

Наш результат хорошо согласуется с данными, полученными Nixon *et al. [Nixon et al. Arch Biochem Biophys.* 2013] на миофибриллах скелетных мышц, показавшими, что псевдо-фосфорилированный ТМ замедляет деактивацию тонкой нити и расслабление мышц. Замедление релаксации мышц может иметь разное значение для функции скелетной и сердечной мышц. Для увеличения мощности сердечной мышцы необходимо увеличение скорости релаксации для поддержания адекватного наполнения желудочка [Janssen *PM. Am. J Physiol Heart Circ Physiol.* 2010]. Вызванное фосфорилированием ТМ замедление расслабления сердца может удлинять диастолическую фазу его цикла и влиять на наполнение желудочка, уменьшая мощность [Solaro *et al. Nature* 1976; Robertson *et al. J Biol Chem* 1982]. Наоборот, фосфорилирование ТМ может улучшать функцию скелетных мышц. Сила, развиваемая скелетной мышцей, определяется количеством вовлечённых в сокращение волокон. Замедление расслабления, вызванное фосфорилированием ТМ, может снижать порог вовлечения мышечных волокон и увеличивать силогенерацию мышц.

Исследования поддержаны грантом РНФ № 16-14-10044.

ГИПЕРАКТИВАЦИЯ КАЛЬПАИНОВ В ПОПЕРЕЧНО-ПОЛОСАТЫХ МЫШЦАХ ДЛИННОХВОСТОГО СУСЛИКА (SPERMOPHILUS UNDULATUS) В ПЕРИОД «ЗИМНЕЙ» АКТИВНОСТИ

Попова С.С.¹, Вихлянцев И.М.^{1,2}, Захарова Н.М.³, Подлубная З.А.^{1,2}

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН; ²ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт; ³ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия
sp_fh@mail.ru

Исследованы сезонные изменения активности и содержания кальций-активируемых протеаз кальпаинов в сердечной (миокард левого желудочка) и скелетных (m. soleus, состоит преимущественно из волокон медленного типа; m. quadriceps femoris, состоит преимущественно из волокон быстрого типа; m. longissimus dorsi, смешанная мышца, содержащая волокна обоих типов) мышцах длиннохвостого суслика (*Spermophilus undulatus*). В экспериментах были использованы животные, находящиеся в состояниях: «летней» активности (n=5); гибернации (гипотермии, n=5); «зимней» активности (12–14 часов в эутермном состоянии после пробуждения, n=5). Методом казеиновой зимографии исследована активность *in vitro* μ - и m-кальпаинов, присутствующих в белковом экстракте, полученном из гомогената поперечно-полосатых мышц сусликов. В качестве субстрата для кальпаинов использовался казеин. Способность μ - и m-кальпаинов протеолизировать казеин в геле была выше в экстрактах, полученных из m. longissimusdorsi (в 1.44 раза), m. soleus (в 2.14 раза, $P \leq 0.01$) и сердечной мышцы (в 1.83 раза) активных «зимних» сусликов, в сравнении с активностью этих ферментов в экстрактах, полученных из мышц «летних» активных животных, что может свидетельствовать о гиперактивации кальпаинов в период «зимней» активности. С этими результатами согласуются данные Вестерн-блот анализа μ -кальпаина в скелетных мышцах сусликов. Известно, что активация μ -кальпаина (м.м.

80 кДа) сопровождается его аутолизом с образованием фрагментов с м.м. 78 и 76 кДа, которые также обладают протеолитической активностью. В *m. soleus* и *m. longissimus dorsi* активных «зимних» сусликов содержание аутолизированных фрагментов μ -кальпаина было в 1.75 раза ($P \leq 0.01$) и 1.9 раза ($P \leq 0.01$), соответственно, выше по сравнению с их содержанием в мышцах сусликов, находящихся в состоянии «летней» активности или во время гипотермии. В быстрой мышце *vastus lateralis* не было обнаружено достоверных сезонных различий в содержании μ -кальпаина и его аутолизированных фрагментов, а также увеличения *in vitro* активности кальпаинов у активных «зимних» сусликов. Полученные результаты указывают, что гиперактивация кальпаинов, а вместе с этим и белкового обмена происходит в периоды «зимней» активности в сердечной мышце, а также преимущественно в медленных волокнах скелетных мышц суслика. Адаптационное значение этих изменений может заключаться в снижении или предотвращении атрофии поперечно-полосатых мышц суслика в течение продолжительного гибернационного сезона. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 14-04-00112).

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ТИТАНА НА ТКАНИ ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ

Романова А.Р., Цайзель В.Ю.

Стерлитамакский филиал ФГБОУ ВПО Башкирский государственный университет, Стерлитамак, Россия
viktoriyatsaizel@mail.ru

В последние десятилетия, в связи с широким применением наночастиц диоксида титана в промышленности и медицине, становятся актуальными проблемы оценки токсического влияния на функциональное состояние систем органов человека.

Из результатов некоторых токсикологических исследований известно, что диоксид титана (TiO_2) представляет собой природный оксид титана с низкой токсичностью и незначительным биологическим воздействием. Воздействие на здоровье человека может происходить при проглатывании, проникновении через дерму кожи или через воздухоносные пути (Grande F, Tucci P1, 2016, p. 765). Поэтому важно изучить последствия токсикологического воздействия наночастиц TiO_2 на здоровье и окружающую среду.

Цель данного исследования: провести обзор результатов исследований влияния диоксида титана на организм лабораторных животных.

Исследования Sang (2013) показали, что наночастицы диоксида титана накапливаются в тканях селезенки и способствуют производству активных форм кислорода, зависящих от продолжительности проявления воспаления селезенки и некроза в сочетании с увеличением COX-2 и простагландина E2, соответственно на 12,64-64,06%. Кроме того, при длительном воздействии наночастицы диоксида титана повышают экспрессию ERK, AP-1, CRE, Akt, JNK2, MAPKs, PI3-K, C-Jun и C-fos в селезенке. Полученные данные позволили предположить, что наночастицы диоксида титана индуцируют экспрессию COX-2 опосредовано в основном через индукцию AP-1 и CRE, индукция AP-1/CRE происходила через MAPKs/PI3-K/Akt сигнальные пути в селезенке (Sang X et al., 2013, p. 5594).

Результаты исследований Li N. и группы ученых, также показали накопление наночастиц TiO_2 в тканях селезенки мыши, что приводило к перегрузке лимфатических узлов и распространению клубеньковой ткани в селезенки и апоптозу спленоцитов. TiO_2 успешно активизировал ферменты каспазу-3 и каспазу-9, снижая уровень bcl-2 и увеличивал уровень Bax, и продукты генов системы цитохрома C, способствовал накоплению активных форм кислорода. Таким образом, результаты последних исследований установили, что наночастицы TiO_2 активизируют систему апоптоза в спленоцитах мышей через митохондриально-опосредованный путь. Следовательно, наночастицы TiO_2 могут вызвать патологические изменения в селезенке и апоптоз, что приводит к снижению иммунитета мышей (Li N et al., 2010, p. 195).

ВЛИЯНИЕ МЕТОДА АНЕСТЕЗИИ НА НИЗКОЧАСТОТНЫЕ КОМПОНЕНТЫ В СПЕКТРАХ КОЛЕБАНИЙ КОЖНОГО КРОВотоКА У МЫШЕЙ

Серов Д.А.¹, Тихонова И.В.¹, Филина Ю.В.^{2,3}, Васильчикова М.В.¹, Асташев М.Е.¹

¹ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия; ²ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия; ³ГБОУ ДПО Казанская государственная медицинская академия Минздрава России, Казань, Россия

dmitriy_serov_91@mail.ru

Исследование периодических колебаний кожной микроциркуляции у животного требует его продолжительной иммобилизации во время эксперимента. Наиболее часто используемый метод иммобилизации — анестезия. В работе проведен поиск метода анестезии для надежной иммобилизации животного при регистрации кожной микроциркуляции с целью анализа ритмических компонент ее регуляции.

Работа выполнена на мышах-самцах линии BALB/c (20-21 г). Были опробованы два протокола анестезии: 1) вводили смесь анестетиков «Золетил» и «Ксилавет» (ксилазин), в дозах 40 мг/кг, в брюшную полость мыши (n=14); 2) мышей содержали в атмосфере газов NO₂:O₂ (77%:23%) в течение 5 мин, затем в брюшную полость вводили 40 мг/кг «Золетила», продолжая подачу смеси газов через специальную маску в течение всего времени измерения (n=15). В первом случае анестезия наступала через 2-3 мин, во втором — через 4-5 мин после введения «Золетила». У анестезированного животного синхронно в течение 20 мин регистрировали: 1) показатель микроциркуляции с подушечки задней правой лапы методом лазерной доплеровской флуометрии (ЛДФ); 2), электрокардиограмму во втором стандартном отведении для определения частоты сердечных сокращений; 3) ректальную температуру; 4) частоту дыхания с помощью датчика массового расхода воздуха. ЛДФ-граммы подвергали спектральному анализу с использованием непрерывного вейвлет-преобразования.

При анализе колебаний кожного кровотока у мышей, анестезированных комбинацией «Золетил-Ксилавет», обнаружены слабо выраженные пики в областях частот, близких к частотам кардиоритма и миогенной активности (2,48 Гц и 0,07 Гц, соответственно). В частотных диапазонах нейрогенной эндотелиальной активностей пиков не обнаружено. Анализ ЛДФ-грамм животных, анестезированных комбинацией «Золетил-закись азота», выявил отчетливые пики в низкочастотных диапазонах миогенной (0,06–0,2 Гц), нейрогенной (0,02–0,06 Гц) и эндотелиальной (0,009–0,02 Гц) активностей. Обнаружен выраженный пик в области 4,14 Гц в частотном диапазоне кардиоритма. Низкочастотные ритмы колебаний кожного кровотока отчетливо выявляются при иммобилизации мыши с помощью анестезии комбинированным наркозом «Золетил-закись азота» при сохранении пика кардиоритма. Предложенный метод анестезии является наиболее адекватным для иммобилизации животных при регистрации ЛДФ-грамм.

Авторы благодарят А.В. Танканаг, А.А. Гриневица, Н.К. Чемериса и В.Г. Сафронову за помощь в работе и детальное обсуждение результатов. Работа поддержана грантом РФФИ № 16-15-00248.

ЭКСПРЕССИЯ ТЕРМИНАЛЬНЫХ КОНЦОВ ПРЕСЕНИЛИНА-1 ВЛИЯЕТ НА АКТИВНОСТЬ ДЕПО-УПРАВЛЯЕМЫХ КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ

Суслова М. А.^{1,2}, Скобелева К. В.^{1,2}

¹ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого; ²ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия
liren@list.ru

Болезнь Альцгеймера (БА) – это наиболее частая причина деменции. БА характеризуется прогрессирующей потерей памяти и снижением когнитивных способностей. Несмотря на десятилетия исследований, в настоящее время не существует лекарства, способного облегчить симптомы БА. Значительная доля мутаций, ассоциированных с наследственной формой БА, находится в гене *PSEN1*. Этот ген кодирует белок пресенилин-1 (PS1), принимающий участие в созревании амилоидных белков и регуляции кальциевого гомеостаза. Поскольку депо-управляемый вход кальция в нейрон вносит вклад в формирование памяти, депо-управляемые кальциевые каналы являются потенциальными мишенями при лечении БА.

Пресенилин-1 – каталитическая субъединица γ-секретазного комплекса, который разрезает белок предшественник амилоида (APP) до β-амилоида – главного компонента амилоидных бляшек. Некоторые мутации в пресенилине-1 приводят к нарушению разрезания APP и накоплению агрегатов Aβ. В процессе созревания пресенилин-1 автокаталитически разрезается на два терминальных фрагмента. Было показано, что накопление нерасщепленной формы пресенилина-1 приводит к значительному увеличению депо-управляемого кальциевого входа. Одним из объяснений этого эффекта накопления может быть конкуренция за вклад в регуляцию активности кальциевых каналов между полноразмерной формой белка и его терминальным фрагментом.

Целью работы являлось исследование роли конкуренции полноразмерного пресенилина-1 со своими терминальными фрагментами в регуляции кальциевого гомеостаза в норме и патологии БА. Для этого был измерен депо-управляемый вход кальция в клетках мышинной нейробластомы Neuro2a, экспрессирующей пресенилин-1 дикого типа или нерасщепляемую мутантную форму белка – PS1 deltaE9. В этих модельных системах было определено влияние N- и C-терминальных фрагментов на депо-управляемый вход.

Регистрация внутриклеточной концентрации кальция проводилась с использованием флуоресцентного зонда Fura-2AM. Депо-управляемый вход кальция развивался в результате опустошения внутриклеточных кальциевых депо с помощью блокатора кальциевой помпы SERCA.

Нами было обнаружено, что увеличенный депо-управляемый вход в модели болезни Альцгеймера (PS1 deltaE9) снижается при экспрессии N-терминального конца пресенилина-1. При этом экспрессия C-терминального фрагмента не влияет на уровень депо-управляемого входа кальция.

Данная работа поддержана грантом РФФИ №16-34-00649.

ИЗУЧЕНИЕ ИННЕРВАЦИИ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ КРЫС В НОРМЕ

Сырцова М.А.

ГБОУ ВПО Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия Минздрава России,
Санкт-Петербург, Россия
marina.syczova@mail.ru

Нервные аппараты легкого изучались с использованием иммуноцитохимической реакции на синаптофизин (СФ) - белок, ассоциированный с синаптическими пузырьками. Было установлено, что наиболее богато представлена иннервация бронхиального дерева. В стенках крупных бронхов выявлено несколько нервных сплетений. Самое поверхностное - адвентициальное, широкопетлистое сплетение, состояло из крупных нервных стволиков. Оно переходило в более глубокое узкопетлистое сплетение из тонких нервных пучков и микроангиоцитов, залегающее в перибронхиальной соединительной и лимфоидной ткани. В состав этих двух сплетений входили в основном проводниковые нервные волокна. Третье - терминальное сплетение, состоящее из тонких аксонов и их расширенных терминалей, было связано со средней оболочкой бронхов. Некоторые синаптофизин-положительные терминалы (СФПТ) из мышечной оболочки бронха выходили в подслизистую основу и слизистую оболочку и прослеживались в тесной связи с капиллярами, железистыми клетками, а часть из них близко подходила к базальной мембране клеток бронхиального эпителия. В вегетативных нервных сплетениях, расположенных среди лимфоидной ткани бронхов, часто встречались микроангиоциты, одиночные парасимпатические нейроны и их небольшие группы. Парасимпатические нейроны хорошо идентифицировались иммуногистохимическим методом благодаря наличию вокруг их тел перичеселлюлярных синаптических аппаратов, образованных преганглионарными нервными волокнами. Синаптические бутоны имели интенсивный черно-коричневый цвет, а перикарионы только слегка проявлялись. При изучении иннервации бронхов и сосудов легкого было получено подтверждение описанному ранее другими исследователями факту присутствия кардиомиоцитов в средней оболочке крупных ветвей легочных вен. Неожиданным оказалось почти полное отсутствие нервных аппаратов в стенке легочной артерии, которая следовала и ветвилась параллельно с бронхиальным деревом в паренхиме легкого. Ни в адвентиции, ни в средней оболочке, достаточно хорошо представленной гладкомышечными клетками (ГМК) и эластическими мембранами, ни в интима с помощью иммуногистохимической реакции на СФ не удалось обнаружить СФПТ. Исключение, составляла лишь часть мелких артерий и артериол, располагающихся в адвентиции бронхов. В нескольких случаях нам удалось наблюдать, что именно на них присутствовала густая сеть СФПТ, источником которой являлось основное терминальное сплетение нервных волокон кольцевых пучков ГМК средней оболочки бронха.

ВОЗМОЖНЫЕ ПУТИ ЭНДОГЕННОЙ РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ КАЛЬЦИНЕЙРИНА В НЕРВНО-МЫШЕЧНЫХ СИНАПСАХ МЫШИ.

Тарасова Е. О.¹, Гайдуков А. Е.¹, Балежина О. П.¹

ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия
cate1990@list.ru

Кальцийнейрин – широко экспрессируемая в центральной нервной системе серин-треониновая фосфатаза, активируемая кальцием и кальмодулином. Было показано, что и в периферических синапсах кальцийнейрин функционально активен. В частности, в моторных синапсах мышцы кальцийнейрин конститутивно тормозит вызванный выброс ацетилхолина. В связи с этим, интересно было проследить возможные пути активации кальцийнейрина на данном объекте.

В первую очередь, мы исследовали действие блокатора кальмодулина W-7 (10 мкМ) на нервно-мышечную передачу. На фоне W-7 не происходило достоверных изменений ни мембранного потенциала мышечных волокон, ни амплитуды миниатюрных потенциалов концевой пластинки (МПКП) по сравнению с контролем (Амплитуда МПКП: $0,71 \pm 0,07$ мВ ($n=16$) на фоне W-7 и $0,76 \pm 0,07$ мВ в контроле ($n=12$, $p>0,05$)). Амплитуда и квантовый состав потенциалов концевой пластинки (КС ПКП), регистрируемых в ответ на ритмическую высокочастотную стимуляцию диафрагмального нерва (50 Гц, 1 сек), также не отличались от контрольного уровня. Иными словами, ингибирование кальмодулина не приводило к увеличению вызванной секреции ацетилхолина (АХ), которое наблюдается при избирательном ингибировании кальцийнейрина. Это могло указывать на наличие в пресинаптических окончаниях моторных синапсов мышцы форм кальцийнейрина, обладающих функционально значимой активностью, несмотря на ингибирование кальмодулина.

Известно, что такие формы могут возникать при частичном протеолизе кальцийнейрина со стороны цистеин-протеазы кальпаина. Подавление активности кальпаина при помощи его специфического ингибитора PD150606 в концентрации 10 мкМ не приводило к изменениям ни спонтанной, ни вызванной активности нервно-мышечных синапсов. В то же время, в концентрации 100 мкМ PD150606 вызывал заметное усиление нервно-мышечной передачи. В контроле КС ПКП составил $26,86 \pm 1,28$ ($n=14$), а на фоне PD150606 – $34,77 \pm 2,49$

($n=15$, $p<0,05$). Данный прирост вызванной секреции ацетилхолина (приблизительно на 30%) сопоставим с таковым при ингибировании кальцинеина.

Таким образом, основываясь на результатах проведённых серий экспериментов, можно предположить, что существование тонической тормозной активности кальцинеина в пресинаптических окончаниях нервно-мышечных синапсов мышцы может быть связана с действием кальпаина на данную фосфатазу.

РАЗНОНАПРАВЛЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В БЕЛКАХ ТОЛСТЫХ И ТОНКИХ НИТЕЙ В ПОПЕРЕЧНОПОЛОСАТЫХ МЫШЦАХ ГРЫЗУНОВ В УСЛОВИЯХ РЕАЛЬНОЙ МИКРОГРАВИТАЦИИ

Уланова А.Д.^{1,2}, Грицына Ю.В.¹, Салмов Н.Н.¹, Вихлянцев И.М.^{1,2}

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН; ²ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушино, Россия

a-okyeva@yandex.ru

Известно, что в условиях микрогравитации скелетные мышцы, содержащие большее количество «медленных» мышечных волокон (например, *m. soleus*), атрофируются. На молекулярном уровне эти изменения сопровождаются увеличением доли «быстрых» изоформ тяжёлых цепей миозина (ТЦМ), снижением содержания тайтина и небулина – гигантских белков толстых (тайтин) и тонких (небулин) нитей, а также гиперфосфорилированием тайтина. Происходят ли подобные изменения в условиях гравитационной разгрузки в скелетных мышцах, содержащих больше «быстрых» волокон, а также в сердечной мышце? Ответы на этот вопрос дают результаты исследований, проведённых на поперечнополосатых мышцах животных, пребывавших 12-суток («Фотон-М3») и 30-суток («BION-M1») в космическом полете. Не обнаружено выраженных атрофических изменений, а также значительного снижения содержания тайтина и небулина в трёх «быстрых» скелетных мышцах (*m. tibialis anterior*, *m. gastrocnemius*, *m. psoas*) монгольской песчанки (*Meriones Unguiculatus*) после 12-суточного космического полета. При этом выявлены разнонаправленные изменения изоформного состава ТЦМ: увеличение доли «быстрых» изоформ ТЦМ (*m. psoas*), уменьшение доли «быстрых» изоформ ТЦМ (*m. gastrocnemius*), отсутствие изменений (*m. tibialis anterior*). Полученные результаты свидетельствуют об адаптации данных скелетных мышц монгольской песчанки к условиям микрогравитации. Разнонаправленные изменения в изоформном составе ТЦМ обнаружены и в мышцах мышей после 30-суточного космического полета: уменьшение доли «быстрых» изоформ ТЦМ в *m. gastrocnemius* и *m. tibialis anterior*, отсутствие изменений в *m. psoas*. Однако при этом в *m. gastrocnemius* полетных мышей обнаружены атрофические изменения, сопровождающиеся снижением содержания тайтина и небулина и гиперфосфорилированием тайтина.

Повышенный уровень фосфорилирования тайтина на фоне увеличения доли N2BA-изоформы этого белка, обнаружен в миокарде монгольских песчанок группы «полет». Эти изменения могут иметь адаптационное значение и быть направлены на увеличение силы сердечных сокращений. В миокарде мышей после 30-суточного космического полета не выявлено изменений в изоформном составе ТЦМ, содержании и уровне фосфорилирования тайтина, что указывает на отсутствие негативных изменений в исследуемых миокарде мышей после 30-суточного космического полета. Таким образом, полученные результаты могут свидетельствовать об активации разных сигнальных путей, ответственных за оборот этих белков в исследуемых мышцах грызунов в условиях реальной микрогравитации.

Работа поддержана грантами РФФИ № 14-04-00112 и 14-04-32240

РОЛЬ БЕТА1 И 2 АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ В ЭФФЕКТАХ ИЗОПРОТЕРЕНОЛА НА БАЛАНС ПРОДУКЦИИ АФК-NO В УСЛОВИЯХ ОКИСЛЕНИЯ МЕМБРАННОГО ХОЛЕСТЕРИНА

Урсан Р.В.^{1,2}, Дутка К.М.¹

¹Приднестровский государственный университет имени Т.Г. Шевченко, Тирасполь, Республика Молдова;

²ГБОУ ВПО Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия

roman.ursan@gmail.com

Недавно нами было показано, что окисление мембранного холестерина с помощью холестерин оксидазы изменяет ответ кардиомиоцитов предсердий мышей на кратковременную фармакологическую стимуляцию бета-адренорецепторов изопротеренолом. После предварительного окисления мембранного холестерина изопротеренол начинает увеличиваться продукцию внутриклеточных АФК, что, вероятно, вызывает уменьшение продукции оксида азота (II) в функционально активных предсердиях. Однако, остался нерешённым вопрос о том, какие именно бета-адренорецепторы задействованы в описанное выше смещение соотношения АФК/NO, что и послужило целью исследования. Уровни АФК и NO детектировали с помощью

флуоресцентных меток H2DCF и DAF-FM. Использование селективных бета-1-адреноблокатора (CGP-20712A) или бета-2-адреноблокатора (ICI-118.551) в контрольной группе – без использования холестерин оксидазы - не приводило к достоверному изменению продукции ни АФК, ни NO. После окисления мембранного холестерина на фоне CGP-20712A стимуляция бета-адренорецепторов вела к незначительному снижению продукции NO, в правом предсердии уровень NO снижался несколько активнее, чем в левом. Флюоресценция H2DCFDA при этих же условиях не изменялась в течение всего периода наблюдения как в сокращающихся предсердиях, так и нет. Аппликация изопротеренола на фоне предэкспозиции холестерин с оксидазой и действия ICI-118.551 существенно увеличивала флюоресценцию DAF-FM, и вновь, эта тенденция в сокращающихся правых предсердиях была более выражена, нежели в левых. Концентрация АФК при прочих равных условиях возрастала слабо, независимо от того сокращалось предсердие или нет. Таким образом, после окисления мембранного холестерина бета1- и бета2-адренорецепторы начинают в разных направлениях изменять продукцию NO, тогда как продукция АФК при стимуляции предсердий изопротеренолом требует участия обоих подтипов адренорецепторов. Учитывая то, что и CGP-20712A и ICI-118.551 устраняли эффект оксидазы холестерина на смещение баланса АФК/NO в ответ на стимуляцию бета-адренорецепторов можно предположить, что бета-1- и бета-2-адренорецепторы формируют функциональный комплекс, который запускает сигнальные события, приводящие к всплеску образования АФК, с последующим снижением генерации NO. Полученные данные позволяют по новому взглянуть на возможности взаимодействия эффектов бета1- и бета2-адренорецепторов при изменении свойств плазматических мембран клеток сердца.

АНАЛИЗ ЭФФЕКТОВ ПОЛУЧЕННЫХ ПРИ ДЕЙСТВИИ СИНЕГО СВЕТА НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ КЛЕТОК В УСЛОВИЯХ IN VITRO И IN VIVO

Фахранурова Л.И.

ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия
LFakhranurova@gmail.com

В последнее время к рискам (environmental risks) возникновения макулярной дистрофии сетчатки относят излучение в синей части спектра. Эта точка зрения подтверждается большим гистологическим сходством изменений в сетчатке пожилых людей и изменений, вызванных воздействием интенсивного света. Однако, проведенное нами исследование функциональной активности сетчатки кролика после облучения синим светом не показало значительного снижения последней. Степень развития дистрофических состояний в сетчатке у кролика после облучения оценивали с помощью метода электроретинографии. Электроретинографию (ЭРГ) применяют для количественной оценки функционального состояния нейронов сетчатки, более точного определения локализации патологического процесса. ЭРГ регистрировали с помощью компьютерного многофункционального комплекса «Нейро-ЭРГ» (ООО «Нейрософт», г. Иваново, Россия) после предварительной темновой адаптации.

Поэтому нами было принято решение облучить культуру клеток роговицы (которая является первым барьером на пути солнечного света) и непосредственно культуру клеток пигментного эпителия сетчатки. Для исследования жизнеспособности клеток был применен МТТ тест, окрашивание СУТО. Интересным оказался факт того, что культура клеток роговицы оказалась более чувствительнее к облучению, чем культура клеток пигментного эпителия. Жизнеспособность клеток роговицы при облучении 10 мин падала на 60%, в то время как у пигментного эпителия сетчатки всего на 40%.

Таким образом, результаты, полученные на кроликах *in vivo* (неявное угнетение функциональной активности), можно объяснить тем, что основное повреждение получала больше роговица, чем пигментный эпителий.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента МК-1880.2017.7.

ВЛИЯНИЕ КАРДИОМИОПАТИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ ТРОПОМИОЗИНА НА ИЗГИБНУЮ ЖЕСТКОСТЬ ТОНКИХ ФИЛАМЕНТОВ

Филиппова М. Е.^{1,2}, Набиев С.Р.², Никитина Л.В.², Матюшенко А.М.^{3,4}, Копылова Г.В.², Щепкин Д.В.², Бершицкий С.Ю.²

¹ФГАОУ ВПО УрФУ имени Первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия; ²ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия; ³ФГБУН Институт биохимии имени А.Н. Баха РАН, Москва, Россия; ⁴ФГБОУ ВПО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия
rituly_22@mail.ru

В основе патогенеза большинства кардиомиопатий лежат наследственные изменения в генах мышечных белков, в частности тропомиозина (ТМ), который играет важнейшую роль в кальциевой регуляции сокращения сердечной и скелетной мышц. На сегодняшний день известно около 30 мутаций ТМ, приводящих к кардиомиопатиям [Redwood & Robinson, *J. MuscleRes. CellMotil.*, 2013]. Часть из них находится в области связывания ТМ с тропонином Т вблизи остатка Cys-190 в молекуле ТМ и ассоциированы с гипертрофическими кардиомиопатиями (ГКМП).

Используя оптическую ловушку [Nabiev *etal.*, *BiophysJ.*, 2015], мы измерили изгибную жесткость тонких филаментов, содержащих тропомиозин с мутациями, находящимися в области взаимодействия его с тропонином Т (L185R, I172T, E180G и E180V) и приводящими к ГКМП.

Обнаружено, что все мутации за исключением E180V не влияют на жесткость тонкого филамента. Замена E180V увеличивает ее с $5.9 \pm 0.6 \text{ K} \times 10^{-26} \text{ Н} \times \text{м}^2$ для WT ТМ до $7.6 \pm 0.5 \text{ K} \times 10^{-26} \text{ Н} \times \text{м}^2$. Ранее показано, что L185R, E180G и E180V ТМ увеличивают кальциевую чувствительность скорости скольжения тонких филаментов в *invitro* подвижной системе, а I172T ТМ уменьшает ее; все мутации не влияют на скорость тонких филаментов при насыщающей концентрации кальция, кроме E180G, которая ее увеличивает [Matyushenko *et al.*, *Biochemistry*, 2017]. В литературе активно обсуждается вопрос о корреляции жесткости тропомиозина и параметров кальциевой активации тонкого филамента [Loong *et al.*, *FEBSLett.*, 2012; Li *etal.*, *BiochemBiophysResCommun.*, 2012; Li *etal.*, *BiochemBiophysResCommun.*, 2014; Nabiev *etal.*, *BiophysJ.* 2015; Lehman *etal.*, *ArchBiochemBiophys.* 2015].

При сопоставлении значений жесткости, полученных в нашем исследовании, и характеристик кальциевой зависимости скорости тонких филаментов в *invitro* подвижной системе видно, что изменение жесткости филамента не коррелирует с изменением его максимальной скорости и кальциевой чувствительности. Полученные результаты очень важны, так как говорят о том, что данная связь не так очевидна, как кажется.

Исследования поддержаны РФФИ (грант № 15-34-20136 и 15-04-01558).

ВЛИЯНИЕ РЕКОМБИНАНТНОЙ ПЛАЗМИДНОЙ КОНСТРУКЦИИ, КОДИРУЮЩЕЙ ГЕНЫ VEGF-165 И BMP2, НА ОСТЕОГЕНЕЗ И АНГИОГЕНЕЗ IN VITRO

Халиуллин М.Р.¹, Журавлева М.Н.¹, Деев Р.В.², Ризванов А.А.¹

¹ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия; ²ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова Минздрава России, Рязань, Россия
urkrass2@gmail.com

Костный морфогенетический белок BMP2 – ключевой фактор в процессе костной регенерации, стимулирующий дифференцировку остеобластов и стволовых клеток и способствующий замещению хрящевой ткани на костную. Сосудистый эндотелиальный фактор роста VEGF 165 улучшает кровоснабжение области повреждения, способствуя более эффективному замещению костного дефекта. Ранее показано, что VEGF165 и BMP2 обладают выраженным синергизмом в отношении регенерации костной ткани.

Нами была разработана генетическая конструкция на основе модифицированного двухкассетного плазмидного вектора pBudCE4.1 (Invitrogen), ко-экспрессирующая гены *bmp2* и *vegfl65a* под промоторами CMV и EF1-а. Синтез *denovo* нуклеотидной последовательности и секвенирование проведены компанией GenScript (США).

Наработку рекомбинантных белков VEGF165 и BMP2 осуществляли в культурах CHO после трансфекции Turbofect (Invitrogen), и показали, что их биосинтез сохраняется не менее десяти дней с максимальной концентрацией VEGF165 и BMP2 на 1-2 дни культивирования.

Мультипотентные стромальные клетки (МСК) костного мозга человека выделяли от здоровых доноров с их добровольного информированного согласия и использовали для формирования капиллярноподобных структур на матриксе Matrigel под воздействием супернатантов с клеток CHO с VEGF165 в течение 16 часов.

Число узлов ветвления клеток, трансфецированных pBud-Kan-VEGF165-BMP2 (супернатант VB), составило $65,5 \pm 9,25$, против $19,75 \pm 8,3$ в контроле (супернатант с клеток CHO, трансфецированных pEGFP-N2 (супернатант GFP)). Таким образом, pBud-Kan-VEGF165-BMP2 способствует ангиогенезу *in vitro*.

Остеобласты черепа новорожденных крыс выделяли методом инкубации с коллагеназой краба в течение часа, согласовали с Этическим комитетом КФУ. Остеобласты инкубировали со средой, кондиционированной супернатантом VB, в течение 21 суток со сменой среды раз в 3 дня. В качестве контрольной применяли среду, кондиционированную супернатантом GFP. Культуры фиксировали, окрашивали ализариновым красным. Связавшийся краситель экстрактировали. Оптическая плотность экстрактов измерена на Tecan Infinite Pro 2000, и составила $0,14 \pm 0,008$ о.е. для остеобластов, культивированных на среде с добавлением супернатанта VB ($0,11 \pm 0,01$ в контроле). Накопление кальция в культурах остеобластов с добавлением супернатанта VB происходило лучше, чем в контроле, что говорит об их дифференцировке в остециты.

Таким образом, нами была получена плазмидная конструкция pBud-Kan-VEGF165-BMP2 и подтверждена ее эффективность в отношении стимуляции остео- и ангиогенеза *in vitro*.

ЭКЗОЦИТОЗ СИНАПТИЧЕСКИХ ВЕЗИКУЛ И СЕКРЕЦИЯ МЕДИАТОРА В ДВИГАТЕЛЬНЫХ НЕРВНЫХ ОКОНЧАНИЯХ ПРИ НАРУШЕНИИ ФУНКЦИИ СЕПТИНОВ

Хисамиева Г. А.

ГБОУ ВПО Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия

guzel13g96@mail.ru

Септины представляют собой консервативное, относительно недавно открытое семейство ГТФ-связывающих белков, являющееся компонентом цитоскелета. Функции септинов в нейронах остаются недостаточно изученными. В экспериментах на нервно-мышечных препаратах диафрагмы мыши с использованием внутриклеточного микроэлектродного отведения постсинаптических сигналов и флуоресцентной конфокальной микроскопии исследовались процессы экзоцитоза синаптических везикул и секреции медиатора в условиях нарушения функции септинов. Был использован физиологический раствор для теплокровных. В некоторых экспериментах для увеличения интенсивности спонтанной секреции медиатора препарат подвергался экспозиции в гиперкалиевом растворе (содержание ионов K^+ увеличено до 40 мМ, содержание ионов Na^+ изотонически уменьшено). Для инициации вызванной секреции медиатора производилось раздражение двигательного нерва сверхпороговыми прямоугольными импульсами. В качестве ингибитора полимеризации/деполимеризации септиновых гетероолигомеров был использован форхлорфенурон (20-50 мкМ), который добавлялся в перфузионный раствор за 30 мин до стимуляции секреции медиатора. Блокирование сокращений мышечных волокон осуществлялось с помощью μ -конотоксина и d-тубокурарина. Регистрация потенциалов концевой пластинки (ПКП) и миниатюрных ПКП осуществлялась с помощью внутриклеточных стеклянных микроэлектродов, заполненных 2.5М KCl, подведение которых осуществлялось под контролем интерференционно-поляризационного микроскопа. Свечение флуоресцентного красителя FM 1-43 наблюдали на микроскопе Olympus BX51WI, оснащенного конфокальным сканирующим диском. Обнаружено, что экспозиция форхлорфенурана приводила к снижению интенсивности спонтанной секреции медиатора в стандартном и гиперкалиевом растворах, а также снижению интенсивности вызванной секреции при высокочастотном раздражении двигательного нерва. Экспозиция гиперкалиевых растворов или высокочастотное раздражение нерва предварительно окрашенных флуоресцентным красителем FM 1-43 препаратов приводили к быстрому падению интенсивности свечения нервных терминалей; однако, форхлорфенурон замедлял динамику падения свечения. Таким образом, нарушение функции септинов в двигательных нервных окончаниях приводит к нарушению процессов экзоцитоза и секреции медиатора.

АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ГЕМОКОАГУЛЯЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА, СОЧЕТАННОЙ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

Цепочкина А.В., Понасенко А.В., Хуторная М.В., Жидкова И.И., Барбараш О.Л.

ФГБУ Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний РАМН, Кемерово, Россия

sepoav1991@gmail.com

Количество больных сахарным диабетом 2 типа (СД 2 типа) неуклонно растет во всем мире. Являясь самостоятельным хроническим прогрессирующим заболеванием, СД 2 типа относится к одному из основных независимых факторов риска развития заболеваний сердечно-сосудистой системы, включая атеросклероз и инфаркт миокарда, и осложняющей течение стабильной ишемической болезни сердца (ИБС). У пациентов с СД

2 типа могут наблюдаться гемостатические нарушения, такие как: гиперкоагуляция, гипофибринолиз и дисфункция тромбоцитов. Нарушения в системе гемостаза и гемореологии являются важным звеном атерогенеза при СД 2 типа. С этих позиций, представляется целесообразным изучение значения основных факторов свертывающей системы крови у пациентов со стабильной ИБС и их взаимосвязь с СД 2 типа.

На сегодняшний день актуальным является поиск молекулярно-генетических маркеров предрасположенности к мультифакториальным заболеваниям. Изучение генетических маркеров развития СД 2 типа позволит максимально рано выявлять группы риска и возможность своевременно реализовывать профилактические мероприятия.

Исходя из этого, **целью исследования** было определить взаимосвязь полиморфизмов генов системы гемостаза у пациентов с ИБС с развитием СД 2 типа.

Материалы и методы: Исследовано 260 образцов ДНК от пациентов со стабильной ИБС (НИИ КПССЗ, г. Кемерово). Выделены 2 группы в зависимости от наличия СД 2 типа. Геномную ДНК выделяли методом фенол хлороформной экстракцией. Генотипирование проводили методом аллель – специфичной ПТ-ПЦР. Статистическую обработку данных проводили при помощи пакета программ «Statistica 10.0», SNPStats. Все участники подписывали информированное согласие на участие в исследовании.

Результаты: Значимых ассоциаций между полиморфизмами генов *F2 (rs1799963)*, *F5(rs6025, rs6027)*, *F13A1(rs5985)* выявлено не было. Однако, генотип А/А полиморфного варианта rs6046 *F7* чаще встречался в группе пациентов с СД 2 типа (5.9%), по сравнению с группой пациентов без СД 2 типа (0%) и ассоциирован с трехкратным увеличением риска (ОШ= 3.03, ДИ95% =1.35-6.81, $p= 0.001$). Также установлено, что частота генотипа С/Т полиморфного локуса rs5918 гена *ITGB3* была выше в выборке пациентов с СД 2 типа (35,3 %), чем в группе без такового (20,9%), что свидетельствует о более высоком уровне риска развития СД 2 типа (ОШ=2.52 ДИ95% =1.11-5.74, $p=0.037$).

ГИПОКСИЯ КАК МОДУЛЯТОР ABCB1-БЕЛКА

Черных И.В., Щулкин А.В., Якушева Е.Н., Полупанов А.С.

ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова Минздрава
России, Рязань, Россия
snorzgmu@gmail.com

Введение: ABCB1-белок (гликопротеин-P, Pgp) – это эффлюксный АТФ-зависимый мембранный белок-транспортер, который функционирует в качестве насоса, выбрасывающего из клеток широкий спектр липофильных эндо- и ксенобиотиков. Изменение функционирования ABCB1-белка может повлечь модификацию фармакокинетики лекарственных средств - его субстратов.

Цель работы: оценить экспрессию ABCB1-белка в коре головного мозга крыс wistar при односторонней окклюзии общей сонной артерии, а также при окклюзии-реперфузии, и проанализировать корреляционную зависимость между экспрессией транспортера и свободно-радикальным статусом ткани мозга.

Материалы и методы. Работа выполнена на 90 крысах-самцах wistar массой 250 – 300 г. Животных разделили на 3 группы: 1-я группа – ложнооперированные животные ($n=6$); 2-я группа – ишемия головного мозга; 3-я группа – ишемия головного мозга (30 мин) с последующей реперфузией. Животные 2-й группы были разделены на серии: 30 мин, 60 мин, 1,5 ч, 4 ч, 12 ч, 5 суток и 14 суток после окклюзии общей сонной артерии и аналогичные сроки после 30-минутной окклюзии и реперфузии – для 3-й группы ($n=6$ в каждой группе на каждый срок эксперимента). Для исследования забирали кору лобной доли головного мозга. Гистологический материал подвергался стандартной иммуногистохимической обработке. В гомогенате мозга определяли уровень ТБК-реактивных продуктов, свободных сульфгидрильных групп, активность глутатионпероксидазы и глутатион-S-трансферазы.

Результаты: Установлено, что экспрессия ABCB1-белка снижалась на 12-й ч окклюзии на 59,2% ($p<0,05$) и увеличивалась на 65,9% ($p<0,05$) на 5-е сутки опыта. Односторонняя окклюзия общей сонной артерии с последующей реперфузией приводила к снижению экспрессии ABCB1-белка в ткани мозга через 4 и 12 ч после реперфузии на 61,3% и 74,8% ($p<0,05$) соответственно. В остальные сроки изучаемый показатель достоверно от значений интактных животных не отличался ($p>0,05$). Окклюзия общей сонной артерии, а также окклюзия-реперфузия приводили к развитию окислительного стресса в ткани коры головного мозга. Также была обнаружена корреляция экспрессии ABCB1-белка в мозге и активности глутатионпероксидазы на протяжении всего исследования ($R_s=0,352$, $p=0,024$).

Работа поддержана грантом РФФИ 16-44-620292 p_a

АМИЛОИДНЫЕ СВОЙСТВА АГРЕГАТОВ СЕРДЕЧНОГО МИОЗИН-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА С

Бобылёва Л.Г.¹, Шумейко С.А.¹, Вихлянцев И.М.^{1,2}, Бобылёв А.Г.^{1,2}

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН; ²ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия

Shumik92@gmail.com

К настоящему времени известно большое количество белков способных в определенных условиях формировать агрегаты с β -структурой. Такие агрегаты называются амилоидами. Наличие преобладающей β -складчатой структуры у всех амилоидных агрегатов обеспечивает им такие свойства, как специфическое связывание с красителями Конго красным и тιοфлавином Т, двойное лучепреломление поляризованного света, а также устойчивость к воздействию большинства растворителей и протеаз [1-3].

Многим из известных амилоидов приписывают токсические свойства, способствующие развитию заболеваний человека, к которым относятся болезнь Альцгеймера, Паркинсона, диабет второго типа и др. Изначально амилоиды изучались после выделения их из пораженных тканей и органов. Но к данному моменту накоплены данные о том, что существуют белки, амилоиды которых не обнаружены в организме, однако которые способны к образованию *in vitro* агрегатов с амилоидо-подобными свойствами. К ним относятся и такие мышечные белки как миозин-связывающий белок С скелетных мышц (MyBP-C), субфрагмент-1 миозина, а также 500 кДа изоформа гладкомышечного тайтина.

В данной работе мы показали способность сердечного миозин-связывающего белка С (сMyBP-C), выделенного из сердца кролика формировать амилоидо-подобные агрегаты в растворе, содержащем 0,03 М CaCl_2 , 10 мМ имидазола, pH 7,0 и 0,01М К-фосфат, pH 7,0. По данным электронной микроскопии сMyBP-C формировал аморфные агрегаты и пучки линейных фибрилл длиной более 2 мкм и шириной до 500 нм. Агрегаты сMyBP-C связывались с красителями на амилоиды Конго красным и тιοфлавином Т. В дальнейшем, будет проведены исследования структуры амилоидо-подобных агрегатов этого белка методом рентгеновской дифракции, для выявления β -структуры.

На сегодняшний день нет данных, указывающих на накопление данного белка в виде амилоидных отложений при амилоидозах сердца. Однако существуют данные, которые свидетельствуют об увеличении накопления неправильно свернутых белков в клетке в присутствии мутантной формы (укороченной) сMyBP-C при семейной гипертрофической кардиомиопатии. Поэтому исключить формирование амилоидных агрегатов в сердце *in vivo* нельзя.

Литература:

1. Dobson, C.M. (2004) Experimental investigation of protein folding and misfolding. *Methods*. 34, 4–14.
2. Ross, C.A., Poirier, M.A. (2004) Protein aggregation and neurodegenerative disease. *Nat Med*. 10, Suppl:S10–7.
3. Uversky, V.N., Fink, A.L. (2004) Conformational constraints for amyloid fibrillation: the importance of being unfolded. *BiochimBiophysActa*. 1698, 131–153.

ФАКТОРНЫЙ АНАЛИЗ, КАК СПОСОБ ВЫЯВЛЕНИЯ ОСОБЕННОСТЕЙ СТРОЕНИЯ БЕДРЕННОЙ КОСТИ ПАЛЬЦЕХОДЯЩИХ ЖИВОТНЫХ НА ПРИМЕРЕ ПАРЫ КРОЛИК-СОБАКА

Яшина И. Н., Иванов А.В.

ФГБОУ ВО Курский государственный медицинский университет Минздрава России, Курск, Россия
bik2709@rambler.ru

Целью работы явился сравнительный анализ строения бедренной кости (БК) пальцеходящих животных. Объектом исследования стали БК беспородных собак - 39 пар и европейского одомашненного кролика - 20 пар. Животные умерщвлялись в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для научных целей.

На БК измерялось 19 гомологичных структур. Абсолютные значения (АЗ) линейных параметров для нивелирования соматотипа животного переводились в относительные (ОЗ) (единица измерения - поперечный диаметр диафиза в средней трети) и исследовались методами непараметрической статистики с учетом латерализации. В результате вычислений доверительных интервалов при $\alpha=0,05$ внутривидовая асимметрия строения БК не выявлена. Анализ ОЗ показал большую грацильность костей кролика, значение их линейных параметров достоверно меньше аналогичных собаки. Различается форма проксимального эпифиза БК. Для кролика характерен низкий постав шейки БК, большой вертел расположен выше головки, что кинетически выгодно при осуществлении маятникообразных движений в тазобедренном суставе - прыжков. Головка БК собаки выступает над большим вертелом, она более сферична, чем у кролика: ОЗ прямых размеров головки к

вертикальным для кролика 0,91-1,03x0,77-0,95, для собаки 1,3-1,41x1,26-1,42. Диафизарно-шеечный угол собаки (133-141°) в два раза больше угла кролика (60-62°).

Факторный анализ ОЗ линейных и АЗ угловых величин методом Maximum Likelihood factors с вращением Equamax normalized на основе корреляционной матрицы Спирмена с учетом латерализации БК обнаружил латентную внутривидовую асимметрию в строении БК и факторы, одинаково влияющие вне зависимости от вида и стороны тела. Общие факторы влияют на длину БК, межвертельное расстояние, длину шейки БК спереди и сзади, поперечный размер проксимального эпифиза, ширину межмышечковой ямки дистального эпифиза, что указывает на гомологичность формирования системы БК при линейной локомоции. Видовые отличия воздействия факторов объясняются изменением объема движений. У кроликов выявлен фактор, влияющий на прямой размер головки, длину шейки сверху, диаметр диафиза и угол между осями диафизы, а мышечков, отсутствующий у собак. У собак определен фактор, действующий на длину шейки снизу.

Таким образом, использованная методика анализа данных с применением факторного анализа позволила выявить отличительные особенности строения БК пальцеходящих животных с различным объемом локомоции и латентную асимметрию строения БК, указывающую на дифференциацию двигательной функции контрлатеральных конечностей как у собак, так и у кроликов.

ПОСЛЕДСТВИЯ КОНТАКТА МЛЕКОПИТАЮЩИХ С НАНОЧАСТИЦАМИ СЕРЕБРА (НЧС)

Рожкова Н.А.¹, Соснин И.М.^{1,2}, Орлов Ю.А.^{1,3}, Тимирова З.Р.¹, Ильичева Е.Ю.^{1,4}

¹ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия; ²ФГБОУ ВПО Тольяттинский государственный университет, Тольятти, Россия; ³ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия; ⁴ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

rozhkova@corp.ifmo.ru

Прогрессивный рост объема производства НЧС повышает вероятность контактов человека с НЧС или Ag1+, которые образуются при корродировании. Ag - абиогенный элемент, но по строению внешней электронной оболочки ионы Ag1+ сходны с Cu1+. Cu - эссенциальный микроэлемент. Её транспорт осуществляет система белков, содержащих мотивы, связывающие Cu в состоянии окисления Cu1+ и, следовательно, Ag1+. Т.о., увеличение НЧС в окружающей среде может приводить к ошибочному включению Ag1+ в активные центры купроэнзимов. Цель данной работы – исследовать влияние НЧС на метаболизм млекопитающих.

НЧС были изготовлены методом химического восстановления Ag1+ до Ag0 в водном растворе в присутствии сурфактантных мицелл. Произведенные НЧС имели сферическую форму, Ø35 нм. По данным рентгеновской дифрактометрии и UV/Vis спектрофотометрии НЧС состояли из кристаллического серебра.

Токсичность НЧС была оценена по способности клеток E. coli K802 образовывать колонии после обработки НЧС. НЧС обладали высокой антибактериальной активностью и подавляли рост бактерий в дозо- и время-зависимой манере. Способность вмешиваться в метаболизм меди млекопитающих была проверена на мышцах линии C57Bl. НЧС вводили мышам в/б по 1 инъекции (400 мкг/кг массы тела) в течение 7 дней. Через 6 ч после последней инъекции мышей разделяли на 2 равные группы. У мышей группы 1 собирали кровь, желчь, мочу и органы. У мышей группы 2 такие же биологические образцы забирали через 9 дней. В качестве контроля использовали интактных мышей того же возраста. Во всех образцах методом ААС определяли концентрацию Cu и Ag. В сыворотке крови измеряли оксидазную активность (ОА) церулоплазмينا (ЦП, мультимедная голубая оксидаза, внеклеточный транспортер меди) и концентрацию ЦП методом иммуноблоттинга. НЧС вызывали падение ОА почти до нуля, при этом концентрация ЦП не менялась, но содержание Cu снижалось на 40%. Методом гель-фильтрации показано, что в сыворотке крови Ag связан только с ЦП, содержание Cu в котором снижено. Это указывает на то, что Ag1+, конкурентно с Cu, встраивается в активные центры молекулы ЦП, но не влияет на экспрессию гена ЦП на всех уровнях. НЧС не вызывали изменений в распределении Cu в организме и удельном содержании Cu в органах. Подобно Cu, из организма Ag экскретируется через желчь. Через 9 дней после отмены НЧС ОА крови увеличилась на 60%, концентрация Cu – на 13%, концентрация Ag в крови и желчи, но не в печени, снижалась. Обсуждается потенциальный экотоксический эффект НЧС. Работа поддержана грантами 15-04-06770-а, 16-34-60219, 14.B25.31.0011, 6.1278.2014/К.

ТРАНСЭНДОТЕЛИАЛЬНЫЙ ТРАНСПОРТ ЛИПОПРОТЕИНОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ ПОД ВЛИЯНИЕМ ФАКТОРОВ ВОСПАЛЕНИЯ *INVITRO*

Мальцева О.Н.

ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия
movolya@mail.ru

Повышение трансэндотелиального транспорта атерогенных липопротеинов из плазмы крови в интиму артерий считают одним из ключевых аспектов в патогенезе атеросклероза. Механизм повышения проницаемости сосудов для липопротеинов остается неясным. По современным представлениям, в основе атерогенеза лежит воспалительный процесс. Однако роль факторов воспаления в развитии и поддержании атеросклероза изучена далеко не полно. Факторы воспаления оказывают влияние на сосуды, в связи с чем можно предполагать, что они могли бы влиять и на проницаемость эндотелия, повышая ее для белков и липопротеинов плазмы. На данный момент трансэндотелиальный транспорт липопротеинов изучен слабо. Целью работы было изучение трансэндотелиального транспорта липопротеинов под влиянием медиаторов воспаления в культуре клеток эндотелия *in vitro*.

Методика. Эндотелиальные клетки человека линии EA.hy926 культивировали в среде DMEM в трансвеллах (BD Falcon, № 353104), покрытых коллагеном I типа до образования конфлюэнтного монослоя. Конфлюэнтность монослоя оценивали микроскопически и с использованием ФИТЦ-декстрана (70кДа). В верхнюю камеру системы добавляли среду DMEM с содержанием белков плазмы крови и липопротеинов. Инкубацию проводили в течение 24 часов с отбором проб из верхней и нижней камер в определённые промежутки времени. Пробы анализировали с помощью биохимических методов и иммуноферментного анализа.

Результаты. В нижней камере модели обнаруживались белковые молекулы, такие как апо В, апо А-1, альбумин, концентрация которых нарастала со временем (в пределах от 1 до 24 часов). В системе без эндотелиального монослоя (контроль) трансэндотелиальный транспорт был более стремительным и быстро обеспечивал равновесие концентраций в нижней и верхней камерах. При добавлении в верхнюю камеру медиаторов воспаления отмечалось изменение скорости трансэндотелиального транспорта. Активаторы воспаления С-реактивный белок (CRP) и такие продукты тучных клеток, как TNFα и гистамин, повышали скорость трансэндотелиального транспорта липопротеинов низкой плотности (и других молекул), что согласуется с представлением об их проатерогенной активности.

СЕКЦИЯ «БИОМЕДИЦИНА И БИОФАРМАЦЕВТИКА»

АНАЛИЗ САМООРГАНИЗАЦИИ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА И КЛЕТОК НЕЙРОБЛАСТОМЫ В КО-КУЛЬТУРЕ

**Прудников Т. С.¹, Китаева К.В.¹, Гомзикова М.О.¹, Тазетдинова Л.Г.¹, Соловьева В.В.¹,
Ризванов А.А.¹**

¹ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Казань, Россия,
tikhon.tikhonovich@gmail.com

Одной из актуальных задач при скрининге противоопухолевых лекарственных препаратов является разработка тест-системы, наиболее приближенной к натуральной опухоли, моделирующей взаимодействие клеток опухолевой стромы. В настоящей работе для создания модели стромального микроокружения опухолевые клетки нейробластомы SH-SY5Y совместно культивировали с мезенхимными стромальными клетками (МСК), которые имеют естественный тропизм к опухолевым клеткам и формируют опухолевые ниши. МСК поддерживают рост опухоли с помощью паракринной сигнализации микроокружения, иммуномодуляции и коэволюции опухолевых и стромальных компартментов.

В работе использовали МСК, выделенные из костного мозга человека. Иммунофенотип выделенных клеток определяли методом проточной цитофлуориметрии с использованием специфичных антител на приборе FACS Aria III (BD Biosciences, США). Показано, что выделенные МСК экспрессируют CD маркеры, характерные для стволовой мезенхимной клетки: CD44 (95,9% позитивных клеток), CD73 (98,2%), CD166 (79,6%), CD90 (79,2%), CD29 (98,5%), CD105 (88,6%), и не экспрессируют CD маркеры гемопоэтических клеток (CD34, CD11b, CD19, CD45, HLA-DR). Выделенные клетки обладали способностью к направленной дифференцировке в остео-, хондро- и адипогенном направлениях.

Перед ко-культивированием МСК и SH-SY5Y были окрашены витальными красителями Vybrant DiD и DiO (Thermo Fisher Scientific, США). После окрашивания клетки смешивали в соотношении 1:1 и культивировали в 12-ти луночных планшетах, покрытых 0,1 % желатином при 37 °C во влажной атмосфере с 5% содержанием CO₂. Результаты анализировали на инвертированном микроскопе AxyObserver.Z1 (Carl Zeiss, Германия) с использованием программного обеспечения AxyoVision Rel. 4.8.

На пластике, покрытом желатином, самоорганизация клеток напоминала каналы из МСК и островки из опухолевых клеток. Было отмечено, что некоторые опухолевые и стромальные клетки флуоресцировали одновременно в нескольких областях спектра, что свидетельствует о слиянии клеток. Данный факт был подтвержден проточной цитофлуориметрией, которая показала высокий уровень обмена мембранного компонента клеток, содержащего витальный краситель.

Описанный вид самоорганизации стромальных и опухолевых клеток может отражать характер взаимодействия клеток в опухолевой строме, который характеризуется высоким уровнем дифференцировки обеих клеточных линий, в отличие от монокультур на пластике, который характеризуется высоким уровнем дифференцировки обеих клеточных линий, в отличие от монокультур на пластике.

ШТАММ STREPTOMYCES SP. IB2014A016-38, ВЫДЕЛЕННЫЙ ИЗ БАЙКАЛЬСКИХ ЭНДЕМИЧНЫХ АМФИПОД, – ПРОДУЦЕНТ НОВЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И АКТИФЕНОЛА

Аксенов-Грибанов Д. В.^{1,2}, Войцеховская И. В.¹, Протасов Е. С.¹, Димова М. Дм.¹, Широкова Ю. А.¹, Костка Д. В.¹, Мадьярова Е. В.¹

¹ ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет; ² АНО Байкальский исследовательский центр, Иркутск, Россия

denis.axengri@gmail.com

В ходе проводимых работ из байкальских эндемичных амфипод *Brandtia sp.* выделен штамм *Streptomyces sp.* IB2014A016-38 (номер в ВКСМ - RCAM04092). Штамм проявляет выраженную антагонистическую активность в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий и грибов.

Экстракты, содержащие в своем составе биологически активные соединения и актифенол были проанализированы с помощью масс-спектрометрии высокого разрешения с использованием системы LC-QTOF System maXis II (Bruker, Billerica, USA). Данные проанализированы с помощью пакета программ Bruker Compass Data Analysis, version 4.1 (Bruker, Billerica, USA). Скрининг известных веществ был выполнен с

использованием базы данных Dictionary of Natural Products version 6.1 (CRC Press, Boca Raton, USA) с применением следующих параметров для поиска: точная молекулярная масса, спектр поглощения и источник выделения соединений (Whittle et al. 2003). Соединения считали идентичными, если разница в точной массе составляла менее 0,001 и спектры поглощения были схожи.

В экстракте культуральной жидкости штамма *Streptomyces* sp. IB2014A016-38 обнаружено 59 основных соединений, а в экстракте биомассы – 57 основных соединений. Актифенол при этом присутствовал в обоих типах экстрактов. Из экстракта биомассы, полученной от культивирования в 1л возможно получить 2,7 мг актифенола. Из 1 литра экстракта культуральной жидкости возможно получить 3,9 мг актифенола/литр культуральной среды. Таким образом, суммарно возможно получение 6,6 мг актифенола.

Выделенный антибиотик характеризуется молекулярной массой 275,1149 m/z (разница с зарегистрированным коммерческим антибиотиком – $\Delta = 0,0009$ m/z) (ppm < 3), Максимальными пиками поглощения в УФ спектре при 216 ($\Delta = 0$ нм), 262 ($\Delta = 2$ нм), 348 нм ($\Delta = 7$ нм). На хроматограмме масс для данного соединения обнаружены аддукты [M+H], [M+Na], [2M+H] и наиболее часто встречаемые фрагменты масс.

Установлено, что данный штамм является новым видом и может быть использован в качестве продуцента антибиотика актифенола и способен синтезировать актифенол в количестве 6,6 мг/л за 7 суток.

Настоящее исследование проведено при частичной финансовой поддержке проектов Министерства образования и науки РФ (№6.9654.2017/БЧ), РНФ (проект N 14-14-00400), РФФИ (16-34-00686 мол_a), а также гранта Иркутского государственного университета для молодых ученых.

АНАЛИЗ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ МЕЗЕНХИМНЫХ СТЕБЕЛКОВЫХ КЛЕТОК, ЗАГРУЖЕННЫХ ПРЕПАРАТОМ ЦИСПЛАТИН, В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК НЕЙРОБЛАСТОМЫ IN VITRO

**Алексеева Е. А.¹, Тазетдинова Л. Г.¹, Гафиятуллин А. Ш.¹, Клетухина С. К.¹, Соловьева В. В.¹,
Ризванов А. А.¹**

¹ ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
alexeeva.kate96@gmail.com

Традиционные методы терапии онкологических заболеваний оставляют тяжелые последствия на организм, так как уничтожаются не только опухолевые клетки, но и повреждаются здоровые ткани. Мезенхимные стволовые клетки (МСК) обладают естественным тропизмом к опухоли и могут быть использованы для доставки химиотерапевтических препаратов в области метастаз, премеастанастические и опухолевые ниши. Одним из эффективных противоопухолевых препаратов является цисплатин, обладающий алкилирующим действием.

В настоящей работе исследовано противоопухолевое действие МСК, выделенных из жировой ткани человека и загруженных противоопухолевым препаратом цисплатин, на культуру опухолевых клеток SH-SY5Y *in vitro*.

МСК из жировой ткани были выделены с помощью ферментативной обработки жировой ткани человека 0,2% раствором коллагеназы краба (Биолот, Россия). Выделенные клетки имели фибробласто-подобную морфологию, обладали способностью к длительной пролиферации *in vitro* (7–8 пассажей) и способностью к направленной дифференцировке в хондро-, остео- и адипогенном направлениях.

Иммунофенотип выделенных МСК определяли иммунофлуоресцентным окрашиванием специфичными антителами и последующим цитофлуориметрическим анализом на приборе FACS Aria III (BD Biosciences, США). Выделенные МСК экспрессировали маркеры стволовой мезенхимной клетки, такие как CD44 (97,8 %), CD73 (99,4 %), CD90 (93,4 %), CD29 (96,5 %), CD166 (86,2 %) и не экспрессировали маркеры гемопоэтических клеток (CD34, CD11b, CD19, CD45, HLA-DR – 0,95 %).

Нетоксичную концентрацию цисплатина для МСК подбирали с использованием MTS-теста (Promega, США). Показано, что концентрация 5 мкг/мл существенно не влияла на жизнеспособность МСК и в дальнейшем была использована для загрузки препарата в клетки. После загрузки клетки трипсинизировали, отмывали от препарата и переносили в новый культуральный флакон. Через 48 часов инкубации собирали кондиционированную среду и наносили ее на клетки нейробластомы SH-SY5Y. Было показано, что жизнеспособность SH-SY5Y после инкубации с кондиционированной средой загруженных МСК снизилась на 20 % по сравнению с контрольными клетками в обычной культуральной среде и клетками в кондиционированной среде от нативных МСК.

Таким образом, показана противоопухолевая активность МСК, загруженных цисплатином, в отношении опухолевых клеток SH-SY5Y. Полученные результаты указывают на перспективность метода доставки химиотерапевтических препаратов с использованием МСК.

Работа финансировалась грантом РФФИ №16-34-60201.

РАЗРАБОТКА ПОДХОДОВ ДЛЯ ДЕТЕКТИРОВАНИЯ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФУЛЛЕРЕНОВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ МЕТОДОМ СПЕКТРОСКОПИИ ГИГАНТСКОГО КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ СВЕТА

Белик А. Ю.¹, Рыбкин А. Ю.¹, Полетаева Д. А.¹, Кукушкин В. И.², Горячев Н. С.¹, Краевая О. А.¹, Михайлов П. А.^{1,3}, Трошин П. А.¹, Котельников А. И.¹

¹ ФГБУН Институт проблем химической физики РАН; ² ФГБУН Институт физики твердого тела РАН; ³ ФГОУ ВО Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия
belik.aleksandra@gmail.com

Водорастворимые производные фуллеренов (ВПФ) имеют широкий спектр биологической активности и являются перспективными с точки зрения создания на их основе лекарственных препаратов. В связи с этим разработка методов детектирования таких наночастиц в тканях организма является актуальной задачей биологии и фундаментальной медицины. Известно, что фуллерены обладают невыраженным спектром поглощения в ультрафиолетовой области и не проявляют флуоресцентных свойств, что затрудняет их детектирование наиболее традиционными спектральными методами. В то же время фуллерены, в силу высокой симметрии углеродного сфероиды и эквивалентности 60-ти атомов углерода, обладают уникальным спектром комбинационного рассеяния (КР) света, состоящим в основном из одной интенсивной линии при 1462 см⁻¹, что позволяет с высокой точностью детектировать их как в порошке, так и в растворах при концентрациях до 10⁻⁴ М. Однако такая чувствительность недостаточна для исследования распределения фуллеренов в тканях в опытах на животных.

Ситуация радикально изменяется при использовании явления гигантского (поверхностно-усиленного) комбинационного рассеяния (ГКР) света. Этот метод основан на эффекте значительного, на несколько порядков, усиления комбинационного рассеяния света молекулами за счет взаимодействия их электромагнитных диполей с плазмонными колебаниями, возникающими на шероховатой поверхности металлических наночастиц при облучении их лазерным излучением. Такой подход позволяет детектировать молекулы вещества, не обладающего флуоресцентными свойствами, на поверхности специально подготовленных подложек при концентрациях 10⁻⁷ – 10⁻¹² М, что сопоставимо по чувствительности с методом флуоресценции.

В настоящей работе метод ГКР впервые применен для детектирования водорастворимых производных фуллеренов в воде и биологических объектах. Использовались оригинальные водорастворимые производные фуллеренов, синтез которых разработан в ИПХФ РАН. Главной особенностью данных соединений является высокая растворимость в воде (более 100 мг/мл) за счет пяти ковалентно присоединенных аддендов, на концах которых локализованы положительные или отрицательные заряды.

Исследования поддержаны Программой Президиума РАН №1 «Наноструктуры: физика, химия, биология, основы технологий» и грантом РФФИ № 16-34-01156 мол_а.

КИНЕТИКА СОВМЕСТНОГО ДЕЙСТВИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СУБСТАНЦИЙ ПРИ РАЗЛИЧНОМ ПОРЯДКЕ ИХ ВВЕДЕНИЯ В МОДЕЛЬНУЮ ЛИПИДНУЮ МЕМБРАНУ

Будянская Л.В.¹, Ващенко О.В.¹, Касян Н.А.¹

¹Институт сцинтилляционных материалов НАН Украины, Харьков, Украина
l.budjanskaja92@gmail.com

Известно, что совместное действие лекарственных субстанций (ЛС) может приводить к изменению их результирующего эффекта. В этом случае говорят о взаимодействии ЛС, при котором одновременное применение двух и более ЛС даёт эффект, отличающийся от эффекта каждого из них в отдельности, обычно, своей интенсивностью. Условия оптимальной лекарственной терапии предусматривают учёт взаимодействия ЛС на всех этапах, начиная с этапа приготовления и заканчивая этапом оптимального применения (Деримедведь, 2001). Известно, что на этапе всасывания и проникновения многие ЛС взаимодействуют с липидным бислоем клеточных мембран. Ранее нами было установлено не прямое взаимодействие амиксина и диметилсульфоксида (ДМСО) в мультибислойной мембране дипальмитоилфосфатидилхолина (ДПФХ), выражающееся в отклонении от аддитивности термодинамических параметров фазовых переходов мембраны. Целью данной работы являлось установление влияния порядка введения ЛС в мембрану на эффект их совместного действия.

Параметры основного перехода и предперехода мембран ДПФХ были получены методом дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) с помощью микрокалориметра «Mettler DSC 1». Кинетику взаимодействия ЛС изучали путём добавления к мембране водного раствора ЛС и получения серии ДСК-термограмм систем, вплоть до установления равновесия. Использованы различные схемы введения ЛС: 1) А+Д – в мембрану вначале вводили амиксин, а после установления равновесия добавляли ДМСО; 2) Д+А – в

мембрану вводили ДМСО, после установления равновесия добавляли амиксин; 3) [А+Д] – вводили водный раствор амиксина с ДМСО. Во всех случаях концентрация компонентов сохранялась одинаковой.

Установлено, что введение ДМСО практически не влияет на параметры фазовых переходов мембран ДПФХ, тогда как амиксин индуцирует появление низкотемпературного плеча на обоих пиках переходов. Системы А+Д и [А+Д] оказываются сходными как по кинетическим параметрам установления равновесия, так и по величине результирующего эффекта. В системе Д+А равновесие устанавливается намного медленнее, а результирующий эффект оказывается в несколько раз большим:

$$Д+А > А+Д \approx [А+Д].$$

Указанные различия могут быть обусловлены изменением коэффициентов диффузии ЛС, а также их коэффициентов распределения липид/вода. Таким образом, порядок введения веществ в мембрану может быть весьма существенным для эффекта их совместного действия.

IN VIVO И IN VITRO ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ДЕЙСТВИЯ ГИБРИДНЫХ КОНЬЮГАТОВ, СОДЕРЖАЩИХ ТРАНСФЕРРИН И АРТЕСУНАТ

Виноградова Е.В.¹, Глушкова О.В.¹, Шарапов М.Г.¹, Колодина А.Ю.¹

¹ ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия
elenakinsky@yandex.ru

Артемизинины являются активным действующим веществом лекарственной травы полыни однолетней *Artemisia annua* L. (Huanghuahao). Эта трава используется для лечения малярии и лихорадки, официально описана китайским фармакологом Ту Юю, получившей за исследование противомалерийных свойств артемизининов в 2015 году Нобелевскую премию по медицине и физиологии. Недавно обнаружено, что артемизинин и их производные, к которым относят артезунат, могут обладать противоопухолевым действием. Известно, раковые клетки обладают высокой скоростью пролиферации, что требует высокой концентрации ионов железа. Транспорт железа в клетку происходит в результате эндоцитоза, опосредованного взаимодействием трансферрина со своим рецептором. Поэтому трансферрин широко используется как белковый вектор для направленной доставки противораковых препаратов белков и генов опухолевой клетки, которая характеризуется повышенным уровнем экспрессии TfR. Поэтому актуальным является использование адресной доставки к раковым клеткам с применением конъюгатов трансферрина с одним из перспективных новейших противораковых средств – артезунатом.

Целью настоящей работы является исследование противоопухолевой активности артезуната и конъюгата артезунат-трансферрин *in vitro* и *in vivo*.

При исследованиях *in vitro* были проведены сравнительные исследования действия артезуната и ковалентного конъюгата артезунат-трансферрин на нетрансформированных фибробластах линии 3T3 и клетках фибросаркомы мышей WENI 164. Было обнаружено, что IC50 конъюгата артезунат-трансферрин для раковых клеток составлял 36 нМ, в то время как для артезуната IC50=15 мкМ. Проведенные эксперименты с использованием моделей фибросаркомы, сформированных подкожным введением раковых клеток WENI 164 мышам линии Balb/c, также выявили выраженное противоопухолевое действие препарата конъюгата артезунат-трансферрин, вводимого внутривентрально. Животные с фибросаркомой, получавшие инъекции препарата, обладали сниженной скоростью роста опухоли и снижением уровня метастазирования по сравнению с группой мышей-опухоленосителей без лечения.

Таким образом, полученные результаты позволяют предложить конъюгат артезуната с белком трансферрином в качестве нового кандидата при терапии фибросаркомы.

Работа была поддержана грантом РФФИ 17-44-500571.

ОПЫТ ПОЛУЧЕНИЯ МИКРОКОНТЕЙНЕРОВ НАПРАВЛЕННОГО ДЕЙСТВИЯ ДЛЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ПЕПТИДНОГО КОМПЛЕКСА

Волкова Л. В.¹, Гришина Т. А.¹

¹ ФГОУ ВО Пермский национальный исследовательский политехнический университет, Пермь, Россия
tatyana_grishina_1990@mail.ru

Применение антибактериальных пептидных препаратов для лечения инфекций весьма актуально в условиях остро развивающейся антибиотикорезистентности патогенных микроорганизмов. Одной из ведущих тенденций, проявляющихся в современной фармакологии, является создание систем направленного транспорта лекарств. Для создания лекарственных форм, способных избирательно доставляться к органам-мишеням, разработаны подходы, основанные на пространственном отделении лекарственного препарата от внешней реакционной среды путем помещения его в искусственные микро- и наноконтейнеры. Одним из первых

способов, предложенных для достижения данной цели, явилось создание липосомальной формы лекарственных препаратов.

Цель настоящей работы – разработка контейнеров природных полипептидов в жидкой липосомальной форме.

Для исследования были использованы два метода получения микроконтейнеров - липосом. Первый основан на добавлении к раствору липидов раствора полипептида, а также фосфатного буфера с pH 7.4. Данный метод является удобным для производства, так как все реактивы доступны, процесс получения препарата не занимает много времени, несложен. Однако имеет ряд недостатков: для полученного объема концентрация липосом в растворе довольно мала, липосомы быстро оседают на дне емкости. Говоря о биологических свойствах, после заключения природного полипептида в липосомы он потерял свою активность, что объясняется поддержанием значения pH, недопустимого для препарата.

Второй метод основан на добавлении раствора полипептидов к сухой липидной пленке. Данный способ реализовывался с помощью роторного вакуумного испарителя Concentrator 5310. Степень включения комплекса в липосомы составила 69%, что является хорошим показателем данного метода. Таким образом, получен препарат с концентрацией липосом равной 442×10^5 липосом/мл. После заключения пептидного комплекса в липосомы, специфическая активность не снизилась. Стоит также отметить, что полученные микроконтейнеры по размеру почти в пять раз меньше тех, что получены первым способом. Это является несомненным преимуществом данного метода.

Исходя из вышесказанного, можно сделать вывод, что наиболее оптимальным из предложенных способов является второй способ. Полученный препарат хорошо сохранял свои полезные свойства, о чем свидетельствуют результаты измерений биологической активности. Согласно методу ускоренного хранения, спустя четыре месяца хранения препарата в холодильнике активность препарата снизилась на 15,9%.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ КОНДИЦИОНИРОВАННОЙ СРЕДЫ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК, ЗАГРУЖЕННЫХ ПРЕПАРАТОМ ЦИСПЛАТИН

**Гафиятуллин А. Ш.¹, Тазетдинова Л. Г.¹, Алексеева Е. А.¹, Прудников Т. С.¹, Мартынова Е. В.¹,
Соловьева В. В.¹, Ризванов А. А.¹**

¹ ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
gafiatylin.amir@gmail.com

Прогрессирование опухоли зависит от взаимодействия между опухолевыми клетками и их микроокружением, которое представляет собой динамическую среду, состоящую из различных типов клеток, таких как эндотелиальные клетки, фибробласты, клетки иммунной системы и мезенхимные стволовые клетки (МСК). В недавних исследованиях было показано, что МСК способны мигрировать в участки опухолеобразования и, таким образом, могут быть использованы для доставки химиотерапевтических лекарственных препаратов. В химиотерапии онкологических заболеваний, цисплатин является одним из эффективных цитотоксических лекарственных средств, которые используются для лечения различных видов опухолей. В настоящей работе исследован цитокиновый профиль МСК, выделенных из жировой ткани человека и загруженных препаратом цисплатин. Исследование цитокинового профиля загруженных клеток позволит понять возможные механизмы взаимодействия с опухолевыми клетками после их миграции в опухолевые ниши.

МСК выделяли путем ферментативной обработки жировой ткани человека с использованием 0,2% раствора коллагеназы краба (Биолот). Цитофлуориметрический анализ на приборе FACS Aria III (BD Biosciences) с использованием специфических антител показал, что выделенные клетки экспрессировали поверхностные маркеры характерные для мезенхимной стволовой клетки и не экспрессировали маркеры гемопоэтических клеток.

Для загрузки МСК была выбрана нетоксическая концентрация цисплатина 5 мкг/мл, которую подбирали с помощью MTS-теста. После инкубации с цисплатином МСК трипсинизировали и дважды промывали раствором Хенкса (Панэко), после чего переносили в новый культуральный флакон. Через 48 часов инкубации собирали кондиционированную среду.

Для изучения молекулярных особенностей МСК и исследования секреции хемокинов/цитокинов был проведен мультиплексный анализ кондиционированной среды загруженных клеток и нативных МСК с использованием набора Bio-Plex Pro Human Cytokine 21-plex Assay (BioRad) на приборе Luminex 200. Концентрации каждого аналита была рассчитана с использованием стандартной кривой (рекомбинантные белки, входящие в состав набора).

Показано, что у загруженных цисплатином МСК в кондиционированной среде значительно повышается уровень следующих аналитов по сравнению с нативными клетками: IL-2R α , IL-3, IL-16, HGF, MIF, SCF, SCGF- β и TRAIL. Данные цитокины участвуют в пролиферации и дифференцировке различных клеток, а TRAIL способен вызывать апоптоз опухолевых клеток. Работа финансировалась грантом РФФИ №16-34-60201.

ПОЛУЧЕНИЕ ПЛЕНОК БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ, НАСЫЩЕННЫХ ПРЕПАРАТОМ ЛИПОСОМНОГО СИЛИМАРИНА

Гудкова О. И.¹, Кенда А. М.¹, Ходжаева Р. Н.¹, Луценко С. В.¹, Фельдман Н. Б.¹

¹ФГБОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Россия
senia501@yandex.ru

Повышение биодоступности и эффективности терапевтического действия препаратов, получаемых из лекарственного растительного сырья, является актуальной задачей современной медицинской биотехнологии. Силимарин – гепатопротектор растительного происхождения, получаемый из расторопши пятнистой (*Silybum marianum*), обладающий антиоксидантными, мембраностабилизирующими, регенерирующими и противоопухолевыми свойствами, а также оказывающий противовоспалительный эффект. Являясь гидрофобным веществом, силимарин плохо всасывается в кишечнике, проявляя низкую биодоступность. Применение силимарина в липосомной форме позволяет значительно увеличить биодоступность препарата. Поскольку мембрана липосом построена из фосфолипидов природного происхождения, они характеризуются низкой токсичностью, высокой биодоступностью и биodeградируемостью. Для повышения эффективности терапевтического потенциала силимарина можно использовать его липосомную форму в комплексе с бактериальной целлюлозой – нетоксичным и биосовместимым природным полимером. Бактериальная целлюлоза представляет собой пористую структуру с высокими адсорбционными свойствами, что позволяет рассматривать ее в качестве перспективного носителя для иммобилизации биологически активных веществ. Целью данной работы являлось исследование возможности насыщения и высвобождения из сухих и гидратированных пленок бактериальной целлюлозы липосом, несущих силимарин. Ранее была получена липосомная форма силимарина. Средний размер липосом составлял 293 ± 54 нм по данным лазерной корреляционной спектроскопии. Бактериальную целлюлозу (сухие и гидратированные образцы) насыщали препаратом липосом, отмывали и фотометрически определяли количество включенного в нее силимарина. Липосомы, включенные в состав матрицы бактериальной целлюлозы, визуализировали с помощью электронной микроскопии. Максимальное включение силимарина в сухие и гидратированные пленки достигалось после 4 ч инкубации и составляло 2 мг/мл на 1 см² и 3 мг/мл на 1 см², соответственно. Пленки бактериальной целлюлозы, насыщенные силимарином, могут найти применение в медицине при разработке гепатопротекторных систем трансдермальной доставки, также покровных материалов (пластырей и повязок).

ВЛИЯНИЕ ДГЭА И ЕГО НАНОМОДИФИЦИРОВАННОГО АНАЛОГА НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ И КОГНИТИВНЫЕ ФУНКЦИИ СОСТАРИВШИХСЯ МЫШЕЙ.

**Зябрева А. А.¹, Сергеева В. А.¹, Пухальская Д. А.¹, Алешкин В. А.², Морозов Ю. Н.³, Сергеев Г. Б.³,
Шмарина Г. В.^{1,2}**

¹ФГБНУ Медико-генетический научный центр, ²ФБУН Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского; ³ФГОУ ВО Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия
alexandra.zyabreva@gmail.com

Дегидроэпиандростерон (ДГЭА) – основной стероид, синтезируемый корой надпочечников. Получено множество данных, позволяющих с различной степенью вероятности предположить наличие защитных эффектов ДГЭА при ожирении, диабете, развитии злокачественных новообразований, иммунной недостаточности, нарушениях процессов адаптации, психодепрессии и других патологических состояниях ассоциированных с возрастом. Однако использование гормонов в клинической практике ограничено в связи с его низкой биодоступностью. Для решения указанной проблемы в лаборатории Химии низких температур кафедры химической кинетики МГУ были созданы наноразмерно-структурные модификации природного гормона со средним размером частиц в диапазоне от 50 до 150 нм. Цель данной работы состояла в исследовании влияния препаратов ДГЭА на выживаемость и когнитивные функции состарившихся лабораторных животных. Самки мышей линии Balb/c в возрасте 22 месяцев в течение 13 недель жизни получали нативный ДГЭА или его наномодифицированный аналог (нано-ДГЭА) подкожно через день в дозе 20 мг/кг в виде суспензий на гидрофильной основе. Контрольной группе животных вводили стерильный фосфатный буфер. По окончании эксперимента выживаемость в контрольной группе составила 68%, в группе «ДГЭА» – 75%, в группе «нано-ДГЭА» – 96%. Статистический анализ кривых выживания выявил значимые различия между группой мышей, получавших нано-ДГЭА, и животными из группы контроля и группы, получавшей нативный препарат ($p < 0,013$). Выживаемость животных, получавших нативный ДГЭА, значимо не отличалась от таковой в группе контроля

($p=0,61$). Когнитивные функции состарившихся животных были исследованы с помощью теста Морриса. С этой целью после 8 недель приема препаратов ДГЭА животным была предложена задача поиска скрытой под водой платформы в бассейне (60х50х40 см, 26°C). Регистрировали количество удачных попыток нахождения платформы, траекторию перемещения мыши в воде, а также время, затраченное на отыскание платформы. В тесте Морриса лучшие показатели были отмечены в группе мышей, получавших нативный ДГЭА. Животные контрольной группы и мыши, получавшие нано-ДГЭА, существенно отставали в формировании навыка отыскания платформы.

Заключение: нативный ДГЭА и нано-ДГЭА в терапевтической дозе 20 мг/кг оказывали разные биологические эффекты. Так, хронический прием нативного ДГЭА существенно повышал когнитивные возможности состарившихся самок линии Balb/c, в то время как прием нано-ДГЭА значимо повышал выживаемость лабораторных животных.

КОМПЬЮТЕРНОЕ ПРОГНОЗИРОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 3,7-ДИАЗАБИЦИКЛО[3.3.1]НОН-2-ЕНОВ

Иванова Е.В.¹, Сурова И.И.¹, Никишина М.Б.¹, Соколова А.И.¹, Стемпинь Н.Д.¹, Шахкельдян И.В.¹, Атрощенко Ю.М.¹

¹ ФГБОУ ВПО Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого
omela005@gmail.com

Известно, что 3,7-диазабициклононан входит в структуру скелета многих алкалоидов, например, лупанина, спартеина, анагирина, обладающих широким спектром физиологического действия (антиаритмическим, анальгезирующим, спазмолитическим, психотропным, курареподобным и др.) При поиске новых соединений-лидеров и их оптимизации руководствуются принципом: сходные по строению вещества должны проявлять сходную биологическую активность. Нами синтезирован ряд новых производных 2-метокси-7-R-1,5-динитро-3,7-диазабицикло[3.3.1]нон-2-енов на основе 2-метокси-3,5-динитропиридина.

Для первоначальной оценки биологической активности полученных соединений было проведено компьютерное моделирование с помощью системы PASS. Как показали результаты прогноза биологической активности, выполненного в программе *Pharma Expert*, исследуемые вещества проявляют широкий спектр биологической активности. Показатель вероятности проявления большинства активностей превышает 60%. Метокси-производные 3,7-диазабициклононана с наибольшей вероятностью проявляют такие виды биологической активности, как *Membrane permeability inhibitor*, *Phobic disorders treatment*, *Acrocyllindropepsin inhibitor*, *Chymosin inhibitor*, *Saccharopepsin inhibitor*, *Ubiquinol-cytochrome-c reductase inhibitor*, *Fusarinine-C ornithinesterase inhibitor*, *Nicotinic alpha4beta4 receptor agonist*, *Polarisation stimulant*, *(R)-6-hydroxynicotine oxidase inhibitor*. Среди побочных эффектов прогнозируются *Shivering*, *Postural (orthostatic) hypotension*, *Neutrophilic dermatosis*, *Extrapramidal effect*.

Для синтезированных соединений также были оценены фармакокинетические параметры Липински. Из полученных данных следует, что у полученных диазабицикло[3.3.1]нон-2-енов молекулярная масса изменяется в пределах от 258 до 394 (т.е. не превышает 500), значения суммы доноров и акцепторов водородной связи не превышает рекомендуемого в литературе значения. Все синтезированные соединения также удовлетворяют условию концепции *lead-like* по числу нетерминальных вращающихся связей.

Таким образом, проведенное исследование позволяет не только сделать вывод, что полученная серия 2-метокси-7-R-1,5-динитро-3,7-диазабицикло[3.3.1]нон-2-енов проявляет разнообразную биологическую активность, но и прогнозировать их дальнейшее прикладное значение.

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ПРЕПАРАТА «МЕКСИДОЛ» ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Карманова Е. Е.^{1,2}, Иванов В. Е.¹, Брусков В. И.^{1,2}

¹ ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН; ² ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия
bruskov_vi@rambler.ru

Инновационный отечественный фармацевтический препарат «Мексидол» широко используется в настоящее время в отечественной медицинской практике при лечении ряда патологических процессов, обусловленных окислительным стрессом. Однако, возможность его применения как радиозащитного средства при воздействии ионизирующего излучения мало изучена. В данной работе исследованы антиоксидантные свойства «Мексидола» при рентгеновском облучении и возможность использования его в качестве радиозащитного средства.

Полученные результаты показали, что раствор аптечного препарата для инъекций «Мексидол» в концентрации 0,1 мМ (в 1 мМ фосфатном буфере (pH=7,4)) при рентгеновском облучении в дозе 10 Гр снижал продукцию перекиси водорода на 53,8 % относительно контроля, а через 1 ч после облучения – на 72,9 %. Исследования проводились высокочувствительным методом усиленной хемилюминесценции в системе «люминол-р-йодофенол-пероксидаза хрена». Кроме того установлено, что «Мексидол» в концентрации 0,1 мМ при воздействии на раствор ДНК из спермы лосося рентгеновского излучения в дозе 10 Гр уменьшается образование 8-оксогуанина на 62,3 %. Оценка проводилась методом неконкурентного непрямого иммуоферментного анализа с использованием моноклональных антител, специфичных к 8-оксогуанину – ключевому биомаркеру окислительных повреждений ДНК. Так же нами получены предварительные результаты *in vivo*: при многократном потреблении (два раза в сутки) суспензии таблеток аптечного препарата «Мексидол» из расчета 2 мг/кг после облучения рентгеновским излучением в дозе 7 Гр наблюдали повышение выживаемости самцов лабораторных мышей линии SHK.

Таким образом, препарат «Мексидол» проявляет эффективные антиоксидантные свойства по нейтрализации активных форм кислорода возникающих в результате радиолитического распада воды под действием рентгеновского излучения и проявляет радиомитигаторные свойства при введении в организм после облучения.

ИЗУЧЕНИЕ КОРРЕЛЯЦИИ ВИДОВОГО СОСТАВА ЗУБНОЙ БЛЯШКИ И КЛИНИЧЕСКОЙ КАРТИНЫ У БОЛЬНЫХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПАРОДОНТА

Каунова Д.Д.¹, Тихомирова Е.А.², Верховский Р.А.¹, Зудина И.В.¹

¹ ФГБОУ ВПО Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов; ² ГБОУ ВПО Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова Минздрава России, Москва, Россия
lukaly1990@mail.ru

Плохая гигиена полости рта приводит к формированию у человека зубных бляшек - симбионтных сообществ патогенных и условно-патогенных видов бактерий в конгломерате протеинов и экзополисахаридов. Бактерии зубной бляшки в процессе жизнедеятельности выделяют токсичные вещества, способные проникать в ткани десны и вызывать развитие воспалительных заболеваний пародонта (ВЗП). По данным ВОЗ, гингивит или пародонтит выявляются у 90-95 % взрослого населения, причем, у 15-20 % людей развивается тяжелая форма пародонтита, приводящая к прогрессирующей деструкции тканей пародонта и потере здоровых зубов.

В данной работе у 115 лиц (от 20 до 70 лет), страдающих средне-тяжелой формой пародонтита, были установлены и соотнесены между собой клиническая картина ВЗП и состав бактериальной микрофлоры зубного налета и содержимого пародонтальных карманов. Наличие ДНК 5 видов пародонтопатогенных бактерий (*A.actinomycetemcomitans*, *T.forsythia*, *P.intermedia*, *P.gingivalis*, *T.denticola*) определяли методом ПЦР с использованием набора Мультидент-5 (ООО «НПФ Генлаб», Москва). Клиническое состояние тканей пародонта оценивали с помощью стоматологических индексов (ГИ, ПИ, РМА, I. Muhlemann).

Установлено, что активность и характер течения ВЗП тесно связаны с качественным составом микрофлоры десневой борозды. Так, в наших исследованиях ДНК *P.gingivalis* обнаруживалась у 87,5 % пациентов, причем, в 40 % случаев - как самостоятельный пародонтопатоген, а в 60 % - в ассоциации с другими микроорганизмами.

У больных, в биоптатах которых была выявлена ДНК только *P.gingivalis*, отмечались сильная резорбция костной ткани, образование значительных рецессий десны и формирование глубоких пародонтальных карманов. У 53% пациентов из этой группы клиническая картина осложнялась также гноетечением.

ДНК двух бактерий - *P.gingivalis* и *T.forsythia* - выявлялись, как правило, у молодых лиц (28-39 лет) с агрессивным пародонтитом и у лиц (40-55 лет) с диагнозом хронический пародонтит. При этом клиническая картина, как правило, характеризовалась постоянными обострениями воспаления тканей пародонта, сопровождающимися гноетечениями.

Ассоциация *P.gingivalis*, *T.denticola* и *T.forsythia* в большинстве случаев вызывала тяжелое течение пародонтита с кровоточивостью десен, сильной подвижностью зубов, наличием обильных зубных отложений.

Таким образом, разнообразие видов пародонтопатогенных бактерий в микробиоценозах зубной бляшки приводит к формированию разных по клинической картине воспалительных заболеваний пародонта, что требует учитывать при назначении антибактериальной терапии.

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОСОВМЕСТИМОСТИ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ, ОБРАБОТАННЫХ ТЕХНОЛОГИЕЙ СВЕРХКРИТИЧЕСКОЙ ФЛЮИДНОЙ ЭКСТРАКЦИИ, В МОДЕЛИ ГЕТЕРОТОПИЧЕСКОЙ ИМПЛАНТАЦИИ КРЫСАМ

Фадеева И.С.^{1,3,4}, Кирсанова П.О.^{1,4}, Сенотов А.С.^{1,4}, Фадеев Р.С.^{1,3,4}, Минайчев В.В.^{1,3}, Звягина А.И.^{1,3}, Кузьмин М.В.^{1,3}, Просвирин А.А.^{4,5}, Лекишвили М.В.^{2,4}, Акатов В.С.^{1,3,4}

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, ²ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова» МЗ РФ, ³ФГБОУ ВПО «Пушкинский государственный естественно-научный институт», ⁴ООО «НПК «Рецептор», ⁵ ГБОУ ВПО Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова Минздрава России, Россия

kirsanova_polina_work@mail.ru

За последние годы область биоматериаловедения, направленная на восстановление, сохранение и улучшение функций костной ткани (КТ) человека, значительно пополнилась новыми технологиями и материалами различной природы и потенциалов. Тем не менее, поиски идеального материала, обладающего совокупностью свойств, необходимых для быстрой, качественной регенерации кости, продолжаются и на данный момент.

В работе проведена оценка эффективности материалов, обработанных новым методом предимплантационной очистки донорского материала при помощи СКТ (сверхкритического диоксида углерода (скCO₂)). Данная технология имеет ряд преимуществ, таких как структурная сохранность костного матрикса, формирование и количественный контроль пористости, нетоксичность, гипоаллергенность и антимикробная/противовирусная активность скCO₂.

Исследование свойств остеопластических СКТ-материалов проводили на модели подкожной имплантации половозрелым самцам крыс линии «Wistar», весом 180-200 г с использованием Золетил/Ксилазинового наркоза (7/13 мг/кг) на сроки 6 и 13 недель имплантации в соответствии с ГОСТ ИСО 10993-6-2011. После вывода животных из эксперимента осуществлялась макро- и микроскопическая оценка имплантата, окружающих его тканей с использованием методов гистологического и цифрового анализа изображений (биоимиджинга), световой и конфокальной микроскопии.

По результатам исследования было обнаружено, что образовавшаяся вокруг фрагментов материала соединительнотканная капсула подвергалась выраженной инволюции и при эксплантации на 6 и 13 неделе имплантации по структуре не отличалась от здоровых тканей реципиента; признаков воспаления и пат. минерализации контактирующих с имплантатом тканей установлено не было (кол-во минерализованного Са в контактных тканях 0,098±0,068 мг/кг сухого веса ткани). Были сделаны следующие выводы: материал, полученный с использованием СКТ не обладает токсическим эффектом, не подвергается резорбции, не теряет прочностных характеристик, не изменяет структуру контактных тканей, но при этом не проявляет признаков эктопической остеоиндукции и не подвергается репопуляции клетками реципиента даже ч/з 90 суток имплантации.

На основании полученных данных было сделано предварительное заключение о перспективности использования обработанных скCO₂ СКТ-материалов в качестве замещающих и/или опорных остеопластических материалов, не требующих процесса регенерации и аугментации КТ, например, при восполнении дефектов неопорной КТ, при закрытии дефектов черепа или при реконструктивных операциях твердого неба.

В дальнейшем запланировано проведение цикла экспериментальных исследований СКТ-материалов в модели ортотопической имплантации в модельные дефекты костной ткани мелким и средним лабораторным животным.

Работа поддержана Программой Президиума РАН «ФИМТ», а также Фондом содействия РМП НТС.

ИССЛЕДОВАНИЕ САМООРГАНИЗАЦИИ СТРОМАЛЬНЫХ И ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ПРИ ИХ СОВМЕСТНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА ТРЕХМЕРНОМ МАТРИКСЕ МАТРИГЕЛЬ

Китаева К.В.¹, Прудников Т.С.¹, Тазетдинова Л.Г.¹, Гомзикова М.О.¹, Ризванов А.А.¹, Соловьева В.В.¹

¹ ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Казань, Россия
olleth@mail.ru

Процессы формирования метастаз и прогрессии опухоли в стромальном окружении представляют интерес для разработки эффективных методов лечения онкологических заболеваний. Защитные сигнальные

пути, возникающие в опухолевой строме, способствуют сохранению остаточных опухолевых клеток после терапии и рецидиву заболевания. Для исследования взаимодействий стромальных и опухолевых клеток *in vitro* используют различные модели внеклеточного матрикса.

Цель работы — исследование самоорганизации мезенхимных стромальных клеток (МСК) и клеток нейробластомы SH-SY5Y при совместном культивировании на трехмерном внеклеточном матриксе Матригель.

МСК были выделены из костного мозга человека методом центрифугирования в градиенте плотности фиколла с последующей адгезией к пластику. МСК и SH-SY5Y перед внесением в смешанную культуру были предварительно окрашены витальными красителями Vybrant DiD и DiO (Thermo Fisher Scientific, США). После окрашивания клетки смешивали в соотношении 1:1 и культивировали на Матригеле (BD Biosciences, США) при 37 °C во влажной атмосфере с 5% содержанием CO₂. Цитофлуориметрический анализ проводили на приборе FACS Aria III (BD Biosciences, США).

При ко-культивировании, меченые МСК и опухолевые клетки были легко различимы по своему уникальному флуоресцентному излучению. Несмотря на то, что клеточные популяции вносили в ко-культуру одновременно в форме моноклеточной суспензии, мы наблюдали быструю самоорганизацию различных клеточных популяций. Результатом краткосрочной инкубации МСК и SH-SY5Y в течение 48 ч на Матригеле явилось формирование капилляроподобных структур, которые состояли из клеток SH-SY5Y и прилегающим к ним МСК. Это указывает на положительный тропизм МСК к опухолевым клеткам. Однако полученная структура явилась переходной, так как в течение 3–4 дней МСК и SH-SY5Y сформировали новую, уникальную структуру: сфероидные образования, в центре которых располагались SH-SY5Y, окруженные МСК. Подобные структуры могут рассматриваться в качестве модели опухолевой стромы при прогрессии опухоли. Этот вид самоорганизации ко-культуры может отражать характер взаимодействия опухолевых и стромальных клеток во время метастазирования опухоли в организме. Цитофлуориметрический анализ показал обмен цитоплазмой между стромальными и опухолевыми клетками. Исследования самоорганизации клеток в моделях, имитирующих трехмерные структуры опухолевой ткани, могут повысить эффективность скрининга противоопухолевых препаратов.

Работа финансировалась грантом РФФИ №16-34-60201.

РАЗРАБОТКА СБОРНИКА ЗАДАЧ ПО ИНЖЕНЕРНОЙ БИОЛОГИИ ДЛЯ СТУДЕНТОВ ЕСТЕСТВЕННО-НАУЧНЫХ ВУЗОВ

Клабуков И.Д.¹

¹ ФГБОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

ilya.klabukov@gmail.com

Современная инженерная биология представляет собой инструментарий реализации организмов и их компонентов с новыми свойствами, в том числе ранее не существовавшими в природе. Использование подходов инженерной (синтетической) биологии позволяет решать биологическую проблему как конструкторскую задачу, собирая инженерную систему из элементов биоконструктора. На сегодняшний день общеизвестны сборники задач для студентов по молекулярной биологии (Wilson and Hunt, 2015), физике (Козел С.М. и др., 1978), однако разработанных задачников по инженерии живых систем до настоящего времени создано не было.

В рамках разработки учебного курса «Индустрия биотехнологического превосходства» в МФТИ (лаборатория инновационных образовательных технологий, зав. лаб. – Пустовой Т.В.) была проведена работа по составлению сборника задач по перспективным направлениям развития биотехнологий и биомедицины, разрешение которых возможно с помощью современного инструментария синтетической биологии.

Разработанный "Сборник задач по инженерной биологии" составлен из семи глав по проблемам реализации биоинженерных устройств, природы человека, основ природы, космической биологии, фундаментальной биологии, биобезопасности и биоэтики, а также реализации суперсистем. Тематика задач посвящена способам модификации биологических объектов и вариантам приложения инженерных биосистем для решения биомедицинских, производственных, агропромышленных, этических и других проблем.

Разрешение предложенных задач может быть основано на оригинальном использовании современных молекулярно-биологических и клеточных технологий, в том числе систем редактирования генома (CRISPR/Cas9, TALEN, ZFN), синтетических рецепторов, биоматериалов, и т.д. Кроме того, представленные задачи могут быть использованы при обсуждении возможностей современного инженерно-биологического инструментария, и связанных с ним последствий для биоэкономики и биоэтики.

Разработанный «Сборник задач по инженерной биологии» (DOI: 10.2139/ssrn.2898429) предназначен для использования в специализированных университетских курсах по тематике биотехнологий, а также биомедицины, биоэкономики и биоэтики. Сборник рассчитан на студентов с инженерным складом ума, причем

как естественно-научных, так и гуманитарных специальностей, желающих в будущем найти себя в конструировании элементов новой индустрии живых инженерных суперсистем.

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ФЛАВОНОИДОВ И ИХ КОНЬЮГАТОВ С КАРБОНИЛЬНЫМИ СОЕДИНЕНИЯМИ

Козина В.И.^{1,2}, Шаталин Ю.В.¹, Шубина В.С.¹

¹ ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН; ² ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия
ernie.nike@yandex.ru

Флавоноиды относятся к классу полифенольных соединений растительного происхождения. Данные соединения проявляют различную биологическую активность, в связи с чем проводятся многочисленные исследования, направленные на изучение механизмов их действия. В частности, широко исследуются механизмы, лежащие в основе противовоспалительного действия флавоноидов. Во время воспаления происходит генерация активных форм кислорода (АФК) и перекисное окисление липидных компонентов клетки (ПОЛ), в результате которого образуются токсичные продукты. Согласно существующим данным флавоноиды способны напрямую реагировать с АФК и связывать ионы переходных металлов, ингибируя, таким образом, развитие окислительного стресса, сопровождающего воспалительный процесс. Существует гипотеза, согласно которой флавоноиды способны утилизировать токсичные продукты ПОЛ, а именно карбонильные соединения, что приводит к образованию конъюгированных форм флавоноидов. Исследование свойств конъюгатов представляет отдельный интерес. Целью настоящего исследования являлось изучение антиоксидантных свойств шести структурно близких флавоноидов (таксифолина, кверцетина, катехина, эриодиктиола, гесперетина и нарингенина) и конъюгатов таксифолина с карбонильными соединениями (глиоксальной кислотой, малоновым диальдегидом и ацетальдегидом), а также их влияния на процесс железо-индуцированного окисления липидов. Сопоставление результатов по действию исследуемых полифенолов в модельной биохимической (люминол-пероксидаза хрена-пероксид водорода) и клеточной (нейтрофилы, стимулированные ФМА) системах показало, что наибольшую активность проявляют флавоноиды, содержащие в структуре катехольный фрагмент (кверцетин, катехин, эриодиктиол и таксифолин). Аналогичные результаты были получены при изучении ингибирующего действия флавоноидов на процессы ПОЛ. Конъюгаты таксифолина, содержащие в своей структуре катехольный фрагмент, также обладают антиоксидантными свойствами. Как было показано, наиболее эффективное антиоксидантное действие среди конъюгированных форм таксифолина в модельных биохимических системах оказывает конъюгат таксифолина и глиоксальной кислоты. Способность данного соединения улавливать АФК и ингибировать ПОЛ сопоставима с соответствующей способностью исходного флавоноида. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что исследуемые соединения, как флавоноиды, так и их конъюгаты с карбонильными соединениями проявляют антиоксидантную активность и могут уменьшать воспалительную реакцию организма.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (№14-44-03622, №15-04-02377).

ДЕЙСТВИЕ ВОДОРАСТВОРИМОЙ ФОРМЫ ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА НА УРОВЕНЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ И ФОРМАХ ВВЕДЕНИЯ В ОРГАНИЗМ ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЯ

Колесник В.В.^{1,2}, Наумов А.А.¹, Поцелуева М.М.^{1,2}

¹ ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН; ² ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия
chieftainloonin@gmail.com

Природная (липофильная) форма ДГК обладает незначительной растворимостью в воде (0,3 г/л), что является препятствием для его широкого применения. Для расширения спектра действия ДГК была синтезирована водорастворимая форма ДГК (рДГК), включенная в β -циклодекстрин, в комплексе с которым содержание ДГК составляло 65%. В данной работе было проведено исследование влияния различных доз препарата (рДГК), способов его введения и времени начала терапии на продолжительность жизни опухоленосителя на примере экспериментальной модели опухолевого роста – асцитной карциноме Эрлиха. Были проведены ежедневные внутрибрюшинные инъекции рДГК в концентрации 4 мг/кг и 30 мг/кг в различных фазах опухолевого роста, начиная с 3-х суток. В качестве контроля была взята группа мышей опухоленосителей, которым в тех же условиях вводили 0,9 % раствор NaCl. Результаты показали, что эффективным началом терапии являются 5 сутки развития опухоли (начало экспоненциальной фазы

опухолевого роста), как при использовании концентрации рДГК 4 мг/кг, так и 30 мг/кг. При внутрибрюшинных инъекциях продолжительность жизни опухоленосителя увеличивалась от 7% (при концентрации 4 мг/кг) до 20 % при возрастании концентрации до 30 мг/кг рДГК. При ежедневном пероральном введении рДГК достоверных позитивных результатов не получено. Также было изучено действие рДГК на показатели окислительного стресса в плазме и асцитической жидкости опухоленосителя. При внутрибрюшинной инъекции рДГК с концентрацией 4 мг/кг в плазме крови происходит увеличение тиоловых групп белков в 2-3 раза при начале терапии с 5 суток, что, по-видимому, влияет на увеличение продолжительности жизни животных. При увеличении концентрации рДГК до 30 мг/кг этот показатель увеличивался в 6 раз по сравнению с контролем. В зоне роста опухоли происходит напротив, снижение тиоловых групп белков, увеличивается уровень окисленной модификации белков, что негативно должно сказаться на интенсивности роста опухоли.

Таким образом, водорастворимая форма ДГК не ухудшила антиоксидантные свойства по сравнению с нативной формой этого соединения. При одинаковых концентрациях нативная форма ДГК и рДГК имеют схожее биологическое воздействие на состояние окислительного стресса. Однако высоко растворимая форма комплекса ДГК с циклодекстрином позволит вводить препарат непосредственно в кровоток в повышенных концентрациях, что улучшит качество и продолжительность жизни больных с различными патологиями.

ДИЗАЙН ЛИПОПЛЕКСА С МИРНК ПРОТИВ ВИРУСА ГЕПАТИТА С

Колоскова О.О.^{1,2}, Носова А.С.², Буданова У.А.², Себякин Ю.Л.², Турецкий Е.А.¹, Шиловский И.П.¹, Смирнов В.В.¹, Хаитов М.Р.¹

¹ФГБУ "ГНЦ Институт иммунологии" ФМБА России; ²ФГБОУ ВО Московский технологический университет
ФГБОУ ВО Московский технологический университет, Институт тонких химических технологий, Москва, Россия

oo.koloskova@nrcii.ru

Вирусный гепатит С (ВГС), от которого страдает примерно 3% населения земного шара, представляет собой серьезную проблему для мирового здравоохранения. Существующие способы терапии имеют свои недостатки, связанные с низкой эффективностью, развитием побочных эффектов и резистентности патогена к препарату. В связи с этим создание новых подходов к лечению ВГС продолжает оставаться актуальной задачей.

Детальное изучение молекулярных механизмов жизненного цикла ВГС привело к возможности создания нового класса генно-терапевтических препаратов.

Обзор литературы и анализ нуклеотидных последовательностей генома вируса позволил выбрать три оптимальных участка генома в качестве мишеней (гены: *NS2* и *NS5A*, регион *5'-UTR*). С использованием методов биоинформатики были спроектированы, а затем синтезированы 20 молекул миРНК. По результатам экспериментов *in vitro* была выбрана миРНК (*siUTR-210*), способная подавлять экспрессию региона *5'-UTR* вируса на 90%.

Известно, что главным препятствием для внедрения генно-терапевтических препаратов в медицинскую практику является низкая эффективность доставки нуклеиновых кислот в клетки-мишени.

Для создания новых эффективных медиаторов трансфекции на основе катионных липосом в данной работе был синтезирован ряд алифатических производных пептидов. Были протестированы физико-химические и биологические свойства полученных соединений, выбрана наиболее эффективная и нетоксичная композиция на основе липотрипептида OrnOrnGlu(C16H33)2.

Выбранные липосомы и молекулы миРНК были использованы для конструирования комплекса, способного подавлять репликацию вируса гепатита С.

Изучение биологической активности полученного липоплекса проводили на клетках-гепатоцитах Huh-7, экспрессирующих субгеномный репликон вируса. Полученные данные свидетельствуют о том, что сконструированный комплекс специфично снижает экспрессию репликона ВГС в клетках на 20-30%.

Исследования фармакокинетики и биораспределения проводили на мышах линии BALB/c, которым внутривенно вводили флуоресцентно меченый комплекс, затем у них забирали кровь и внутренние органы. Выявлено, что в печени компоненты комплекса детектируются в значительных количествах, более того, период полувыведения препарата из печени один из самых высоких, в сравнении с другими органами.

Таким образом, в результате работы был сконструирован комплекс на основе липотрипептида и молекул миРНК, который способен аккумулироваться в печени и при этом обладающий низкой токсичностью.

ПОДАВЛЕНИЕ СИНТЕЗА HSP70 УСИЛИВАЕТ ТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

Колударова Л.В.^{1,2}, Никитина А.Д.¹, Мартова Е.В.^{1,2}, Суезов Р.В.¹, Михайлова Е.Р.¹, Гужова И.В.¹, Маргулис Б.А.¹

¹ФГБУН Институт Цитологии РАН; ²ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

lidiakoludanova@gmail.com

Опухолевые клетки подвержены большому количеству стрессовых воздействий. Для сопротивления неблагоприятным факторам и поддержания стабильного состояния они имеют развитую систему защиты, основанную на белках теплового шока. Многие виды раковых заболеваний характеризуются повышенным содержанием данных белков, в частности HSP70. Увеличение уровня HSP70 коррелирует с неблагоприятным прогнозом для пациентов: способствует малигнизации опухоли и блокирует активацию апоптоза, вследствие чего раковые клетки становятся более устойчивыми к действию химиотерапии. Активатором экспрессии генов белков теплового шока является транскрипционный фактор HSF1, который мобилизуется во время стресса и в раковых клетках выполняет протоонкогенную функцию. Основываясь на этих данных мы предположили, что подавление уровня синтеза HSP70 в клетке путем блокирования работы HSF1 способствует увеличению чувствительности раковых клеток к воздействию противоопухолевых препаратов. В ходе скрининга 1000 веществ в нашей лаборатории было отобрано соединение, подавляющее уровень синтеза HSP70.

Целью данной работы является исследование терапевтического эффекта соединения, подавляющего синтез HSP70 в клетках линии HCT116 при совместном действии с противоопухолевым препаратом этопозид.

Снижение уровня синтеза HSP70 под действием соединения было выявлено при использовании люциферазной репортерной системы, а также метода электрофоретического разделения белков с последующим иммуноблоттингом. С помощью метода оценки активности лактатдегидрогеназы в среде мы проанализировали прямую токсичность соединения и установили, что данное вещество оказывает несущественную токсичность (7,7%) в рабочих концентрациях. Влияние соединения на малигнизацию клеток проводили с помощью теста колониеобразование и зарастание царапины. В результате мы увидели уменьшение количества и плотности формируемых колоний, а также снижение скорости зарастания царапины, что свидетельствует об уменьшении агрессивности раковых клеток. Исследование пролиферации клеток в режиме реального времени при использовании прибора xCelligence позволило увидеть усиление цитотоксического действия противоопухолевого препарата этопозид при совместном применении с веществом, подавляющим уровень синтеза HSP70. Эти данные мы подтвердили с помощью МТТ. Полученные результаты свидетельствуют о том, что использование соединения, подавляющего синтез HSP70, вместе с препаратом этопозид приводит к увеличению эффективности противоопухолевой химиотерапии.

ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ ПАПАИНА, ИММОБИЛИЗОВАННОГО НА МАТРИЦЕ КИСЛОТОРАСТВОРИМОГО ХИТОЗАНА

**Королева В.А.¹, Холявка М.Г.¹, Сазыкина С.М.¹, Ольшанникова С.С.¹, Ермолаева В.В.¹,
Шеломенцева Т.Н.¹, Артюхов В.Г.¹**

¹ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

koroleva_victoria@bk.ru

Применение иммобилизованных ферментов в пищевой промышленности, медицине и ветеринарии имеет значительное преимущество перед нативными энзимами: более продолжительный срок хранения даже при комнатных температурах, замедление процессов инактивации, устойчивость к действию агрессивных факторов среды [1].

Целью работы являлось исследование стабильности гетерогенного биокатализатора на основе папаина, иммобилизованного на матрицах кислоторастворимого среднемолекулярного и высокомолекулярного хитозанов.

В качестве объекта исследования был выбран папаин (Sigma), субстратом для гидролиза служил азоказеин (Sigma), носителями для иммобилизации – кислоторастворимые среднемолекулярный (Мг=200 кДа, СД – 82 %) и высокомолекулярный (Мг=350 кДа, СД – 94.85 %) хитозаны (ЗАО «Биопрогресс»). Для адсорбции энзима на кислоторастворимых среднемолекулярном и высокомолекулярном хитозанах использовали глициновый буфер (0.05 М, pH 9.0) [2].

Исследование стабильности свободного папаина и гетерогенного ферментного препарата мы проводили в течение двух суток по следующей схеме: инкубация образцов при 37 °С с измерением каталитической активности через 1, 2, 3, 4, 5, 24 и 48 часов.

Анализ ферментативной активности нативного и иммобилизованного энзима показал, что растворимый папаин теряет 30 % от исходной активности после двух суток инкубации. Сорбированный на матрицах обоих типов хитозанов папаин высоко активен даже после двух суток инкубации (сохраняет не менее 97 % от исходной каталитической способности).

Таким образом, иммобилизация папаина на кислоторастворимых хитозанах препятствует быстрой инактивации энзима и увеличивает время его полужизни, а также позволяет осуществлять хранение препарата при комнатных температурах, что повышает перспективы эффективного применения фермента, удешевляет процесс его использования в промышленных, медицинских и ветеринарных целях.

ВЛИЯНИЕ RHODOCOCCLUS-БИОСУРФАКТАНТА НА АНТИТЕЛОГЕНЕЗ И ДИНАМИКУ РЕСПИРАТОРНОГО ВЗРЫВА В СИСТЕМЕ IN VIVO

Кочина О.А.¹, Гейн С.В.^{1,2}, Куюкина М.С.^{1,2}, Ившина И.Б.^{1,2}

¹ ФГБУ Институт экологии и генетики микроорганизмов, Уральское отделение РАН; ² ФГБОУ ВО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия
gein@iegm.ru

Гликолипиды, обладающие противоопухолевой, антимикробной и противовирусной активностью, как правило, являются токсичными соединениями и продуцируются патогенными микроорганизмами, такими как: *Mycobacterium tuberculosis*, *Corynebacterium diphtheriae* и др. Из-за высокой токсичности гликолипидов их иммуномодулирующая активность не может быть использована в фармацевтических целях. Таким образом, является актуальным скрининг непатогенных бактерий, продуцирующих не токсичный гликолипидный комплекс, обладающий иммунорегуляторными свойствами.

Цель работы – исследовать в системе *in vivo* влияние биосурфактанта *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 231 на уровень респираторного взрыва перитонеальных макрофагов и количество антителообразующих клеток мыши при различных способах введения гликолипида.

В качестве модельного объекта в исследовании иммунорегуляторных свойств препарата были выбраны беспородные белые мыши-самцы весом 21-25 г. Животные были разделены на 4 группы: контрольную, получающих внутрибрюшинно и внутримышечно (задняя правая лапа) препарат в дозах 25, 50 и 100 мг/кг. Контрольной группе вводили 0,9% NaCl. Оценка кислородзависимой микробицидности перитонеальных макрофагов проводилась методом люминолзависимой хемилюминисценции. В качестве индуктора респираторного взрыва использовали опсонизированный зимозан в концентрации 150 мкг/мл. Интенсивность антителогенеза оценивали по числу антителообразующих клеток методом Егге.

Установлено, что препарат угнетал продукцию активных форм кислорода перитонеальными макрофагами мыши при обоих способах введения препарата. При в/б введении в спонтанных культурах макрофагов гликолипид снижал уровень респираторного взрыва в дозах 25 и 100 мг/кг в периоды с 0-10 и 0-35 минуты соответственно. В стимулированных зимозаном культурах препарат во всех дозах оказывал угнетающее действие на выраженность кислородного взрыва. При в/м введении препарата было обнаружено наличие статистически значимого угнетения продукции активных форм кислорода только при условии присутствия стимулятора в культурах клеток. Влияние гликолипида было зафиксировано на протяжении всего времени регистрации данных и во всех исследуемых дозах. При в/б введении гликолипид снижал количество продуцентов антител в селезенке в дозах 50 и 100 мг/кг. При в/м введении препарат снижал количество антителообразующих клеток в селезенке во всем диапазоне исследуемых доз. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о наличии иммуномодулирующей активности исследуемого биосурфактантного гликолипидного комплекса и перспективности дальнейшего изучения иммунорегуляторных свойств.

ВЛИЯНИЕ ТРОФОБЛАСТИЧЕСКОГО ВЕТА1-ГЛИКОПРОТЕИНА НА ПРОДУКЦИЮ ИЛ-10 ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫМИ КЛЕТКАМИ ЧЕЛОВЕКА

Кропанева М. Д.¹, Заморина С. А.^{2,1}

¹ ФГБОУ ВО Пермский государственный национальный исследовательский университет; ² ФГБУ Институт экологии и генетики микроорганизмов, Уральское отделение РАН, Пермь, Россия
kropanevamasha@gmail.com

Трофобластический beta1-гликопротеин (ТБГ) – это белок, продуцируемый во время беременности клетками цито- и синцитиотрофобласта. ТБГ обладает выраженным иммуносупрессорным эффектом. Интерлейкин-10 (IL-10) является противовоспалительным цитокином и его повышенная продукция при беременности важна при формировании иммунной толерантности организма матери по отношению к плоду. Цель данной работы заключается в изучении влияния ТБГ на уровень IL-10 в культуре мононуклеарных клеток и CD4⁺-лимфоцитов. Для этого из периферической крови небеременных женщин репродуктивного возраста

($n=8$), получали суспензию мононуклеарных клеток (МНК) центрифугированием в градиенте плотности фиколл-верографина. Далее культуры мононуклеарных клеток (стимулированные ФГА) и выделенные методом позитивной иммуномагнитной сепарации ("InVitrogen", США) $CD4^+$ -лимфоциты (стимулированные IL-2 (10 нг/мл, «Sigma», США) и ФГА (2,5 мкг/мл, «Sigma», США)), инкубировали в течение 72 часов с ТБГ в плоскодонном 96-луночном планшете в полной питательной среде (ППС). В экспериментах использовали физиологические концентрации ТБГ, соответствующие его уровню в периферической крови матери в динамике беременности: 1, 10 и 100 мкг/мл. В работе применяли нативный препарат ТБГ, полученный из периферической крови беременных женщин [патент РФ №2367449]. После инкубации с ТБГ оценивали концентрацию IL-10 в супернатантах культур иммуноферментным методом при помощи наборов ООО «Цитокин» (Россия) на фотометре Synergy H1 (США). Используемые экспериментальные подходы позволили установить, что ТБГ достоверно увеличивает секрецию IL-10 в культуре мононуклеарных клеток (контроль $235,38 \pm 23,69$ пг/мл; ТБГ $306,5 \pm 21,59$ пг/мл) и $CD4^+$ -лимфоцитов (контроль $368,8 \pm 40,93$ пг/мл; ТБГ $489,37 \pm 37,21$ пг/мл). Таким образом, ТБГ повышает уровень IL-10, секретируемого стимулированными мононуклеарными клетками и $CD4^+$ -лимфоцитами. Это позволяет белку сформировать подходящий для успешного протекания беременности иммунный статус матери.

Исследование поддержано грантом РФФИ 16-04-00591

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО HER2-СПЕЦИФИЧНОГО РЕКОМБИНАНТНОГО ИММУНОТОКСИНА НА ОСНОВЕ ДАРПИНА И ЭКЗОТОКСИНА А

Кутова О.М.¹, Соколова Е.А.^{1,2}, Гурьев Е.Л.¹, Деев С.М.^{1,2}, Балалаева И.В.^{1,2}

¹ ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, ² ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Москва, Россия

rapicat@rambler.ru

В современной медицинской практике таргетная терапия является активно развивающимся подходом к лечению злокачественных новообразований. Перспективными агентами, разрабатываемыми в этом направлении, считаются рекомбинантные иммунотоксины. Они представляют собой белковые молекулы, включающие два структурных и функциональных модуля: направляющий, который связывается с молекулой-мишенью и эффекторный (токсический), который убивает клетку.

Настоящее исследование посвящено оценке эффективности нового рекомбинантного иммунотоксина DARPin-PE40, специфичного к онкомаркеру HER2. Гиперэкспрессия HER2 характерна для многих типов опухолей эпидермального происхождения и ассоциируется с плохим прогнозом и низкой выживаемостью пациентов. Направляющий модуль иммунотоксина представляет собой белок неиммуноглобулиновой природы из класса дарпинов, созданный на основе повторов в молекуле природного анкирина. Эффекторный модуль иммунотоксина представляет собой модифицированный экзотоксин А бактерии *Pseudomonas aeruginosa*, лишенный собственного связывающего модуля.

Исследуемый иммунотоксин был наработан в штамме *E. coli* BL21 и очищен методами металл-аффинной хроматографии и гель-фильтрации. Молекулярная масса полученного белка определена методом ПААГ-электрофореза в денатурирующих условиях. Для специфичного подтверждения присутствия DARPin-PE40 в очищенных образцах был использован метод вестерн-блоттинга. На культурах клеток *in vitro* продемонстрировано специфическое цитотоксическое действие DARPin-PE40 в отношении линий клеток, гиперэкспрессирующих HER2.

Эффективность противоопухолевого действия иммунотоксина DARPin-PE40 была проанализирована на подкожно привитой бестимусным мышам опухолевой модели аденокарциномы молочной железы человека SKBR-3. Показано дозозависимое ингибирование роста экспериментальных опухолей. Анализ кривых роста показал, что данный эффект обусловлен снижением скорости роста опухолевого узла. В конечном итоге, введение DARPin-PE40 приводило к существенному увеличению продолжительности жизни животных-опухоленосителей.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (договор № 14.Z50.31.0022).

МЕМБРАНОТРОПНЫЕ СВОЙСТВА ФУЛЛЕРЕНСОДЕРЖАЩИХ МАКРОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СТРУКТУР НА ОСНОВЕ АМФИФИЛЬНЫХ СОПОЛИМЕРОВ N_ВИНИЛПИРРОЛИДОНА

Ложкин А.Д.^{1,2}, Солдатова Ю.В.¹, Смолина А.В.¹, Файнгольд И.И.¹, Образцова Н.А.¹, Курмаз Н.А.¹, Котельникова Р.А.¹

¹ ФГБУН Институт проблем химической физики РАН; ² ФГОУ ВО Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия
promchemie@gmail.com

Изучалось влияние фуллеренсодержащих макромолекулярных структур на основе амфифильных сополимеров N_винилпирролидона (ФСВП) на модельные мембраны: фосфотидилхолиновые липосомы.

Методом флуоресцентных зондов были исследованы три поливинилпирролидоновых комплекса фуллерена C₆₀ (C₆₀/ПВП) с линейными и разветвленными сополимерами N_винилпирролидона.

По характеру тушения флуоресценции зондов установлено, что все фуллеренсодержащие производные образуют комплексы с амфифильным флуоресцентным зондом 2,7-дибромпрофлавином как в водных буферных растворах, так и в составе фосфатидилхолиновых липосом, а также с гидрофобным зондом пиреном в неполярных сайтах мембраны. Полученный результат свидетельствует о том, что C₆₀/ПВП-комплексы включаются в мембрану в районе глицириновых остатков фосфолипидов (в месте локализации зонда 2,7-дибромпрофлавина) и проникают в область жирнокислотных остатков фосфатидилхолина (локализация пирена).

В рамках исследований определяли константы равновесия комплексов зонд ÷ C₆₀/ПВП в водных растворах и в мембране липосом. Показано, что наиболее высокие константы равновесия между 2,7-дибромпрофлавином и C₆₀/ПВП, а также между пиреном и C₆₀/ПВП имеют фуллереновые производные с разветвленным сополимером N-винилпирролидона, что свидетельствует о наиболее высокой прочности этого комплекса как в полярных, так и неполярных сайтах мембраны.

Для оценки структурных изменений в гидрофобных сайтах мембраны фосфотидилхолиновых липосом в присутствии исследуемых комплексов изучали изменение соотношения мономеров и эксимеров спектра флуоресценции пирена (максимумы флуоресценции 393 нм и 473 нм, соответственно) в составе липосомальной мембраны при действии C₆₀/ПВП. Установлено, что соотношение эксимеров к мономерам при тушении флуоресценции пирена фуллеренсодержащими комплексами не меняется, что свидетельствует об отсутствии нарушений структуры в присутствии C₆₀/ПВП.

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ И ТОКСИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ДИАЛКИЛ(ДИФЕНИЛ)-2-ГИДРОКСИФЕНИЛЭТЕНИЛФОСФОНИЕВЫХ СОЛЕЙ

Любина А.П.^{1,2}, Татаринев Д.А.^{1,2}, Кузнецов Д.М.^{1,2}, Миронов В.Ф.^{1,2}, Кулик Н.В.², Волошина А.Д.², Зобов В.В.^{1,2}

¹ ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет; ² ФГБУН Институт органической и физической химии им. А. Е. Арбузова КазНЦ РАН, Казань, Россия
aplyubina@gmail.com

Развитие лекарственной резистентности микроорганизмов приводит к снижению эффективности известных антибиотиков. В результате чего возникают инфекции, трудно поддающиеся лечению. На сегодняшний день проблема возникновения устойчивых штаммов патогенных микроорганизмов достигла мирового масштаба. Одним из путей преодоления лекарственной резистентности является создание новых антимикробных препаратов.

Фосфониевые соли являются одними из наиболее широко используемых и изучаемых классов фосфорорганических соединений. В медицине они применяются в качестве противоопухолевых и антимикробных агентов.

Были протестированы на биологическую активность два ряда производных фосфониевых солей, отличающихся набором заместителей при атоме фосфора: диалкилфенил- и дифенилалкил-2-гидроксифенилэтиленфосфониевых солей.

В рамках проведенных исследований были изучена антимикробная активность, а так же определена цитотоксичность соединений на клетках млекопитающих.

Показано избирательное действие диалкилфенил-производных (первый ряд) соединений на грамположительные бактерии (*Staphylococcus aureus* 209P и *Bacillus cereus* 8035). Минимальные ингибирующие концентрации (МИК) соединений лидеров составили 15,6 — 3,9 мг/л.

Для дифенилалкил производных (второй ряд) была показана более высокая антимикробная активность по отношению к грамположительным бактериям по сравнению с диалкилфенил-производными (МИК: 15,6 — 1,5 мг/л). Кроме того была выявлена противогрибковая активность в отношении *C. albicans*, *A. niger* и *T. mentagrophytes* (МИК 250 — 15,6 мг/л).

Протестированные соединения-лидеры в концентрациях, угнетающих рост тест-микроорганизмов, оказывают незначительное гемолитическое действие на эритроциты крови человека. Исследование цитотоксичности на клеточных линиях проводили с использованием многофункциональной системы Cytell Cell Imaging по стандартным протоколам. Большинство соединений показали низкую и умеренную токсичность в экспериментах на нормальных клеточных линиях млекопитающих.

В результате проделанной работы установлено, что диалкил(дифенил)-2-гидроксифенилэтинилфосфониевые соли могут рассматриваться как перспективные антимикробные препараты.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-50-00014).

ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НЕКОТОРЫХ ФЛАВОНОИДОВ НА КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЕ РАКА ТОНКОГО КИШЕЧНИКА

Мамадрахимов А.А.¹, Артыкбаева Г.М.¹, Ялалова И.Р.¹, Хашимова З.С.¹

¹Институт биоорганической химии им. Акад. А.С.Садыкова АН РУз, Ташкент, Республика Узбекистан
gulnoraar@rambler.ru

Эпидемиологические исследования показали, что в регионах с высоким потреблением фруктов и овощей снижен риск возникновения рака. В последние десятилетия натуральные продукты и их производные служат важным источником потенциальных противоопухолевых препаратов. Полифенолы, выделенные из растений, проявляют различные биологические свойства, включая противоопухолевую активность. Мало известно о цитотоксичности полифенолов в отношении клеточной культуры рака тонкого кишечника.

В наших исследованиях мы изучили эффект некоторых флавонов (лютеолина, апигенина), флавонола катехина, гликозида флавонола кверцетина – рутина, лактона кумарина на клеточной культуре рака тонкого кишечника Acaton.

Для изучения компонентного состава вещества анализировали методом ВЭЖХ-масс спектрометрии. Методом ESI-масс-спектрометрии (электроспрей) получали масс-спектры веществ, используя масс-спектрометр 6420 TripleQuadLC/MS (AgilentTechnologies, USA).

Для оценки цитотоксичности был использован МТТ тест. Клетки Acaton рассеивали в 96-луночные планшеты с плотностью $1,5 \times 10^4$ в 100 мкл среды DMEM, содержащей 10% сыворотки эмбриона теленка, L-глутамин, антимикотик-антибиотик (Himedia, Индия) и культивировали при температуре 37°C в CO₂ – инкубаторе. Через 24 ч в клетки вводили вещества в концентрации 10 и 20 мкМ и далее вводили МТТ для выявления живых клеток. После часовой инкубации среду осторожно сливали, добавляли ДМСО и инкубировали 20 мин, затем измеряли оптическую плотность раствора при длине волны 620 нм. В качестве препарата сравнения использовали известный цитостатик Цисплатин-Тева.

Результаты показали, что лютеолин, апигенин обладали дозозависимым эффектом. Наибольшим ингибирующим эффектом обладает лютеолин ($40,0 \pm 3,94\%$ и $82 \pm 1,89\%$ при 10 и 20 мкМ, соответственно) по сравнению с апигенином ($17,08 \pm 1,91$ и $44,94 \pm 1,86$) и рутином ($10,22 \pm 1,0\%$ и $12,69 \pm 1,65\%$). Эффект лютеолина был сравним с таковым цисплатина ($69,76 \pm 1,13$ и $80,41 \pm 5,65\%$). Цитотоксический эффект катехина и кумарина проявлял тенденцию к снижению по мере возрастания концентрации. Активность катехина была $20,99 \pm 1,1\%$ и $14,95 \pm 2,1\%$ при 10 и 20 мкМ, соответственно. Активность кумарина была $44,39 \pm 5,31\%$ и $31,34 \pm 4,09\%$. Наличие оксигруппы обуславливает токсичность препарата, что объясняет цитотоксичность лютеолина, апигенина, кумарина.

СИНТЕЗ И СВОЙСТВА НАНОПАСТ НА ОСНОВЕ ГИДРОКСИАПАТИТА, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫХ ДЛЯ РЕКОНСТРУКТИВНОЙ ХИРУРГИИ КОСТНОЙ ТКАНИ

**Минайчев В.В.^{1,2}, Фадеев Р.С.^{1,3,2}, Фадеева И.С.^{1,3,2}, Кирсанова П.О.¹, Звягина А.И.^{1,2}, Телешев А.Т.⁴, Горшенев В.Н.⁵, Яковлева М.А.⁵, Фомичев В.А.⁴, Лекишвили М.В.⁶, Просвирин А.А.⁷,
Акатов В.С.^{1,3,2}**

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, Пушкино;
²ФГБОУ ВО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино; ³ООО НПК «Рецептор», Пушкино; ⁴ФГБОУ ВО Московский педагогический государственный университет, Москва; ⁵ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, Москва; ⁶ФГБУ Центральный научно-исследовательский институт Травматологии и Ортопедии им. Н.Н. Приорова МЗ РФ, Москва; ⁷ФГБОУ ВО Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, Москва
vminaychev@gmail.com

В современной реконструктивной хирургии костной ткани (КТ) используются различные остеопластические материалы на основе кальцийфосфатных соединений. Среди них можно выделить нанопасты (НП) на основе гидроксиапатита (ГАп), предназначенные для аугментации КТ в условиях малоинвазивного (м/и) хирургического вмешательства. При введении в место дефекта КТ *in vivo* такие НП будут повторять форму костной полости и способствовать ее регенерации. Преимуществами таких НП является сокращение времени хирургических операций и минимизация ущерба организму, что позволит пациентам быстрее достичь восстановления после операции.

Однако при создании искусственных материалов остаются нерешенными вопросы управления формированием их структуры. В частности, формирование пористости и механической прочности (МП). Так, на МП оказывает влияние степень дисперсности материала. Высокодисперсный синтетический ГАп схож с ГАп КТ и способствует дифференцировке мезенхимальных клеток в остеобласты.

Целью исследования являлась оптимизация синтеза ГАп, пригодного для замещения дефектов КТ и исследование его биосовместимости *in vitro*.

Синтез ГАп осуществлялся путем механо-акустической обработки водной реакционной смеси $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ и $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ с помощью роторно-пульсационного аппарата, что позволило сформировать наноразмерные частицы ГАп со средним диаметром 20 нм. Очистка технического ГАп от следов NH_4NO_3 производилась путем его термической обработки. В полученном ГАп кристаллическая фаза не являлась доминирующей в структуре, а пористость составляла 75% при среднем радиусе пор $2,8 \times 10^3$ нм. Было установлено, что термически обработанный ГАп в водной среде приобретает форму пасты, обеспечивающую ее прохождение через пункционную иглу (вплоть до 30G). При исследовании степени биосовместимости НП в условиях *in vitro* обнаружено, что полученная НП не обладает цитотоксичностью, не препятствует адгезии клеток, однако подавляет их распластывание и митотическую активность.

Таким образом, предложенный способ синтеза, очистки ГАп и получения на его основе НП является перспективным и позволяет получать материал с высокой степенью пористости для потенциальных м/и технологий аугментации КТ.

Несмотря на полученные *in vitro* данные, остается открытым вопрос о биосовместимости и остеокондукции нанопаст в условиях *in vivo*, а также модификации НП различными индукторами остео- и неоваскулогенеза, обеспечивающими физиологическую регенерацию и аугментацию КТ при различных дефектах, что является дальнейшими задачами в цикле работ.

Работа поддержана Фондом содействия инновациям и Минобрнауки РФ.

У ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ С ВЫСОКИМ УРОВНЕМ ПОЛИМОРФИЗМА ДНК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ НАБЛЮДАЕТСЯ ВЫСОКИЙ УРОВЕНЬ ПОВРЕЖДЕННОСТИ ДНК ЛЕЙКОЦИТОВ

Митрошина И. Ю.¹, Кузнецова Е.А.¹, Сирота Н. П.¹

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, Пушкино
strelkova.ira@gmail.com

Повреждения ДНК являются важным индикатором таких биологических процессов, как окислительный стресс, репарация ДНК и клеточная гибель. Они формируются в результате атак активных форм кислорода, спонтанного процесса апуринизации / апириминицизации и изменения активности ферментативных систем клетки. Изучение изменений в структуре ДНК остается актуальной задачей в настоящее время. Комбинация методов оценки структурных повреждений позволяет по-новому взглянуть на изменения в геноме человека. В нашей работе использовали метод полимеразной цепной реакции с «arbitraru» праймером (AP-PCR) и метод «комета тест». Метод AP-PCR позволяет выявить вариабельность некодирующих областей генома, известных

своей природной нестабильностью. Методом «комета тест» регистрируется широкий спектр повреждений ДНК в индивидуальных ядросодержащих клетках: одно-, двунитевые разрывы, щелочеллабильные сайты, которые часто являются сайтами, где произошла апуринизация/апириминицизация ДНК.

В данной работе был выявлен уровень полиморфизма ДНК периферической крови здоровых доноров, оцениваемый с помощью полимеразной цепной реакции с «arbitraru» праймером. Полученные значения были сопоставлены с уровнем повреждений ДНК лейкоцитов периферической крови этих же доноров. Уровень повреждений оценивали с помощью щелочной версией метода «комета тест» по параметру процента ДНК в хвосте кометы - % TDNA.

На пробах крови, полученных от 7 здоровых доноров-добровольцев, было обнаружено, что чем выше был уровень полиморфизма, тем выше был % TDNA лейкоцитов периферической крови. Можно полагать, что наличие разрывов или апуриновых/апириминицированных сайтов в ДНК, выявленных с помощью метода «комета тест», влияло на размер продукта ПЦР, повышая уровень полиморфизма. Полученные данные позволяют предположить, что в формирование полиморфизма микро- и минисателлитных повторов ДНК существенный вклад могут вносить эндогенные формы АФК.

ГЕПАТОПРОТЕКТИВНЫЕ СВОЙСТВА ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИМИДИНА

Назаров Н.Г.^{1,2}, Выштакалюк А.Б.¹, Зобов В.В.^{1,2}, Семенов В.Э.¹

¹ФГБУН Институт органической и физической химии им. А. Е. Арбузова КазНЦ РАН, ²ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
nail-naz@yandex.ru

В настоящее время заболевания, связанные с поражениями гепатобилиарной системы, занимают одно из ведущих мест среди патологий, вызывающих необратимые нарушения в функционировании всех систем живого организма. В первую очередь это связано с тем, что печень является барьером, выполняющим функции детоксикации всех чужеродных веществ, попадающих в организм человека.

Цель данной работы – изучение гепатопротективных свойств новых производных пиримидина, представляющих двухфрагментный конъюгат лекарственного средства ксимедон и биогенных кислот.

Из 5 исследованных соединений по влиянию на биохимические показатели крови, измененные в результате острого токсического поражения четыреххлористым углеродом при профилактической схеме введения, выявлены соединения-лидеры. Наилучший эффект по этой схеме оказало соединение 29Д – конъюгат ксимедона с аскорбиновой кислотой. Под его влиянием наблюдали снижение общего и непрямого билирубина и проявление тенденции к снижению прямого билирубина и маркеров цитолиза гепатоцитов (АЛТ, АСТ, ЛДГ). На втором месте – соединение 27Д. Среди исследованных соединений только соединение 36Д не оказало статистически значимого эффекта ни на один из исследованных показателей.

По терапевтической схеме, у животных сначала моделировали токсическое поражение печени подкожным введением четыреххлористого углерода. После этого в течение 5 дней вводили соединение 29 Д, тиотриазолин и ксимедон в дозах 20 мг/кг. В контрольной группе, у которой было аналогичным образом смоделировано токсическое поражение печени, но которой не вводили препаратов для лечения, на 6-й день после токсического поражения наблюдали повышенный уровень АЛТ, пониженный уровень коэффициента де Ритиса и уровня белка. На гистологических срезах печени наблюдали очаги некрозов гепатоцитов и нарушение структурной организации органа. Под действием исследуемых препаратов наблюдали улучшение биохимических показателей и структурно-морфологической организации печени. Выявлено преимущество соединения 29Д по сравнению с тиотриазолином и ксимедоном, поскольку увеличилась выживаемость животных с токсическим гепатитом до 100%, и вещество оказалось эффективным по отношению к 3 из 4-х исследованных гематологических параметров (АЛТ, АСТ, общий белок), в отличие от препаратов сравнения.

КОНЬЮГАТЫ ПОЛИМЕРНЫХ ЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ PLGA С АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИНОМ ДЛЯ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Никольская Е.Д.^{1,2}, Жунина О.А.², Яббаров Н.Г.², Терещенко О.Г.², Попов Р.Ю.¹, Швец В.И.¹, Северин Е.С.²

¹ ФГБОУ ВО Московский технологический университет, Институт тонких химических технологий, Москва; ² ОАО Всероссийский научный центр молекулярной диагностики и лечения, Москва, Россия
elenanikolskaja@gmail.com

В настоящее время применяемые препараты в химиотерапии не дают должного эффекта. Это связано с их низкой избирательностью действия и биодоступностью, а также высокой общей токсичностью, что вызывает

множество побочных эффектов. Одним из способов увеличения эффективности используемых препаратов является создание полимерных частиц (ПЧ) из сополимера молочной и гликолевой кислот (PLGA) за счет снижения кратности приема, что обусловлено пролонгированным действием полимерных частиц, а также адресной системы доставки антибиотика на их основе.

Антибиотики актиномицинового ряда в течение нескольких десятилетий используют для лечения инфекционных и опухолевых заболеваний. Такое применение основано на способности актиномицинов формировать устойчивый специфический комплекс с ДНК и ингибировать этим РНК-полимеразную реакцию, в результате чего, подавляется синтез белка и клеточное деление. Адресная доставка осуществляется за счет использования онкофетального белка – альфа-фетопротейна (АФП) в качестве векторной молекулы, рецепторы к которому содержатся на многих опухолевых клетках, за счет чего возможен рецептор опосредованный механизм эндоцитоза конъюгата на его основе.

Были получены полимерные частицы, содержащие цитостатические препараты актиномицинового ряда, обладающие необходимыми физико-химическими параметрами, такими как размер – 120 нм, сорбция (65%) и профиль релиза, которые в дальнейшем были использованы для получения конъюгата с векторным белком – рекомбинантным АФП. В результате экспериментов *in vitro*, было показано увеличение цитотоксического эффекта (до 3 раз) конъюгата ПЧ-АФП в отношении опухолевых клеток линий HeLa, SKOV3 и MG-63, в сравнении с частицами и субстанцией. Было отмечено отсутствие токсичности в отношении нормальных клеток. Эксперименты на животных продемонстрировали значительное увеличение противоопухолевой эффективности конъюгата на моделях лимфолейкоза мыши линии P388 (увеличение продолжительности жизни до 154%) и карциномы Эрлиха (торможение роста опухолей до 100% для дозы 200 мкг/кг) при снижении общей токсичности, в сравнении с продажным препаратом.

РАЗРАБОТКА МОДЕЛИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ НЕЙТРОФИЛЬНОГО ФЕНОТИПА У МЫШЕЙ

Никольский А.А.¹, Сундукова М.С.², Шиловский И.П.²

¹ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина; ²ФГБУ "ГНЦ Институт иммунологии" ФМБА, Москва, России
nikolskii.aleksandr@yandex.ru

Введение: Бронхиальная астма (БА) - это хроническое воспалительное заболевание дыхательных путей, проявляющееся приступами одышки, которые зачастую сопровождаются свистом в груди, кашлем и могут перерасти в приступы удушья. При нейтрофильном фенотипе БА происходит инфильтрация провоспалительных клеток - нейтрофилов в очаг воспаления – лёгкие. Пациенты с нейтрофильной БА резистентны к терапии кортикостероидами, поэтому актуальна задача создания и испытания новых лекарственных препаратов для её лечения. Целью данного исследования была разработка модели БА нейтрофильного фенотипа у мышей.

Материалы и методы: Группу 1 и 2 мышей BALB/c в дни 0, 14 и 28 иммунизировали 20 мкг овальбумина (OVA), эмульгированного в 2 мг полного адьюванта Фрейнда (ПАФ), или адьюванта Al(OH)₃. В дни 42-44 проводили интраназальные введения 10% OVA по 50 мкл. Группа 3 состояла из интактных животных. На 45 день измерялись уровни IgE, IgG1, IgG2a антител методом ИФА. Гиперреактивность дыхательных путей (ГРБ) измерялась с помощью неинвазивной плетизмографии. На 46 день был собран бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ).

Результаты: У мышей 1 и 2 группы уровни IgE, IgG1, IgG2a заметно возросли по сравнению с интактной группой. ГРБ у животных групп 1 и 2 была в 1,5 раза выше, чем в контрольной группе - 3. Изучение клеточного состава БАЛ у мышей группы 1 показало увеличение количества нейтрофилов в 1,3 раза, и снижение количества эозинофилов в 2,4 раза по сравнению с группой 2.

Заключение: Была разработана экспериментальная мышинная модель БА с преимущественной инфильтрацией нейтрофилов в лёгкие. Созданная модель может быть применена для изучения эффективности новых лекарственных средств для лечения нейтрофильного фенотипа БА.

КАРИОПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В БУККАЛЬНОМ ЭПИТЕЛИИ У РАБОТНИЦ ХЛОПКОВЫХ ПЛАНТАЦИЙ НА ЮГЕ УЗБЕКИСТАНА, ПРОФЕССИОНАЛЬНО КОНТАКТИРУЮЩИХ С ИНСЕКТИЦИДАМИ И ГЕРБИЦИДАМИ

Нусратуллаев Г.М.¹

¹ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Томск, Россия
golibjonn@yandex.ru

Среди пестицидов, используемых на плантациях хлопка наиболее генотоксичными являются гербициды и инсектициды. Гербициды используются с целью контроля роста сорняков, а инсектициды направлены на

уничтожение паразитических членистоногих поражающих растения. Согласно Rathore et al. (2012) многие из этих препаратов недостаточно исследованы, и они могут представлять проблему для здоровья человека. Мутагенные эффекты гербицидов и инсектицидов могут возникнуть в результате прямого и опосредованного действия этих соединений на молекулы ДНК, некоторые из них способны также влиять на процессы деления клеток и инициировать неверное расхождение хромосом в митозе и мейозе.

Настоящее исследование проводилось с целью оценки перспектив использования метода регистрации ядерных аномалий в клетках эпителия слизистой оболочки полости рта для экспресс-диагностики мутагенного воздействия гербицидов и инсектицидов на человека.

Полученные нами данные свидетельствуют, что практически по всем показателям у женщин-хлопкоробов наблюдается значимое возрастание числа эпителиоцитов с кариопатологическими изменениями. Число клеток с протрузиями и микроядрами возрастает в 1,5 раза, двуядерных клеток – 2,0, с кариолизисом – 1,9 и кариопикнозом 1,2 раза. Апоптотический процесс распада хроматина ядра может выглядеть как кариолизис. Это заключительный этап гибели клетки, часто образующийся при формировании многогруппового аномального митоза. Возрастание числа клеток с кариопикнозом у рабочих может, по-видимому, свидетельствовать об увеличении процессов гетерохроматизации в экспрессируемых участках генома эпителиоцитов. Двуядерность образуется в тех эпителиоцитах, в которых после митоза не происходит цитотомии – образования перегородки между дочерними ядрами. В дальнейших событиях это приведет к формированию полиплоидного кариотипа. Особое внимание привлекают данные с протрузиями и микроядрами. Этот тип патологии образуется в результате хромосомных aberrаций, которые отстают при делении клетки и формируют отдельное микроядро. К таким же последствиям приводит поражение аппарата деления клетки с отставанием отдельных хромосом.

Таким образом, результаты настоящей работы позволяют сделать вывод о наличии существенных цитогенетических изменений в эпителиоцитах буккального эпителия у работниц хлопковых плантаций, контактирующих с опасными для здоровья гербицидами и инсектицидами. Предлагаемый тест позволяет проводить скрининг цитогенетических изменений в ядерном аппарате человека, контактирующего с потенциальными мутагенными веществами.

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ СОЛЮБИЛИЗАЦИИ И РЕФОЛДИНГА ОВЕЧЬЕГО РЕКОМБИНАНТНОГО ИНТЕРФЕРОНА- α

Острикова К.В.¹, Потапович М. И.¹, Прокулевич В. А.¹

¹Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь
kristiost@mail.ru

Инфекционные заболевания овец вирусной этиологии широко распространены и наносят большой экономический ущерб. Наиболее серьезные из них: пневмония, анаплазмоз, ящур. На сегодняшний день не существует эффективных противовирусных препаратов для овец. Одним из решений данной проблемы может стать использование видоспецифичных рекомбинантных интерферонов для лечения и профилактики вирусных заболеваний овец.

Интерфероны (ИФН) – семейство цитокинов, многофункциональных секретируемых сигнальных белков. Эти белки индуцируют противовирусную защиту, активируя экспрессию генов, продукты которых ингибируют вирусную репликацию. По этой причине ИФН представляют большой интерес для ветеринарии в качестве средств профилактики и лечения вирусных заболеваний и в качестве иммуномодуляторов.

Ранее был получен высокоэффективный штамм-продуцент овечьего ИФН- α на основе бактерий *E. coli*. Установлено, что рекомбинантный белок овечьего ИФН- α в клетках *E. coli* накапливается в виде телец включения (ТВ), которые представляют собой агрегаты, содержащие рекомбинантный и ряд бактериальных белков. В данных образованиях ИФН находится в денатурированном неактивном состоянии. Для получения его в активной форме в препаративных количествах были подобраны условия растворения ТВ и восстановления нативной конформации целевого продукта путём рефолдинга методом разведения.

В ходе оптимизации процесса солюбилизации ТВ исследовались денатурирующие растворы с различным pH и содержанием хаотропного агента (гуанидингидрохлорид в концентрации от 3 до 7 моль/л). Изoeлектрическая точка целевого белка равна 9,5 и для растворения ТВ использовались буферные растворы со значениями pH 7,5, 8,5, 9,5 и 10,5. После растворения образцов ТВ в соответствующих буферах, растворы осветляли центрифугированием. При электрофоретическом анализе осадков и супернатантов обнаружилось, что наибольшее количество ИФН- α переходит в растворенную форму в буфере, содержащем 6М гуанидингидрохлорида, 50мМ Трис-HCl pH 7,5, 20мМ NaCl.

Оптимизацию условий рефолдинга овечьего ИФН- α проводили в 2 этапа. Первый этап включал подбор буфера с наименьшей степенью агрегации целевого белка. На втором – определяли влияние добавок (PEG, CaCl₂, MgCl₂, NaCl, Tween-20, сахараза) на повышение выхода растворимого белка. Результаты показали, что

для проведения рефолдинга овечьего ИФН- α лучше всего использовать буфер с pH 7,5, содержащий 0,8М L-аргинин и 0,12М сахарозу.

Таким образом, в ходе работы подобраны условия солюбилизации и рефолдинга овечьего ИФН- α , обеспечивающие выход целевого продукта на уровне 85-90% от его содержания в тельцах включения.

ПОЛУЧЕНИЕ ХИМЕРНЫХ БЛАСТОЦИСТ ПРИ ПОМОЩИ ОПТИКО-ЛАЗЕРНОГО МАНИПУЛЯТОРА

Осыченко А.А.¹, Залесский А.Д.¹, Рябова А.В.², Кривохарченко А.С.¹, Надточенко В.А.¹

¹ФГБУН Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН; ²ФГБУН Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН

alina.chemphys@gmail.com

Создание химерных животных и чистых линий трансгенных животных - актуальное направление для медицины и биомедицины, т.к. эти животные используются для моделирования заболеваний, поиска и разработки лекарственных препаратов.

Получение химерных бластоцист при помощи оптико-лазерного манипулятора является крайне неинвазивным методом, поскольку не требует механического прокалывания эмбриона. Кроме того, этот метод позволяет работать на ранних стадиях доимплантационного развития, что весьма затруднительно при работе с микроманипулятором.

Химерные бластоцисты получали путем внесения эмбриональных стволовых клеток (ЭСК), экспрессирующих GFP, в перивителлиновое пространство эмбрионов мыши на ранних стадиях: две клетки, четыре клетки, 6-8 клеток, компактная морула. Перфорацию в блестящей оболочке выполняли при помощи диодного лазера (1040 нм). Клетки захватывали и перемещали, используя лазерный "пинцет" - непрерывный лазер, работающий на длине волны 780 нм. Эмбрионы культивировали до стадии бластоцисты и затем производили визуализацию на конфокальном микроскопе с целью обнаружения флуоресценции GFP и определения ее локализации.

Было показано, что получить химерные бластоцисты реально на всех перечисленных стадиях, однако стадия 6-8 клеток была определена как самая подходящая (наивысший % химерных бластоцист). При внесении ЭСК в перивителлиновое пространство компактной морулы так же получались химерные бластоцисты: светящиеся клетки были обнаружены во внутренней клеточной массе (ВКМ). Любопытно, что ЭСК встраивались не только в ВКМ, но и в трофобластическую оболочку (ТЭ) при работе на разных стадиях

Работа выполнена при поддержке Гранта РФФИ № 16-53-52046 МНТ_a.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИМИДИНА – СОКРИСТАЛЛОВ КСИМЕДОНА С *p*-АМИНОБЕНЗОЙНОЙ, АСКОРБИНОВОЙ И ЯНТАРНОЙ КИСЛОТОЙ

Парфенов А.А., Выштакалюк А.Б., Гумарова Л.Ф., Назаров Н.Г., Кондрашина Д.А., Зобов В.В., Семенов В.Э., Галяметдинова И.В., Резник В.С.

ФГБУН Институт органической и физической химии им. А. Е. Арбузова КазНЦ РАН, Казань, Россия
aimt66@gmail.com

Как известно, именно печень получает наибольшую нагрузку при действии различных токсикантов, и зачастую происходит повреждение печеночной ткани. В настоящее время существует достаточно большое количество лекарственных препаратов, направленных на регенерацию ткани печени, но все представленные препараты импортного происхождения. В ИОФХ им. Арбузова были получены следующие соединения – сокристаллы Ксимедона и биогенных кислот: с *p*-аминобензойной кислотой (**34D**), с аскорбиновой кислотой (**29D**), с янтарной кислотой (**27D**).

Исследование гепатопротекторной активности новых производных пириимидина и выявление зависимости доза-эффект соединений при терапевтической схеме введения.

Первую серию экспериментов (**27D** в дозах 0,33 мг/кг и 0,8 мг/кг; **34D** в дозах 0,7 мг/кг и 1,7 мг/кг, составляющих 1/2500 и 1/1000 от ЛД₅₀) проводили на 12-15-недельных беспородных белых крысах (самцах). Вторую серию экспериментов (**29D** в дозах 0,11 мг/кг, 0,22 мг/кг, 0,54 мг/кг и 2,2 мг/кг, составляющих 1/50000, 1/25000, 1/10000 и 1/2500 от ЛД₅₀) проводили на 8-10-недельных крысах линии Wistar. В качестве препарата сравнения был выбран Тиотриазолин (в дозе 2,4 мг/кг), так как действующее вещество имеет наиболее сходное с Ксимедоном строение молекулы и фармакологические свойства, т.к. используется в качестве стимулятора регенерации. Индуцирование токсического гепатита проводили четыреххлористым углеродом (ЧХУ) в дозе 1,5 мл/кг 35% раствора в течение 5 дней.

Забор материала (печень) производили на 1, 3, 7, 11 и 21 дни после последнего введения ЧХУ. Гистологическую проводку делали в гистопроцессоре Sacuga Tissue Tec Vip.5, срезы толщиной 3-5 мкм окрашивали гематоксилин-эозином и суданом.

По результатам исследования выявлен лидирующий препарат **29D**. Выявлена следующая зависимость: меньшие дозы **29D** (0,22 мг/кг) проявили максимальный терапевтический эффект на ранних сроках (3 дня), а большие дозы (0,54 мг/кг и 2,2 мг/кг) проявили пролонгированное действие, их максимальный терапевтический эффект выявлен на 7 день. На 11 день некротических и стеатозных повреждений не выявлено.

Препарат **34D** оказывает некоторое положительное влияние при наименьшей дозе (0,7 мг/кг) на 3 день. Увеличение дозы до 1,7 мг/кг способствует усилению повреждений. На 11 день отмечено увеличение повреждений по сравнению с 3 и 7 днем.

Препарат **27D** в дозе 0,8 мг/кг на 3 день оказал положительное влияние, тогда как доза 0,33 мг/кг способствовала уменьшению площади повреждений лишь на 7 день. На 11 день отмечено увеличение повреждений.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ грант № 14-50-00014.

АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫХ МИКРОКАПСУЛ НА ПРОЛИФЕРАТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК (МСК) ЧЕЛОВЕКА IN VITRO

Попова Н. Р.¹, Попов А. Л.¹, Иванов В. К.²

¹ ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, ² ФГБУН Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН, Москва, Россия
toshka_bf@mail.ru

Одним из наиболее перспективных наноматериалов для биомедицинского применения является диоксид церия, который обладает уникальными редокс-свойствами, обеспечивающие ему высокую степень биологической активности. Ультрамалый размер наночастиц и высокая реакционная способность их поверхности ограничивает возможность их контролируемой и эффективной доставки в ткани и органы. Полиэлектролитные микрокапсулы рассматриваются как одна из наиболее эффективных форм доставки лекарственных веществ в клетку. Возможность дополнительной функционализации микрокапсулы позволяет сделать ее мультифункциональной, обеспечив ее визуализацию и дистанционной активацию. При этом использование в схеме синтеза различных типов полиэлектролитов, новых функциональных наноматериалов и инкапсулируемых веществ, требует проведения комплексного исследования их влияния на метаболическую активность, пролиферативный потенциал и жизнеспособность клетки в целом. В рамках данной работы было исследовано влияние полиэлектролитных микрокапсул, модифицированных наночастицами диоксида церия, на пролиферативный потенциал и жизнеспособность культуры МСК человека, выделенных из пульпы зуба, через 48 часов сокультивирования. Было показано, что модифицированные микрокапсулы проникают в клетки и локализуются в цитоплазме. Стоит отметить, что только небольшая часть (20-30%) от общего количества внесенных в культуру клеток микрокапсул проникает непосредственно в цитоплазму. Анализ дегидрогеназной и пролиферативной активности клеток показал достоверное их снижение только при максимальной концентрации микрокапсул (100 штук на клетку). Концентрации 1, 10 и 50 микрокапсул на клетку не вызывали достоверного изменения в уровне пролиферативной и дегидрогеназной активности, а также соотношении количества мертвых и живых клеток в культуре МСК человека. Полученные данные подтверждают возможность проникновения модифицированных наночастицами диоксида церия полиэлектролитных микрокапсул в МСК человека и высокую степень их биосовместимости.

Работа выполнена при поддержке РФФИ и Правительства г. Москвы в рамках проекта №15-34-70019 и проекта РФФИ № 16-34-60248.

ВЛИЯНИЕ ТЕРАПИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ НА ЛПС-ИНДУЦИРОВАННЫЕ ЦИТОКИНОВЫЕ ОТВЕТЫ КЛЕТОК КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ДАННЫМ ЗАБОЛЕВАНИЕМ

Радзюкевич Я.В.¹, Серов Д.А.¹, Косякова Н.И.², Прохоренко И.Р.¹

¹ ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН; ² ФГБУЗ Больница Пушкинского Научного Центра РАН, Пушкино, Россия
sibiryak93@mail.ru

Бронхиальная астма (БА) — одна из распространенных причин хронического системного воспаления, которое может запускать избыточную продукцию противовоспалительных цитокинов (sTNFRII, IL-1Ra), снижать активность иммунных клеток в отношении инфекций. В настоящей работе исследовалось влияние терапии БА не только на клинические симптомы заболевания, но и на способность иммунной системы пациента

адекватно отвечать на возможные инфекции. Одним из наиболее сильных провоспалительных агентов являются бактериальные липополисахариды (ЛПС), активирующие, в частности, секрецию иммунными клетками провоспалительных цитокинов TNF- α , IL-6, IL-1 β , IFN- γ .

Исследование проводили на цельной крови пациентов с дебютом atopической бронхиальной астмы - АБА (n=10). Забор крови для исследования осуществляли в клинических условиях до начала терапии и через 2 недели после начала терапии ингаляционным глюкокортикостероидом (флутиказон пропионатом) или монтелукастом per os. В стерильных условиях кровь инкубировали с 100 нг/мл ЛПС *E. coli* в течение 6 ч для определения секреции TNF- α , IL-6 и 24 ч для определения концентраций IL-1 β , IFN- β . Параллельно контрольные пробы инкубировали без добавления ЛПС. Дополнительно были оценены ответы крови условно здоровых добровольцев (n=10). Все пробы инкубировали при 37°C и в атмосфере 5% CO₂. Концентрации цитокинов измеряли методом ИФА с использованием наборов реагентов (ООО «Цитокин», СПб) по инструкции, рекомендованной производителем.

Концентрация TNF- α , секретированного клетками цельной крови условно здоровых добровольцев в ответ на ЛПС *E. coli* (1250 $\pm$ 200 пг/мл), достоверно выше концентрации, секретированной клетками крови пациентов с АБА в ответ на эндотоксин (120 $\pm$ 27 пг/мл), что подтверждает снижение активности врожденного иммунитета на фоне системного воспаления. После терапии у пациентов наблюдалась тенденция к снижению концентраций TNF- α , IL-6 и IL-1 β в контрольных пробах. Это косвенно указывает на ослабление системного воспаления. Двухнедельная терапия вызвала увеличение концентрации TNF- α , IL-6, IL-1 β и IFN- γ , секретированных в ответ на ЛПС. Цитокины TNF- α , IL-6 и IL-1 β играют ключевую роль в запуске провоспалительных каскадов врожденного иммунитета, IFN- γ является ключевым активатором T_{H1}-зависимого клеточного иммунного ответа. Терапия БА вызвала двунаправленный эффект: снижала общее воспаление, выраженное в снижении фоновой секреции TNF- α , IL-6 и IL-1 β клетками крови пациентов, и усиливала реактивность клеток врожденного и приобретенного иммунитета в отношении эндотоксинов.

РОЛЬ HIF1A-ОПОСРЕДОВАННОЙ АКТИВАЦИИ ПЕНТОЗОФОСФАТНОГО ПУТИ В КОРРЕКЦИИ ПОСТГИПОКСИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС.

Сариева К. В.^{1,2}, Зорина И. И.^{1,2}, Ветровой О. В.²

¹ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, ²ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург, Россия
sarievaksenia@gmail.com

В настоящее время признано, что большинство неврологических заболеваний сопровождается гипоксией мозга, что делает изучение ее механизмов особенно актуальным. Одним из основных аспектов постгипоксических нарушений является окислительный стресс, выражающийся в том числе и в изменении антиоксидантной активности клеток. Необходимым условием протекания антиоксидантных процессов в мозге следует считать наличие восстановленного НАДФ, поступающего из реакций пентозофосфатного пути (ПФП) метаболизма глюкозы. В свою очередь ген ключевого фермента ПФП глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ) находится под влиянием транскрипционного фактора (ТФ) HIF1A. HIF1A является одним из ключевых ТФ, обеспечивающих адаптацию к гипоксическим условиям. В связи с этим целью работы было изучить роль HIF1A в активации ПФП и сопряженные с ним антиоксидантные процессы в условиях тяжелой гипобарической гипоксии (ТГ) и гипобарического посткондиционирования (ПостК), метода коррекции последствий тяжелых форм гипоксии. В рамках исследования проведены иммуногистохимический анализ содержания HIF1a и продукта его гена-мишени эритропоэтина, оценка активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и содержания восстановленного НАДФ, а также антиоксидантной активности клеток на основе метода ORAC, измерено количество общего и восстановленного глутатиона, а также восстановленных тио-групп цистеина. Для оценки степени повреждения клеток проведен анализ фрагментации ДНК, измерено количество Шиффовых оснований и ТБК-активных продуктов. Обнаружена корреляция между уровнем экспрессии HIF1a и активностью Г6ФДГ, а также с другими показателями. В частности, наблюдается постепенное уменьшение активности Г6ФДГ и соответствующее падение уровня НАДФН при ТГ и возвращение этих показателей к контрольному уровню при ПостК. Также наблюдается падение антиоксидантной активности клеток, уровня общего глутатиона и количества восстановленных тио-групп после ТГ и их нормализация в результате ПостК.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (Грант № 16-34-00027). Часть исследований проведена с использованием оборудования ресурсного центра «Обсерватория экологической безопасности» Научного парка СПбГУ.

АССОЦИИИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВОЙ СИСТЕМЫ С ИЗМЕНЕНИЕМ УРОВНЯ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ И МОЧЕВИНЫ В КРОВИ У БОЛЬНЫХ С НОЗОКОМИАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ

Смирнова С.В.¹, Смелая Т.В.², Белопольская О.Б., Сальникова Л.Е.¹

¹ФГБУН Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН; ²ФГБУ Научно исследовательский институт общей реаниматологии РАМН, Москва, Россия

s.v.smirnova.genet@gmail.com

Исследование генетических особенностей течения нозокомиальной пневмонии (НП) и ее осложнений часто затрудняется в связи с высокой клинико-этиологической гетерогенностью исследуемых групп. В данном случае применим подход, позволяющий проследить связь генотипа и клинического фенотипа через связующее звено эндотип, где под эндотипом понимаются различные клинико-лабораторные показатели, динамика которых показывает состояние больного, и которые однозначно связаны с патогенезом заболевания. Этот подход позволяет дополнительно стратифицировать выборку, делая ее более однородной.

Целью работы является изучение динамики показателей лактатдегидрогеназы и мочевины в ассоциации с полиморфными вариантами генов ренин-ангиотензиновой системы *ACE*, *AGTR1* и *AGT* у больных с НП.

В исследовании участвовало 570 пациентов, госпитализированных в отделения реанимации и интенсивной терапии с разнообразными патологиями (травмы, ранения, обширные хирургические вмешательства). Из них у 354 пациентов впоследствии развилась НП, 216 человек, без НП по данным анамнеза, составили контрольную выборку. Для пациентов собирались данные изменения биохимических показателей крови лактатдегидрогеназы и мочевины на 1, 3, 5, 7 и 14-ые сутки с момента госпитализации. Генотипирование исследуемой группы проводилось методом тетрапраймерной аллель-специфической ПЦР по генам ренин-ангиотензиновой системы: *ACE* (rs4340), *AGTR1* (rs5186) и *AGT* (rs699). При статистической обработке результатов генотипирования учитывались пол и возраст пациентов.

В рамках проводимого исследования получены ассоциации изменения динамики биохимических показателей крови с полиморфными вариантами генов ренин-ангиотензиновой системы на 1, 3, 5 и 7-ые сутки после госпитализации. При наличии инсерции в гене *ACE* (генотипы ins/del, ins/ins) наблюдалось повышение уровня лактатдегидрогеназы $P=0,0027$ и мочевины $P=0,026$ в крови пациентов с НП. Протективный эффект к повышению лактатдегидрогеназы в изучаемой группе продемонстрировали полиморфный вариант гена *AGTR1* rs5186-С $P=0,0066$ и гомозиготный генотип С/С по гену *AGT* rs699 $P=0,029$. В исследуемой выборке НП развивается реже у реаниматологических больных с двойной инсерцией (генотип ins/ins) в гене *ACE* $P=0,021$.

Результаты исследования, полученные путем совместного изучения генетических факторов и клинико-лабораторных показателей, измеряемых в динамике, могут служить для дальнейшего изучения этиологии, патогенеза и сигнальных путей, ассоциированных с развитием рассматриваемого заболевания.

СОЗДАНИЕ СУБМИКРОННЫХ ЧАСТИЦ PLGA ДЛЯ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ СОВМЕСТНОЙ ДОСТАВКИ АБИРАТЕРОНА АЦЕТАТА И ДОЦЕТАКСЕЛА В ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ

Сокол М.Б.¹, Фаустова М.Р.¹, Никольская Е.Д.², Жунина О.А.², Северин Е.С.²

¹ФГБОУ ВО Московский технологический университет, Институт тонких химических технологий, Москва; ²ОАО Всероссийский научный центр молекулярной диагностики и лечения, Москва, Россия

marbarisna@ya.ru

В настоящее время терапия кастрационно - резистентного рака предстательной железы (КРПЖ) является низкоэффективной. В связи с чем, ведутся разработки инновационного способа лечения известными препаратами, либо создаются новые лекарственные формы.

Комбинированная химиотерапия, а также создание лекарственных форм для целевой доставки химиопрепаратов на основе PLGA – области, обладающие большим потенциалом для лечения онкологических заболеваний. Комбинированная терапия обеспечивает синергизм нескольких противоопухолевых агентов и подавляет лекарственную устойчивость через различные механизмы действия. Полимерные частицы, в свою очередь, увеличивают терапевтический эффект и сокращают побочное действие.

Доцетаксел (Dtx) – противоопухолевый агент, стабилизирующий сборку микротрубочек и одновременно блокирующий их деполимеризацию. Абиратерона ацетат (АА) – селективный ингибитор биосинтеза андрогенов, необратимо блокирующий фермент CYP17, который играет важную роль в синтезе тестостерона и эстрогена. АА был одобрен в США, Канаде и Европе для лечения КРПЖ у пациентов, которые уже получали терапию с Dtx. Благодаря различным механизмам действия данных препаратов при комбинированной терапии можно добиться сочетания гормональной и химиотерапии, что может дать многообещающие результаты в терапии КРПЖ.

Методом одинарного эмульгирования были получены полимерные частицы, содержащие Dtx и AA, на основе сополимера молочной и гликолевой кислот (PLGA) со средним размером 200-250 нм. В состав полимерной композиции входили PLGA (50:50) с концевой карбоксильной группой, стабилизатор эмульсии (поливиниловый спирт), лекарственные средства (Dtx и AA в соотношении 1:3) и криопротектор (Д-маннитол). Общее содержание AA в полимерных частицах составило 12 % масс., Dtx 3,6 % масс. Размер, форма и морфология частиц были изучены с помощью методов атомно-силовой микроскопии (АСМ) и просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ).

Полученные полимерные частицы, содержащие AA и Dtx, показали наличие специфической активности в отношении клеток линий MCF-7 и SKOV3 на уровне, схожем с совместным использованием субстанций, что дает основания для дальнейшего изучения данных частиц на андроген-зависимых линиях клеток, а в дальнейшем и на моделях *in vivo*.

Таким образом, разработанный метод совместного включения AA и Dtx в полимерные частицы на основе PLGA позволяет получить частицы, обладающие пролонгированным высвобождением AA и Dtx и улучшенной биодоступностью данных препаратов, необходимой для дальнейших испытаний *in vivo*.

АНТИДИАБЕТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ПЕНТАМИНОКИСЛОТНЫХ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФУЛЛЕРЕНА C₆₀

Солдатова Ю.В.¹, Жиленков А.В.¹, Файнгольд И.И.¹, Арешидзе Д.А.^{1,2}, Трошин П.А.¹, Семин И.А.², Котельникова Р.А.¹

¹ ФГБУН Институт Проблем Химической Физики РАН, г. Черноголовка; ² ГОУ ВПО Московский государственный областной университет, Москва, Россия
soldatovayv@gmail.com

Согласно определению ВОЗ, сахарный диабет (СД) представляет собой группу метаболических заболеваний, характеризующихся гипергликемией, которая является результатом дефектов секреции инсулина, действия инсулина или обоих этих факторов. СД называют болезнью цивилизации. В настоящее время СД занимает третье место среди причин смерти после сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний. Известно, что среди больных сахарным диабетом более 80 % - это больные инсулинонезависимым сахарным диабетом 2 типа (СД2). По данным ВОЗ, развитие хронических диабетических поражений - это главная причина инвалидизации и смертности больных СД2. Важной задачей современной медицинской химии и фармакологии является поиск и создание новых антидиабетических средств, а также медикаментов для профилактики и лечения диабетической ангиопатии, нефропатии и полинейропатии. В работе изучалось влияние водорастворимых пентаминокислотных производных фуллеренов на молекулярные мишени СД2: альдозоредуктазу и сорбитолдегидрогеназу, а также их антирадикальные свойства и влияние на содержание глюкозы в крови крыс с экспериментальным СД.

По результатам исследований была выбрана гибридная фуллереновая структура C₆₀-L-Dopa, в которой к сфероиду фуллерена C₆₀ присоединялось соединение, используемое в клинике в качестве препарата для лечения нейродегенеративных заболеваний - дигидроксифенилаланин (левадопа). Установлено, что это соединение транспортируется в гидрофобные сайты фосфолипидных мембран, практически нетоксично, обладает выраженной антирадикальной активностью и является конкурентным ингибитором ферментов альдозоредуктазы и сорбитолдегидрогеназы с константами ингибирования $K_i = 2,46 \cdot 10^{-5}$ М и $K_i = 2,92 \cdot 10^{-5}$ М, соответственно. В присутствии C₆₀-L-Dopa у крыс с индуцированным СД2 с устойчивой гипергликемией на 14-е сутки снижается уровень глюкозы в крови до уровня интактных крыс. При исследовании метформина – препарата, используемого в клинике при терапии СД2, в отличие от C₆₀-L-Dopa, наблюдали низкую антирадикальную активность и отсутствие влияния его на альдозоредуктазу, что может объяснять отсутствие лекарственного действия метформина на пациентов, у которых, вероятно, преобладает полиольный путь развития диабета.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 16-34-01067 мол а), а также Программы фундаментальных исследований ОХНМ РАН «Биомолекулярная и медицинская химия». Работа выполнена с использованием оборудования НОЦ МГОУ г.Черноголовка.

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ И ТОКСИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА 1,3-БИС(АЛКИЛ)-6-МЕТИЛУРАЦИЛОВ, СОДЕРЖАЩИХ 1,2,4-ТРИАЗОЛИЕВЫЕ ФРАГМЕНТЫ В АЛКИЛЬНЫХ ЦЕПОЧКАХ

Стробыкина А.С.¹, Семенов В.Э.¹, Крылова Е.С.¹, Кулик Н.В.¹, Волошина А. Д.¹

¹ФГБУН Институт органической и физической химии им. А. Е. Арбузова КазНЦ РАН, Казань, Россия
anastasiastrobkykina@yandex.ru

В настоящее время проблема резистентности приобрела глобальный масштаб. Причиной вспышек внутрибольничных инфекций и их распространение в быту является не только микробная загрязненность окружающей среды, но и приобретенная микроорганизмами устойчивость к применяемым препаратам. Радикальной мерой в борьбе с резистентностью является своевременное чередование лекарственных средств, часто посредством перехода к новым препаратам или их комбинации с синергистами. В связи с этим перспективными подходами в преодолении устойчивости микроорганизмов к лекарствам являются синтез новых соединений, относящихся к известным классам антибиотиков, а также поиск ранее не известных групп антимикробных препаратов.

Известно, что 1,3-Бис(алкил)-6-метилурацилы, содержащие 1,2,3- и 1,2,4-триазолиевые фрагменты обладают широким спектром антимикробной активности, противоопухолевым действием и проявляют умеренную токсичность в опытах на лабораторных мышах.

Нашей группой исследованы антимикробная и гемолитическая активности новых 1,3-Бис(алкил)-6-метилурацилов, содержащих 1,2,4-триазолиевые фрагменты в алкильных цепочках. Бактериостатические и фунгистатические свойства изучали методом серийных разведений в жидких питательных средах, используя тест-штаммы микроорганизмов. Бактерицидную и фунгицидную активности определяли методом, описанным нами в статье. Изучение цитотоксичности проводили с использованием многофункциональной системы Cytell Cell Imaging по стандартным протоколам.

Минимальные ингибирующие концентрации соединений лидеров по отношению к грамположительным бактериям составляют 0.4-4.0 мг/л, в отношении грамотрицательных бактерии - 8.0-31.3 мг/л. Противогрибковая активность исследуемых препаратов проявляется в концентрациях 0.8-4.0 мг/л.

В ходе экспериментов было выявлено, что основными структурными факторами, определяющими антимикробную активность, являются количество метиленовых групп в спейсерах, а также природа алкильных радикалов при триазолиевых фрагментах.

1,3-Бис(алкил)-6-метилурацилы, содержащие 1,2,4-триазолиевые фрагменты в алкильных цепочках, проявляют низкую токсичность на эритроцитах крови, а также низкую цитотоксичность на клеточных линиях.

Исходя из полученных данных, исследованные соединения могут рассматриваться как потенциальные антимикробные агенты и привлекаться в качестве основных компонентов для создания лекарственных препаратов.

КАЛЬЦИЙ-СВЯЗЫВАЮЩИЕ БЕЛКИ ЗАЩИЩАЮТ ГАМКЕРГИЧЕСКИЕ НЕЙРОНЫ ГИППОКАМПА ОТ ПОВРЕЖДЕНИЯ ПРИ ГИПОКСИИ IN VITRO.

Туровская М.В.¹, Туровский Е.А.¹

¹ ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия
m_turovskaya@mail.ru

В состоянии покоя концентрация кальция в цитоплазме ($[Ca^{2+}]_i$) клеток находится на уровне 10^{-6} – 10^{-7} М. Поддержание этой концентрации осуществляется за счет различных механизмов транспорта, компартментализации, Ca^{2+} -насосов и обменников, а также кальций-связывающих белков (СаВР). К семейству основных СаВР, экспрессируемых в ГАМКергических нейронах гиппокампа относятся – кальбиндин (СВ), кальретинин (СР) и парвальбумин (РВ). Все они являются белками ЕF-руки и имеют различную аффинность к Ca^{2+} в диапазоне концентраций от нМ до мкМ. Ранее нами было показано, что повторяющиеся кратковременные эпизоды гипоксии вызывают появление гипоксического preconditionирования в глутаматергических нейронах, но, напротив, в ГАМКергических нейронах данный феномен не реализуется. В ГАМКергических нейронах гиппокампа наблюдаются токсические эффекты, которые выражены в увеличении амплитуды кальциевого ответа (АКО) на активацию ионотропных глутаматных рецепторов после каждого эпизода кратковременной гипоксии. Кроме того, появляющиеся признаки постгипоксической гипервозбудимости (которые также наблюдаются в глутаматергических нейронах) вызывают в некоторых ГАМКергических нейронах необратимое увеличение $[Ca^{2+}]_i$ и как результат – гибель по типу некроза. Однако, мы наблюдали быструю гибель не всех ГАМКергических нейронов, а только некоторой их популяции. Основываясь на свойствах СаВР, мы решили проверить гипотезу об их функции в качестве эндогенного защитного механизма ГАМКергических нейронов. На основе разработанной нами методики прижизненной

идентификации популяции ГАМКергических нейронов и сопоставления их Ca^{2+} -сигналов с результатами иммуногистохимии, нам удалось обнаружить, что наличие PV в буферных концентрациях не только предотвращает гибель ГАМКергических нейронов, но и значительно подавляет амплитуду постгипоксических спонтанных импульсов Ca^{2+} . В тоже время, наличие CB и CR не влияет на феномен постгипоксической гипервозбудимости, но также как и PV, препятствует быстрой гибели нейронов. Таким образом, наличие CaBP в буферных концентрациях препятствует повреждению и гибели ГАМКергических нейронов в период реперфузии, что является эндогенным нейропротекторным механизмом этих клеток от быстрой клеточной гибели. Однако, в этих нейронах, также как и в отсутствие белков, не реализуется механизм гипоксического preconditionирования и амплитуда Ca^{2+} -ответов на активацию глутаматных рецепторов возрастает после эпизодов гипоксии, в отличие от глутаматергических нейронов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ № 16-34-00159-а и гранта Президента РФ (МК-117.2017.4).

ОЖИРЕНИЕ И ДИАБЕТ 2-ГО ТИПА ВЫЗЫВАЮТ НАРУШЕНИЕ КРОСС-СИГНАЛИЗАЦИИ ПЕПТИДНЫХ ГОРМОНОВ В БЕЛЫХ АДИПОЦИТАХ.

Туровский Е.А.¹, Туровская М.В.¹

¹ ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия
turovsky.84@mail.ru

Ожирение и диабет 2-го типа (Д2Т) тесно связаны между собой и считаются пандемией 21 века. Число пациентов с избыточным весом, ожирением и Д2Т в ряде стран достигает уровня 50%, в России число пациентов с Д2Т составляет более 15 млн. человек, в том числе около 4 млн. подростков и детей. Д2Т является хроническим метаболическим нарушением обменных процессов в организме, вызываемым главным образом избыточным потреблением высококалорийной пищи в сочетании с малоподвижным образом жизни. Д2Т характеризуется вначале избыточностью и на поздних стадиях недостаточностью секреторной функции поджелудочной железы и (или) неэффективным действием инсулина, как активатора и основного регулятора потребления глюкозы инсулинозависимыми тканями и органами. При ожирении и Д2Т происходят существенные изменения в экспрессии ключевых генов, контролирующих белки-ферменты, каналы и рецепторы различных сигнальных и метаболических систем. Белые адипоциты, являющиеся не только депо триглицеридов, но и активными секреторными клетками, повреждаются при ожирении и Д2Т, в том числе теряют способность реагировать на основные нейротрансмиттеры (норадреналин, ацетилхолин) и пептидные гормоны (ангиотензин II, ССК, адипонектин и др.). С помощью флуоресцентной микроскопии и ингибиторного анализа нам удалось показать, что в норме, в белых адипоцитах наблюдается взаимодействие (взаимное усиление) адренергической и холинергической составляющих Ca^{2+} -сигнализации пептидными гормонами, что выражается в появлении разнообразия Ca^{2+} -сигналов, начиная от Ca^{2+} -транзиентов до генерации различных режимов осцилляций. Что касается адипоцитов, полученных из жировых депо мышей с ожирением и Д2Т, то для этих клеток характерно полное отсутствие кросс-сигнализации между рецепторами к нейротрансмиттерам и пептидным гормонам, что выражается в практически полном отсутствии Ca^{2+} -ответов или переходе Ca^{2+} -сигнальной системы в состояние с повышенным кальцием и последующей гибели клеток. С учетом того, что Ca^{2+} -сигналы, в особенности периодические Ca^{2+} -явления в цитозоле клеток, сопряжены с регуляцией экспрессии многих генов и активности кальций-зависимых ферментов, то отсутствие кросс-сигнализации является не только маркером нарушения сигнальных систем клеток, но и вероятной причиной повреждения генов-регуляторов процесса липолиза.

Работа поддержана стипендией Президента РФ СП-1057.2015.4.

ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРЫ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ НА ОСНОВЕ ВОДОРАСТВОРИМЫХ КОНЬЮГАТОВ ПРОИЗВОДНОГО ФУЛЛЕРЕНА С ХЛОРИНОМ

Усольцева Л.И.^{1,2}, Белик А. Ю.¹, Рыбкин А. Ю.¹, Горячев Н. С.¹, Краевая О.А.¹, Михайлов П. А.^{1,2}, Пархоменко И.И.¹, Филатова Н.В.¹, Терентьев А.А.¹, Трошин П. А.¹, Котельников А. И.¹

¹ ФГБУН Институт проблем химической физики РАН; ² ФГОУ ВО Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия
liubov.usoltseva@yandex.ru

В настоящее время большое внимание уделяется исследованию фотосенсибилизаторов (ФС) из-за широкой сферы их применения в фотокатализе, фотовольтаике, фотополимеризации и фотодинамической терапии. Для этих целей в качестве фотосенсибилизаторов обычно используются комплексы переходных

металлов из-за высокой эффективности процесса интеркомбинационной конверсии. Однако данные комплексы имеют ряд значительных недостатков: слабое поглощение в видимой области спектра, высокая стоимость и пр.

С этой точки зрения перспективно использование фуллеренов в качестве ФС, так как при возбуждении квантом света фуллерен с вероятностью близкой к единице переходит в возбужденное триплетное состояние. Однако слабое поглощение исходного C₆₀ в видимой области спектра делает проблематичным применение нативного C₆₀ в качестве ФС. Перспективным путем создания нового типа ФС может быть объединение фуллерена и подходящего красителя, хорошо поглощающего в красной области спектра и способного передать возбуждение или электрон на ядро фуллерена.

В рамках направленного поиска новых фотосенсибилизаторов в ИПХФ РАН был синтезирован ряд водорастворимых ковалентных диад фуллерена с производными хлорина еб с различной длиной спейсера.

В настоящей работе методами спектрофотометрии, стационарной и кинетической флуориметрии показано, что в структуре конъюгата фуллерена с производными красителя хлорина еб синглетные возбужденные состояния красителей эффективно тушатся за счет переноса возбуждения или электрона с красителя на ядро фуллерена. Фотодинамическая активность конъюгатов значительно превышает активность красителя или производного фуллерена как индивидуальных соединений. Повышается также фотостабильность красителя в составе конъюгата. Данные эффекты позволяют прогнозировать создание гибридных ФС нового поколения с использованием производных хлорина, что значительно расширяет возможности направленного дизайна таких гибридных структур.

Исследования поддержаны Программой Президиума РАН №1 «Наноструктуры: физика, химия, биология, основы технологий» и грантом РФФИ № 16-34-01156 мол_а.

6-R-4,8-ДИНИТРО-2,6-ДИАЗАТРИЦИКЛО[6.4.0.0^{4,9}]ДОДЕКАН-3,11-ДИОНЫ - ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ПРЕКУРСОРЫ ДЛЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

**Устинов И.И.¹, Иванова Е.В.¹, Сурова И.И.¹, Блохин И.В.¹, Баландина А.О.¹, Шахкельдян И.В.¹,
Атрощенко Ю.М.¹**

¹ФГБОУ ВПО Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого, Тула, Россия
omela5@bk.ru

Исследования в области химии азотсодержащих гетероциклов являются одними из наиболее интенсивно развивающихся направлений современной органической химии, что связано со своеобразием их свойств и большой практической ценностью. Ранее нами была разработана методика синтеза новых 6-замещенных-4,8-динитро-2,6-дiazатрицикло[6.4.0.0^{4,9}]додекан-3,11-дионов конденсацией Манниха аддукта Яновского 2-гидрокси-3,5-динитропиридина с формальдегидом и первичными аминами.

Для первоначальной оценки биологической активности полученных соединений было проведено компьютерное моделирование с помощью системы PASS. Как показали результаты прогноза биологической активности, выполненного в программе *Pharma Expert*, исследуемые вещества проявляют широкий спектр биологической активности. Наиболее вероятными представляются такие виды биологической активности, как *Antiobesity*, *Polarisation stimulant*, *Antidiabetic*, *Membrane permeability inhibitor*, *Nicotinic alpha2beta2 receptor antagonist*, *Acetylcholine neuromuscular blocking agent*, *Nootropic*, что делает 6-R-4,8-динитро-2,6-дiazатрицикло[6.4.0.0^{4,9}]додекан-3,11-дионы перспективными для дальнейшего исследования. В качестве побочных эффектов наиболее вероятны нейтрофильный дерматоз, возбудимость, дисфория и гипотония.

С помощью программного обеспечения *ChemoSoft* нами были рассчитаны дескрипторы производных 6-R-4,8-динитро-2,6-дiazатрицикло[6.4.0.0^{4,9}]додекан-3,11-дионов, определяющие их потенциальные фармакокинетические свойства. Молекулярная масса изменяется в пределах от 298 до 483, значения дескрипторов *Ha* и *Hd* для всех веществ соответствуют критериям Липински. Все соединения удовлетворяют условию концепции *lead-like* по числу нетерминальных вращающихся связей.

Таким образом, проведенное исследование позволяет сделать вывод, что полученные 6-R-4,8-динитро-2,6-дiazатрицикло[6.4.0.0^{4,9}]додекан-3,11-дионы проявляют разнообразную биологическую активность, и являются перспективными прекурсорами для создания новых лекарственных препаратов и биологически активных веществ.

ВЛИЯНИЕ НИТРОГЛИЦЕРИНА НА ЦИТОАРХИТЕКТонику ЭРИТРОЦИТОВ ДОНОРОВ

Федакова М.А.¹, Путинцева О. В.¹, Артюхов В.Г.¹

¹ФГБОУ ВО Воронежский Государственный Университет, Воронеж, Россия
marina-fedakova@mail.ru

Нитроглицерин (НГ) рассматривается в настоящий период как базовый препарат, применяемый в профилактике приступов стенокардии. Объектом нашего исследования являлась суспензия эритроцитов в 0,1 моль/л Na-фосфатном буфере (рН 7,4), полученная из крови доноров в день взятия пробы. В качестве модифицирующего агента использовали 0,1 % раствор НГ (производитель ГУ "Институт новых технологий", Россия) в концентрации 5 нг/мл. Время контакта эритроцитов с раствором НГ составило 1, 3 и 24 ч при 37 °С в стерильных условиях. Поверхностную цитоархитектуру нативных и модифицированных раствором НГ эритроцитов крови доноров изучали методом сканирующей электронной микроскопии, с помощью микроскопа JEOL JSM - 6510 LV (Япония) при ускоряющем напряжении 10 кВ в лаборатории ЦКПНО ВГУ. Структурное состояние мембран эритроцитов оценивали по классификации, предложенной Г. И. Козинец и В. М. Погореловым в 2005.

Нативная суспензия эритроцитов содержала 93,6 % дискоцитов, 4,4 % обратимо деформированных и 2,0 % необратимо деформированных клеток, что соответствует морфологической картине красных клеток крови здорового человека. Через 1, 3 и 24 ч количество дискоцитов уменьшилось до 89,1; 82,2 и 53,4 %, число обратимо деформированных эритроцитов возросло до 8,7; 13,9 и 36,4 %, а количество необратимо деформированных эритроцитов увеличилось до 2,2; 3,9 и 10,2 % соответственно.

После модификации суспензии эритроцитов человека НГ в течение 1, 3 и 24 ч наблюдалось снижение количества двояковогнутых дискоцитов до 83,2; 75,2 и 42,8 %, повышение количества обратимо деформированных клеток до 14,2; 18,5 и 40,7 % и необратимо деформированных эритроцитов до 2,6; 6,3 и 16,5 % соответственно. Ранее нами было выявлено, что после 24 ч инкубации эритроцитов с НГ в их клетках наблюдалось накопление метформы гемоглобина. Таким образом, увеличение количества окисленной формы гембелка в составе эритроцитов, модифицированных НГ в течение разного временного периода, сопровождается значительным изменением цитоархитектуры анализируемых клеток крови, а, следовательно, возрастает вероятность нарушения их основной функции: способности нормально транспортировать и обменивать кислород в тканях организма.

ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА FLiC-AG85B-TB10.4 – КАНДИДАТНОГО ИММУНОГЕНА ПРОТИВ ТУБЕРКУЛЕЗА

Федорова Е.А.¹, Богомолова Е.Г.¹, Добровольская О.А.¹, Черняева Е.Н.¹

¹ФГУП Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов ФМБА, Санкт-Петербург, России
science.eaf@yandex.ru

Туберкулез (далее – ТБ) является заболеванием, поражающим человека с очень давних времен, в России (далее – РФ) болезни с симптомами ТБ упоминаются еще в летописях и рукописных учебниках. И по сей день ТБ ухудшает качество жизни и уносит множество жизней - в 2015 г. в мире было зарегистрировано 10,4 млн новых случаев заболевания ТБ и 1,8 млн смертей от ТБ. Для РФ проблема ТБ особенно актуальна, поскольку РФ входит в число 22 стран, в которых выявлено более 80% зарегистрированных случаев заболеваемости ТБ в мире, причем в тройку стран-лидеров по данному показателю. Стоит учесть, что лечение ТБ и борьба с его распространенностью осложняются способностью микобактерий развивать устойчивость к противотуберкулезным препаратам.

В 2016 г. принята новая стратегия ВОЗ, согласно которой необходимо достичь к 2030 г. снижения на 90% числа смертей от ТБ, по сравнению с 2015 г., и на 80% - заболеваемости, для чего потребуются в том числе новые вакцины.

В настоящее время нет зарегистрированных вакцин против ТБ на основе рекомбинантных белков, однако последние являются наиболее безопасным вариантом из всех возможных ввиду исключения проблем, связанных с использованием живого, пусть и аттенуированного, штамма микобактерий, либо вирусов. Однако эффективность субъединичных вакцин варьирует и обуславливается массой факторов, одним из самых важных из которых является подбор компонентов.

Разработан гибридный белок FLiC-Ag85B-TB10.4, содержащий белки Ag85B, TB10.4 *M.tuberculosis*, а также компоненты флагеллина в качестве адъюванта. Целью исследования было получение данного белка для изучения в качестве иммуногена против ТБ.

Для этого был создан штамм – продуцент гибридного белка FLiC-Ag85B-TB10.4, на основе плазмидной ДНК pET28a(+), содержащей оптимизированный по кодонному составу для увеличения уровня экспрессии в

клетках продуцента ген, кодирующий данный белок, и клеток *E.coli* BL21(DE3). Также были изучены режимы индукции экспрессии гена при варьировании индуктора - ИПТГ, в количестве 1 мМ, 0,5 мМ, 0,1 мМ, либо 0,2% лактозы, температуры - 37°C, либо 16°C, и времени – (3–16) ч. Выявлен оптимальный режим - 0,1 мМ ИПТГ, 37°C, 3 ч, который позволяет при наименьших затратах, временных и количества реагента, получить достаточно высокий уровень синтеза гибридного белка - 27% от общего клеточного белка. Синтезируемый белок в большей степени нерастворим, что облегчает его очистку. С использованием ИМАХ с сорбентом Ni-НТУ с дальнейшей доочисткой гель-фильтрацией получен высокоочищенный препарат гибридного белка (98%) для исследования в качестве иммуногена против ТБ.

ВЛИЯНИЕ СОДЕРЖАНИЯ И УСПЕШНОСТИ ВЫПОЛНЕНИЯ АРИФМЕТИЧЕСКИХ ЗАДАЧ НА КОГНИТИВНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕШЕНИЯ

Фомина А.С.¹, Кочетова С.Г.¹, Сенокосов Ю.О.¹

¹ФГАОУ ВО Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия
a_bogun@mail.ru

В настоящее время большое количество исследований посвящено оценке нейробиологических основ математических способностей, позволяющих успешно выполнять многие образовательные задачи. Цель работы - изучение специфики решения арифметических примеров в зависимости от сложности и успешности выполнения. В исследовании приняли участие 40 человек (17 -20 лет). В качестве тестового задания применялось решение примеров на умножение и деление (по 50 примеров) двузначных чисел. Все примеры разделялись на простые и сложные. Участники нажимали на кнопку каждый раз после выполнения промежуточных расчетов, и в конце решения. Вычислялось время (ВР) и качество решения, количество промежуточных операций и значения спектральной мощности (СМ) 4 диапазонов ЭЭГ.

Участники были разделены на успешно и не успешно решавших ($92 \pm 2,24\%$ и $65 \pm 3,4\%$ правильных ответов). При умножении ВР сложных примеров в обеих группах было достоверно выше в сравнении с простыми. При делении ВР не различалось, и было сходно с таковым для сложного умножения. При умножении в алгоритме решения простых примеров было от 1 до 3 операций, сложных - от 1 до 4. Наибольшие значения ВР показано для 1 и 3 операций. Алгоритм решения примеров на деление включал 3 операции. В группе не успешно решавших ВР примеров на деление было достоверно выше. Вероятно, при умножении решение в 2 операции сопровождалось комплексированием операций, а в 3 и 4 – разделением. При делении с увеличением сложности происходило добавление операций с сохранением ВР.

При анализе динамики СМ ЭЭГ выявлено, что успешно решавшие участники характеризовались высокими значениями СМ всех диапазонов со слабой реакцией десинхронизации. При решении примеров на умножение в обеих группах показано увеличение значений тета-диапазона, более выраженное у успешно решавших.

При решении сложных примеров на деление формировалась противофаза лобного дельта- и затылочного альфа-фокусов, что отражало избирательное притормаживание систем внимания ввиду дефицита когнитивных ресурсов. При не успешном решении наблюдалась десинхронизация во всех диапазонах. У успешно решавших показано увеличение значений СМ в тета- и бета – диапазонах, связанных с процессами рабочей памяти, произвольного внимания и психоэмоционального напряжения.

Выявленные различия могут отражать формирование когнитивных систем, обеспечивающих решение с разным уровнем эффективности. Успешное решение обеспечивалось концентрацией активности в заинтересованных областях, а не успешное – ее общим снижением

РАЗРАБОТКА ЛИПОСОМНЫХ ФОРМ ТЕСТОСТЕРОНА С ПОВЫШЕННОЙ БИОДОСТУПНОСТЬЮ

**Ходжаева Р. Н.а¹, Гудкова О. И.¹, Кенда А. М.¹, Горяева О. В.а¹, Мучкинова Е. А.¹,
Фельдман Н. Б.¹, Луценко С. В.¹**

¹ФГБОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия
khodjaevaradmila@mail.ru

Мужские половые гормоны играют ключевую роль в развитии организма. Недостаточность андрогенов у мужчин приводит к развитию гипогонадизма, характеризующегося низким уровнем концентрации тестостерона в сыворотке крови, а также импотенцией, недоразвитостью или регрессом вторичных половых признаков. Тестостерон является основным андрогеном организма, и при его недостаточной выработке назначается заместительная терапия. Будучи веществом липидной природы, тестостерон обладает низкой растворимостью в

биологических жидкостях и, как следствие, низкой биодоступностью, что существенно снижает его терапевтический потенциал. Получение препарата тестостерона в растворимой липосомной форме с высокой биодоступностью представляется актуальной задачей.

В настоящее время для наружного применения используют андрогели, которые имеют ряд существенных недостатков, к числу которых относится низкая абсорбция, необходимость ежедневного применения и неудобства, возникающие при нанесении геля на обширную поверхность кожи. В связи с этим создание систем для трансдермальной доставки тестостерона представляется важным для расширения спектра средств гормонотерапии, обладающих повышенной эффективностью при сохранении нативной структуры тестостерона.

Целью данной работы являлось получение липосомной формы тестостерона, а также исследование возможности насыщения и высвобождения из сухих и гидратированных пленок бактериальной целлюлозы липосом, содержащих тестостерон.

Для получения липосомной формы тестостерона применяли метод инъекции с последующей ультразвуковой обработкой дисперсии фосфатидилхолин-тестостерон. Средний размер липосом составлял 238 ± 46 нм по данным лазерной корреляционной спектроскопии. Сухие и гидратированные образцы бактериальной целлюлозы насыщали препаратом липосом в течение 1, 2, 3, 4, 5 часов. Затем отмывали образцы целлюлозы от несвязавшегося материала и определяли количество включенного в них тестостерона с помощью ОФ ВЭЖХ. Липосомы с тестостероном, включенные в состав матрицы бактериальной целлюлозы, визуализировали с помощью электронной микроскопии. Максимальное включение тестостерона в сухие и гидратированные пленки достигалось после 3 ч инкубации и составляло 0,8 мг/мл на 1 см^2 и 1,5 мг/мл на 1 см^2 , соответственно.

Липосомные формы тестостерона могут найти применение в медицине и фармации при разработке новых препаратов с повышенной биодоступностью.

СОЗДАНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ЛЕНТИВИРУСНЫХ КОНСТРУКЦИЙ, КОДИРУЮЩИХ ГЕНЫ ЦИТОКИНОВ С ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Чулпанова Д.С.¹, Колобынина К.Г.¹, Соловьева В.В.¹, Ризванов А.А.¹

¹ ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
daryachulpanova@gmail.com

Цитокины представляют собой молекулярные мессенджеры, которые позволяют клеткам иммунной системы взаимодействовать друг с другом. Цитокины непосредственно стимулируют иммунные эффекторные клетки и стромальные клетки, тем самым регулируя развитие опухоли и ее микроокружения. Многочисленные исследования на культурах клеток и животных опухолевых моделях показали, что цитокины обладают широкой противоопухолевой активностью. Актуальным направлением исследований является таргетная терапия онкологических заболеваний с использованием генных конструкций, экспрессирующих различные цитокины с противоопухолевой активностью.

В настоящей работе были получены рекомбинантные плазмидные конструкции, кодирующие гены фактора некроза опухоли (ФНО, TNFSF10), интерферона α (ИФН- α , IFNA17), интерлейкина-2 (ИЛ-2, IL-2), гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ, CSF-2) и фосфатазы с двойной субстратной специфичностью (PTEN). Плазмидные конструкции на основе вектора pLX303 (Addgene, США), кодирующие гены вышеописанных цитокинов, были получены путем субклонирования из ранее полученного вектора-донора pDONR221 методом LR-рекомбинации (технология Gateway, Invitrogene, США). Продуктами рекомбинации трансформировали компетентные клетки *E. coli*. Позитивные клоны бактерий были проверены на наличие целевых генов с помощью ПЦР скрининга бактериальных колоний с вектор-специфичными праймерами и электрофореза ДНК в агарозном геле. Выделенная из положительных клонов плазмидная ДНК была проанализирована рестрикционным анализом с эндонуклеазами рестрикции KpnI и XhoII (ThermoFisher Scientific, США).

Рекомбинантные лентивирусы были получены путем ко-трансфекции пакующей линии клеток HEK293FT тремя плазмидами: векторной плазмиды, несущей целевой ген; плазмиды, несущей гены оболочки gag/pol и дополнительные гены вириона (pCMV-dR8.2 dvpr, Addgene, США); и плазмиды, несущей ген гликопротеина G вируса везикулярного стоматита (pCMV-VSV-G, Addgene, США). Полученные лентивирусы концентрировали с помощью ультрацентрифугирования в течение 2 часов при 26 000 об/мин. Вирусный титр определяли методом проточной цитофлуориметрии клеток, зараженных собранным в параллели лентивирусом, несущим ген зеленого флуоресцентного белка (GFP).

Функциональность и противоопухолевая активность полученных вирусов будет исследована в дальнейшем на различных культурах опухолевых клеток *in vitro*.

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОГО PRX6 НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МЕЗЕНТЕРАЛЬНЫХ СОСУДОВ ПРИ ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРФУЗИОННОМ ПОРАЖЕНИИ

Шарапов М.Г.¹, Гончаров Р.Г.¹

¹ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия
sharapov.mg@yandex.ru

Ишемия-реперфузия (ИР) – причина развития многих патологических состояний. Повреждающее действие ИР связано с развитием окислительного стресса, поэтому терапии таких патологий связана с применением антиоксидантов. В качестве терапевтического агента предложено использование фермента-антиоксиданта – пероксиредоксина 6 (Prx6), обладающего широкой субстратной специфичностью к гидропероксидам неорганической и органической природы. Кишечник является одним из наиболее чувствительных органов к действию ИР. При ИР кишечника в первую очередь повреждаются мезентеральные сосуды. Гистологический анализ мезентеральных сосудов показал, что применение Prx6 способствует снижению уровня ИР поражения и большей сохранности эндотелиоцитов. Проведено исследование экспрессии генов антиоксидантного ответа (SOD1-3, Prx1-6, GPx1-8, каталаза) и ключевых маркеров функционального состояния клеток (NFκB, IL6, ki67, caspase3) в ответ на ИР поражение мезентеральных сосудов. При ИР поражение для большинства генов антиоксидантного ответа наблюдается рост уровня экспрессии (3-10 раз). Введение экзогенного Prx6 приводит к снижению уровня экспрессии генов антиоксидантного ответа, приближая их к нормальным значениям. После ИР в мезентеральных сосудах обнаружен значительный рост уровня экспрессии NFκB (6 раз), IL6 (30 раз) и ki67 (4 раза). Введение экзогенного Prx6 перед ИР приводит к еще большему росту уровня экспрессии NFκB (22 раза), IL6 (45 раз) и ki67 (4-5 раз). Введение Prx6 приводит к повышению уровня NO в крови (>5 раз) и расширению сосудов артерий и вен, что способствует улучшению циркуляции крови в ишемизированном органе. Рост уровня NO в крови связан с увеличением активности NO-синтетаз (NOS). Экзогенный Prx6 влияет на уровень экспрессии индуцибельной iNOS, при этом на эндотелиальную eNOS и нейрональную nNOS практически не влияет. Введении Prx6 интактным животным приводит к росту уровня экспрессии iNOS в 30 раз, а введение Prx6 перед последующей ИР приводит к росту уровня экспрессии iNOS в 650 раз. Таким образом, при ИР поражении экзогенный Prx6 защищает мезентеральные сосуды от окислительного стресса, способствует нормализации окислительно-восстановительного гомеостаза в клетках, влияет на уровень экспрессии iNOS (предположительно через NFκB), что способствует росту уровня NO в крови, увеличению просвета сосудов и уровня перфузии.

Работа поддержана РФФИ (15-04-04021-а) и грантом Президента РФ (МК-2261.2017.4).

БАКТЕРИЦИДНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРОИЗВОДНОГО 2(5H)-ФУРАНОНА В ОТНОШЕНИИ КЛЕТОК STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Шарафутдинов И. С.¹, Павлова А. С.¹, Курбангалиева А. Р.¹, Макаревич О.², Каюмов А. Р.¹

¹ ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия,

² Университетская клиника Йены, Германия

IrSultanovich@gmail.com

Staphylococcus aureus – широко распространённый инфекционный агент, вызывающий госпитальные инфекции от легких инфекций кожи до опасных для жизни болезней, таких как пневмония или сепсис. Развиваясь на тканях и других поверхностях, золотистый стафилококк способен формировать твердые биопленки, где клетки скрыты от обычных антибиотиков и иммунной системы хозяина. Особое опасение и тревогу вызывает распространение резистентных штаммов микроорганизмов, невосприимчивых к действию внешних факторов. Ввиду этого, постоянно ведется поиск новых антибактериальных препаратов. Одним из перспективных соединений для решения этих задач может являться использование веществ из класса фуранонов.

В работе показана антимикробная активность синтетического производного 2(5H)-фуранона (F105), несущего сульфонильную и I-ментильную группы, в отношении клеток *Staphylococcus aureus* ATCC29213. Методом микротитрования в 96-луночных планшетах, согласно рекомендациям EUCAST, определены значения минимальной подавляющей концентрации (МПК) и минимальной бактерицидной концентрации (МБК), которые составили 10 и 40 мкг/мл, соответственно, что характеризует бактерицидные свойства соединения. Методом шахматной доски был проведен анализ на взаимодействие F105 с различными антибиотиками. Вещество показало синергетический эффект с антибиотиками аминогликозидного ряда, со значениями FICI для гентамицина и канамицина равными 0.33 ± 0.16 и 0.44 ± 0.17 , соответственно. При концентрациях 0.7 мкг/мл и 1.3 мкг/мл, F105 уменьшал МПК гентамицина и канамицина дважды, соответственно. При помощи лазерной конфокальной микроскопии, а также при помощи высевания клеток на агаризованные чашки и последующего подсчета КОЕ показано, что F105 проявляет антимикробную активность против клеток золотистого стафилококка, находящихся в составе зрелой 24-часовой биопленки. При концентрации 80 мкг/мл (2-кратный

МБК) фуранон уменьшал количество КОЕ в биопленке золотистого стафилококка на 3 порядка. Таким образом, исследуемое соединение Ф105 представляет собой значительный интерес для развития новой стратегии в терапии золотистого стафилококка, в том числе находящегося в составе биопленки.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ 15-14-00046.

СПОСОБ ТЕСТИРОВАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ПРИНАДЛЕЖНОСТЬ К СУБСТРАТАМ, ИНДУКТОРАМ И ИНГИБИТОРАМ БЕЛКА-ТРАНСПОРТЕРА ГЛИКОПРОТЕИНА-P

Щулькин А.В.¹, Черных И.В.¹, Якушева Е.Н.¹, Гацанога М.В.¹, Попова Н.М.¹

¹ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет Минздрава России, Рязань, Россия
alekseysshulkin@rambler.ru

Гликопротеин-P (Pgp) – АТФ-зависимый мембранный белок-транспортер (ABCB1-белок), участвующий в транспорте из клетки липофильных эндогенных и экзогенных субстратов. Pgp локализуется в эпителии кишечника, печени, почек и эндотелиальных клетках гистогематических барьеров, поэтому считается, что он играет ключевую роль в процессах всасывания, распределения и выведения многих лекарственных веществ, являющихся его субстратами. Учитывая широкую субстратную специфичность Pgp и его важную роль в фармакокинетике, FDA и EMA рекомендуют все новые лекарственные препараты тестировать на принадлежность к субстратам, индукторам и ингибиторам белка-транспортера.

Первоначально исследования проводят *in vitro*. В качестве тест-системы используют линию клеток Caco-2 или другие клеточные линии, гиперэкспрессирующие Pgp. Если в опытах *in vitro* устанавливают, что новый лекарственный препарат является субстратом или ингибитором Pgp, то в дальнейшем проводят опыты *in vivo*. При оценке принадлежности вещества к субстратам Pgp *in vivo* оценивается изменение его фармакокинетики при совместном введении с индуктором и ингибитором белка-транспортера. Для оценки принадлежности веществ к ингибиторам/индукторам Pgp оценивают фармакокинетику маркерного (не подвергается метаболизму, выводится преимущественно Pgp) субстрата белка-транспортера на фоне введения изучаемого вещества.

В наших исследованиях *in vivo* в качестве тест-системы используются кролики-самцы породы Шиншилла, в роли маркерного субстрата Pgp – фексофенадин (доза 66,7 мг/кг массы), индуктора Pgp – рифампицин (доза 20 мг/кг массы два раза в день), ингибитора Pgp – верапамил (20 мг/кг массы три раза в день). Данным методом *in vivo* мы протестировали оригинальные отечественные препараты – мексидол, ноопепт и афобазол. Было показано, что мексидол и афобазол являются ингибиторами Pgp, а ноопепт не влияет на активность белка-транспортера. Также было установлено, что мексидол и ноопепт не являются субстратами Pgp.

Работа поддержана грантами РФФИ 16-44-620292 p_a, 16-04-00320 a

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО СРЕДСТВА ЦИСПЛАТИНА НА TRAIL-ОПОСРЕДОВАННУЮ ГИБЕЛЬ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК.

Яголович А.В.¹, Гаспарян М.Э.¹, Бычков М.Л.¹, Долгих Д.А.¹

¹ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия
anneyagolovich@gmail.com

Рекомбинантный цитокин TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand) является многообещающим препаратом для таргетной терапии опухолей. Интерес к TRAIL связан с его способностью избирательно индуцировать апоптоз *in vitro* и *in vivo* в опухолевых клетках, не затрагивая нормальные клетки. Однако терапевтическое применение TRAIL ограничено, так как многие первичные опухоли к нему резистентны.

Исследования указывают на доминантную роль рецептора DR5 в передаче сигнала TRAIL-индуцированного апоптоза. Для повышения эффективности TRAIL ранее мы разработали и получили мутантный вариант TRAIL DR5-B, который связывается с рецептором смерти DR5 так же эффективно, как и TRAIL дикого типа, но практически не проявляет аффинности к рецепторам DR4, DcR1 и DcR2.

В данной работе мы исследовали комбинированное воздействие DR5-B с противоопухолевым средством цисплатином на 12 линиях опухолевых клеток и сравнили с цитотоксичностью TRAIL дикого типа. Существенное усиление TRAIL- или DR5-B-опосредованного апоптоза (15-43%) цисплатином наблюдалось в линиях SKBR3, MDA-DA-231, PC3, DU145 и HT29. В линиях U937, U251 MG, HepG2, SCOV3 и MCF-7 цисплатин усиливал цитотоксичность препаратов TRAIL менее чем на 10%. В остальных двух линиях Jurkat и A549 действия цисплатина и вариантов TRAIL суммировались.

В целом, цисплатин усиливал как TRAIL-, так и DR5-B-индуцированную гибель клеток, но для большинства клеток этот эффект был сильнее выражен для DR5-B. При совместном воздействии цисплатина с DR5-B гибель клеток в десяти линиях превышала 60%, а в восьми линиях более 70%, тогда как с TRAIL только в трех линиях гибель составила более 60%.

Таким образом, цисплатин в низких нетоксичных дозах (1-1000 нМ) положительно влияет на апоптотическую активность препаратов TRAIL, усиливая их противоопухолевые свойства. Этот эффект сильнее выражен для варианта DR5-B. Ранее было показано, что цисплатин может индуцировать экспрессию рецепторов DR4, DR5 и каспазы 8, и понижение экспрессии c-FLIP. Наши исследования показали, что стратегия комбинированного воздействия вариантов цитокина TRAIL с противоопухолевым препаратом цисплатином может применяться для терапии опухолей, в частности для карцином простаты, груди, печени и толстой кишки, поскольку цисплатин эффективно усиливал противоопухолевую активность препаратов TRAIL в этих клеточных линиях.

СЕКЦИЯ «ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ И ФОТОБИОЛОГИЯ»

ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ ПИГМЕНТОВ В РАСТЕНИЯХ *TRITICUM AESTIVUM* L., ИНОКУЛИРОВАННЫХ *BACILLUS SUBTILIS*, В УСЛОВИЯХ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВЫ ИОНАМИ СВИНЦА Pb²⁺

Арефьева А.А., Курамшина З.М.

Стерлитамакский филиал ФГБОУ ВО Башкирского государственного университета, Стерлитамак, Россия
steisel502@gmail.com

Среди различных изменений у растений под действием тяжелых металлов (ТМ) наблюдаются нарушения и в работе фотосинтетического аппарата. Количественное определение хлорофилла может использоваться как показатель реакции растительного организма на негативные условия, в том числе и на действие ТМ, которые способны снижать содержание хлорофилла, вызывать нарушения в структуре мембран хлоропластов, что отрицательно влияет на интенсивность фотосинтеза.

Одним из современных способов повышения устойчивости растений к действию негативных факторов, в том числе и ТМ, и безопасных по сравнению с химическими методами, является применение биопрепаратов на основе эндофитных штаммов *Bacillus subtilis*. Эндофиты способны повышать иммунитет растений, стимулировать рост и развитие растительных организмов, аккумулировать ионы ТМ и переводить их в неактивную форму.

Цель работы – оценка воздействия ионов свинца на пигментный комплекс фотосинтезирующих органов растений *Triticum aestivum* L., инокулированных *Bacillus subtilis*. Содержание фотосинтетических пигментов определяли спектрофотометрическим методом (Шлык с соавторами, 1971).

Эксперименты показали, что ионы свинца в малых концентрациях повышали содержание хлорофилла, высокие концентрации – угнетали фотосинтетическую активность пигментных систем *Triticum aestivum*. Так, при концентрации Pb²⁺ в почве 10 мг/кг содержание хлорофилла *b* (Хл *b*) и общего хлорофилла (Хл *a+b*) было выше, чем в контроле, на 20 и 7 %, соответственно. При 1500 мг/кг данные показатели были снижены на 20 и 22,5 %. Содержание хлорофилла *a* (Хл *a*) при концентрации 10 мг/кг не различалось с контролем, при 1500 мг/кг динамика была аналогична динамике содержания Хл *b* и суммарного содержания всего хлорофилла.

Вместе с тем было установлено, что растения, инокулированные штаммами *Bacillus subtilis* и выращенные в условиях загрязнения почвы ионами свинца в концентрациях 10 и 1500 мг/кг, имели более высокие показатели Хл *a* и Хл *b*, по сравнению с необработанными. Инокулированные бактериями растения также имели более высокие показатели концентрации общего хлорофилла (в среднем выше на 15 %) относительно контроля.

Таким образом, предобработка растений *Triticum aestivum* эндофитными штаммами *Bacillus subtilis* снижала токсический эффект ионов свинца на фотосинтетический аппарат.

СОДЕРЖАНИЕ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ И ГЛУТАТИОНА В КРЕСС-САЛАТЕ ПРИ СОВМЕСТНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ NaCl-ЗАСОЛЕНИЯ И ЩЕЛОЧНОСТИ КОРНЕВОЙ СРЕДЫ

Арисова А.К., Еремченко О.З.

ФГБОУ ВО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия
nast483@bk.ru

Аскорбиновая кислота и глутатион – уникальные полифункциональные соединения, участвующие в процессах регуляции роста, цветения, вегетативной и репродуктивной дифференциации, в водном и минеральном обмене, регуляции ферментативной активности, стимуляции метаболизма, связанных с обменом нуклеиновых кислот и синтезом белка, в защитных реакциях растений. Актуальность изучения механизмов адаптации растений к засолению и щелочности обусловлена тем, что эти факторы сочетаются в природных и техногенных почвах. Цель данной работы – оценка воздействия NaCl-засоления и щелочности корневой среды на содержание аскорбиновой кислоты и глутатиона в кресс-салате. Исследование проведено в модельных опытах с вариантами pH 6, 7, 8, 9 и засолением 0,2, 0,4, 0,6 и 0,8 % NaCl. Растения выращивали на вермикулите с питательным раствором Кнюпа в течение 7 дней, затем их поливали растворами с разной концентрацией соли и щелочностью. Общее содержание аскорбиновой кислоты и глутатиона в растениях определили через 16 часов после воздействия стресса с использованием метода ВЭЖХ; восстановленные формы изучали по Петту-Прокошеву. Высоту и массу растений определяли через 2 суток в 25-кратной повторности. Результаты исследований обработаны методом двухфакторного дисперсионного анализа. Действие факторов проявилось на

общем содержании аскорбиновой кислоты (сила влияния щелочности - 67,8 %, засоления - 26,4 %). Достоверное накопление аскорбиновой кислоты отмечено на вариантах наибольшего засоления и щелочности. Восстановленная форма кислоты аккумулировалась в растениях только под воздействием засоления. При минимальном засолении и на фоне всех значений щелочности отмечено наибольшее содержание общего и восстановленного глутатиона; при более сильном воздействии факторов наблюдалась тенденция к уменьшению его количества. Двухфакторный анализ данных показал, что на содержание количества общего глутатиона оказывало влияние только засоление (сила влияния - 54%). Через двое суток после стресс-воздействия отмечено уменьшение средней массы одного растения с ростом засоленности (сила влияния - 33%). На высоту растений оба фактора не оказали достоверного воздействия. Таким образом, исследования показали защитную роль аскорбиновой кислоты при совместном стресс-воздействии засоления и щелочности на кресс-салат. Протекторное значение глутатиона в наших опытах не доказано, так как повышенное его содержание отмечалось только на вариантах с минимальным засолением.

ВСТРАИВАНИЕ ЭКЗОГЕННЫХ КАРОТИНОИДОВ В ПИГМЕНТ-БЕЛКОВЫЕ КОМПЛЕКСЫ LH2 СЕРНЫХ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ

Ашихмин А.А., Большаков М.А., Махнева З.К., Москаленко А.А.

ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пушкино, Россия

AshikhminAA@gmail.com

У всех фотосинтезирующих организмов процессы поглощения, передачи и трансформации энергии света в энергию разделенных зарядов протекают в специализированных структурах: пигмент-белковых комплексах. Наиболее простым набором таких комплексов обладают фотосинтезирующие бактерии. Их фотосинтетический аппарат включает, как правило, два типа светособирающих комплексов (LH1 и LH2) и реакционный центр (РЦ). Функция комплексов LH1 и LH2 заключается в поглощении энергии солнечного света и передаче её к РЦ, где происходит первичное разделение зарядов. За поглощение света комплексами отвечают пигменты: бактериохлорофилл (БХл) и каротиноиды.

Цель данной работы – создание модифицированных по каротиноидному составу пигмент-белковых комплексов LH2 из серных фотосинтезирующих бактерий и изучение их свойств. В качестве объекта исследования была использована пурпурная серная бактерия *Allochromatium (Alc.) minutissimum*. В клетках *Alc. minutissimum* нативный биосинтез каротиноидов ингибировали дифениламином на $\geq 95\%$. В бескаротиноидные мембраны искусственно были встроены отдельные каротиноиды с различным количеством сопряженных двойных связей и боковых групп. Эффективность встраивания составила от 10 до 90%. Обнаружено, что электрофоретическая подвижность комплексов со встроенными каротиноидами не изменяется по сравнению с подвижностью контрольных и бескаротиноидных комплексов, что указывает на отсутствие существенных изменений структуры комплексов LH2 как при обработке ингибитором, так и при встраивании каротиноидов. Установлено, что некоторые каротиноиды в модифицированных комплексах LH2 способны передавать энергию на БХл с эффективностью до 50%, что в 1,5-2 раза превышает контрольный уровень. Изучена серия физико-химических характеристик комплексов LH2 со встроенными каротиноидами (спектры поглощения, возбуждения флуоресценции и кругового дихроизма, каротиноидный состав, фотоустойчивость и термостабильность). Обсуждается возможное участие отдельных каротиноидов в фотоокислении БХл в комплексах LH2 серных бактерий.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант №15-04-02660-а), а также гранта Президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук (МК-187.2017.4).

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АЗОТА ТРАНСГЕННЫМИ РАСТЕНИЯМИ БЕРЕЗЫ С ГЕНОМ ГЛУТАМИНСИНТЕТАЗЫ

Белова Е.Н.¹, Лебедев В.Г.^{1,2}

¹ФГБОУ ВО Мичуринский государственный аграрный университет, Мичуринск, Россия; ²ФГБУН Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Пушкино, Россия

e.belova@yandex.ru

Азот входит в состав большинства макромолекул растений и его доступность часто является основным лимитирующим фактором их роста и развития. Для повышения урожайности с/х культур применяют азотные удобрения, но они дороги и используются неэффективно: более половины всего вносимого азота теряется, загрязняя окружающую среду. По этой причине повышение эффективности использования азота является одной из основных целей выведения новых сортов, в том числе и с использованием методов геной инженерии.

Одним из ключевых ферментов азотного метаболизма в растениях является глутаминсинтетаза (GS), которая отвечает за ассимиляцию аммония, образуемого при восстановлении нитратов, в процессе фотосинтеза или в результате распада белков. Рекомбинантный ген цитозольной формы глутаминсинтетазы GS1 из сосны обыкновенной путем агробактериальной трансформации был перенесен в растения березы пушистой (*Betula pubescens*). Контрольные (линия бп3ф1) и трансгенные (линия F14GS8b) растения березы выращивали в условиях открытой площадки на субстрате торф:перлит (3:1) в сосудах объемом 1 л (1-й год) и 3 л (2-й год). В течение двух вегетационных сезонов растения удобряли растворами с 0 или 10 мМ азота. В конце второго года выращивания биомассу растений разделили на 4 фракции (листья, двулетний ствол, однолетние ветви, корни) и определили их сухую массу, а также содержание в них азота. На основе полученных данных был произведен расчет эффективности поглощения, утилизации и использования азота (NUpE, NUtE и NUE, соответственно). Было показано, что NUpE, NUtE и NUE у трансгенной линии в варианте без азота были существенно выше (на 21.5, 16.7 и 39.4%, соответственно), тогда как при выращивании с подкормкой 10 мМ азота были ниже, но несущественно. Оценка эффективности использования азота по фракциям биомассы показала, что у трансгенной линии в условиях недостатка азота по сравнению с контролем были значительно выше NUpE в ветвях и листьях (около 33%), а NUtE – в стволах (23.0%). В тоже время при 10 мМ азота существенные различия наблюдались только в корнях: NUpE и NUtE у трансгенной линии были существенно ниже (на 30-32%).

Полученные данные подтверждают положительное влияние экспрессии гена глутаминсинтетазы в трансгенных растениях березы на эффективность использования азота в условиях его недостатка в почве. Данная стратегия может быть использована для расширения производства с/х и лесных культур на малоплодородных землях с низкой доступностью азота.

ВЛИЯНИЕ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР НА СОДЕРЖАНИЕ ПРОДУКТОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ В РАСТЕНИЯХ ЛАВАНДЫ УЗКОЛИСТНОЙ

Белова И.В.

ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма», Симферополь, Россия
Belova_Irina80@mail.ru

Лаванда узколистная (*Lavandula angustifolia* Mill.) – ценное средиземноморское ароматическое растение, выращивается в теплых регионах и предпочтительно на солнечных и открытых местах. Весенние заморозки в период отрастания побегов лаванды узколистной, оказывают негативное влияние на растения, снижая количество и качество цветonoсных побегов. На изменение температурных условий растения реагируют перестройкой различных метаболических процессов. При сильном или длительном влиянии стрессового фактора в клетках растений происходит активация окислительных процессов и нарушается прооксидантно-антиоксидантное равновесие, вследствие этого происходит накопление продуктов перекисного окисления липидов. Цель работы – изучение содержания перекисей в растениях *Lavandula angustifolia* и оценка интенсивности протекания процессов перекисного окисления липидов. Исследования проведены в 2009 г., материалом для исследования были четыре сорта лаванды узколистной: Степная, Ранняя, Синевая, Вдала (занесенные в Гос. реестр селекционных достижений, допущенных к использованию в РФ). Растительный материал выращивали в условиях научного севооборота в с. Крымская Роза, Белогорского района (предгорная зона Крыма). В опытных образцах для растений лаванды в лабораторных условиях моделировали весенние заморозки холодной обработкой, холодной стресс – время действия низких температур 8 ч. Контроль – растения, не подвергшиеся холодной обработке. В период выхода растений из покоя в надземной части определяли содержание гидроперекисей спектрофотометрическим методом (конъюгированные диены – при длине волны 232 нм., гидроксипирокилоты – 267 нм., кетодиены – 274 нм., кетоны – 309 нм.). Установлено, что в опытных образцах содержание конъюгированных диенов в побегах лаванды варьировало от 72,00 до 94,08 отн. ед.; гидроксипирокилот от 31,08 до 46,72 отн. ед.; кетодиенов от 28,04 до 40,84 отн. ед.; кетолов от 19,76 до 35,52 отн. ед. В контрольных вариантах до обработки у сортов Степная, Синевая и Вдала содержание перекисей было ниже на 2,0-20,0 %, что связано с активным протеканием процессов перекисного окисления липидов после влияния на побеги стрессового фактора. У сорта Ранняя содержание перекисей в опытных образцах снизилось на 16-25%, эти результаты мы связываем с большей устойчивостью этого сорта к стрессовому фактору. Поэтому сорт Ранняя, в образцах которой наблюдалось торможение процессов перекисного окисления липидов, более устойчива к влиянию действия неблагоприятного фактора холодого стресса.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТРАНЗИЕНТНОЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ДЛЯ ХАРАКТЕРИСТИКИ СИГНАЛЬНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ И ОЦЕНКИ ЛОКАЛИЗАЦИИ БЕЛКОВ В РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКЕ

**Берестовой М.А.^{1,2}, Тюрин А. А.^{1,2}, Кабардаева К. В.^{1,2}, Сидорчук Ю.В.³, Фоменков А.А.¹,
Носов А.В.¹, Голденкова-Павлова И.В.¹**

¹ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия ²Российский государственный аграрный университет - Московская сельскохозяйственная академия им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия ³ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия
m.berestovoy1181@gmail.com

Эффективность транзientной экспрессии генов в растениях убедительно продемонстрирована в исследованиях по анализу функций генов. Две основные стратегии транзientной экспрессии стали фаворитами у исследователей - трансфекции протопластов и агроинфильтрация. Каждая из них наряду с преимуществами имеет свои ограничения. Нами предложена и апробирована простая, быстрая и надежная система для характеристики сигнальных последовательностей и анализа локализации целевых белков в растительной клетке. Эта система, названная AgI-PrI, предполагает получение протопластов из растительных тканей после агроинфильтрации. Для транзientной экспрессии использовали гибридный ген *desC-egfp*, состоящий из *desC* гена, кодирующего $\Delta 9$ -десатуразу цианобактерий и гена *egfp*, белковым продуктом которого является зеленый флуоресцентный белок. Оценены сигнальные последовательности для целевых субклеточных компартментов растений: хлоропласты и эндоплазматический ретикулум. В период пика флуоресценции eGFP из агроинфильтрированных листьев были взяты участки с максимальным уровнем флуоресценции с последующей оценкой локализации белка методом лазерной конфокальной микроскопии. Однако, визуализация локализации гибридного белка по флуоресценции в компартментах клетки с использованием агроинфильтрированной ткани затруднена и идеальных отображений локализации белков как в хлоропластах, так и ЭР не удалось получить. Вероятно, это обусловлено сложными очертаниями клеток и пространственной структурой самих растительных компартментов. Схожие ограничения для визуализации локализации белков в растительных клетках при использовании метода агроинфильтрации отмечены и другими исследователями. Чтобы преодолеть это ограничение, нами выделены протопласты из участков агроинфильтрированных листьев с максимальной флуоресценцией. Полученные протопласты, изученные с помощью флуоресцентной микроскопии, показали сигнал флуоресценции слитого белка DesC-EGFP в соответствующих компартментах для каждой сигнальной последовательности. Таким образом, мы показали, что предложенная технология AgI-PrI позволяет объединить преимущества и нивелировать ограничения и критические этапы двух широко используемых методов транзientной экспрессии генов в растениях: агроинфильтрации и трансфекции предварительно выделенных протопластов. Технология AgI-PrI может быть успешно применена и для других видов растений, для которых уже разработаны эффективные методы агроинфильтрации и выделения протопластов.

Исследования выполнены при финансовой поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований, грант №14-04-01616_a.

УЧАСТИЕ ПУЛА ПЛАСТОХИНОНА В РЕАКЦИИ МЕЛЕРА

Ветошкина Д.В., Иванов Б.Н., Проскуряков И.И., Борисова-Мубаракшина М.М.

ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пушкино, Россия
vetoshkina_d@mail.ru

Было обнаружено, что при освещении изолированных тилакоидов в присутствии ингибитора окисления пластогидроксинона цитохромным b6/f комплексом, ДНП-ИНТ, образование супероксидных радикалов вне тилакоидной мембраны составляет около 60% от общего образования супероксидных радикалов в присутствии ингибитора. Предположено, что 40% супероксидных радикалов, образование которых не регистрировалось вне тилакоидной мембраны, вступают в реакцию с пластогидроксиноном внутри тилакоидной мембраны с образованием пероксида водорода. Для изучения протекания реакции между супероксидным радикалом и пластогидроксиноном была использована ксантин/ксантиноксидазная система, генерирующая супероксидные радикалы при окислении ксантина. Добавка ксантин/ксантиноксидазной системы не оказывала деструктивного влияния на функционирование компонентов тилакоидной мембраны, что было показано с помощью измерения максимальных квантовых выходов (Fv/Fm). Были получены одинаковые значения Fv/Fm и в присутствии ксантина и ксантиноксидазы, и в присутствии только ксантина. Было найдено, что внесение компонентов ксантин/ксантиноксидазной системы к суспензии тилакоидов приводило к снижению уровня восстановления пула пластохинона на свету, что вероятно, происходит в результате взаимодействия супероксидного радикала с компонентами пула пластохинона. Полученные данные показывают, что компоненты пула пластохинона участвуют и в восстановлении кислорода до супероксидного радикала, и в восстановлении супероксидного

радикала до пероксида водорода, при этом первое происходит с участием пластосемихинона, а второе – пластогидрохинона.

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-04-09291.

ОЦЕНКА ТЕСТИРУЮЩЕЙ ДОЗЫ КАДМИЯ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ВНУТРИВИДОВОГО ПОЛИМОРФИЗМА ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ ПО УСТОЙЧИВОСТИ К ТОКСИЧЕСКОМУ СТРЕССУ

Дикарев А.В., Дикарев В.Г., Дикарева Н.С.

Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, Обнинск, Россия
ar.djuna@yandex.ru

Изучено влияние различных концентраций тяжелого металла (ТМ) – $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ – на проростки 4 сортов ярового ячменя (Зазерский 85, Jelen, Челябинский 1, Заря). Семена ячменя в количестве 100 штук на вариант проращивали 5 дней рулонным методом в водной культуре с диапазоном доз ТМ от 0 до 1,5 мг/мл при температуре 20°C и у проростков фиксировали среднюю длину ростка и корешка, количество всхожих семян и сильных проростков. Описано подавление ростовых процессов по мере увеличения дозы ТМ, отмечено возникновение морфологических аномалий проростков. Так, в диапазоне концентраций от 0 до 0,3 мг/мл Cd^{2+} длина ростков оставалась примерно на уровне контроля, от 0,3 до 0,7 мг/мл постепенно снижалась, хотя этот процесс происходил медленно, а свыше этой дозы наблюдалось полное подавление развития ростков. Корешки демонстрировали более сильное угнетение. Их средняя длина снижалась уже при минимальных дозах ТМ, и этот процесс непрерывно развивался по мере роста дозы, до тех пор, пока при 1 мг/мл корешки почти исчезали. Таким образом, корешки более чувствительны к влиянию ТМ, поскольку они непосредственно контактируют с поллютантом. Два других показателя – всхожесть и количество сильных проростков не показали значимых закономерностей. При этом самым устойчивым к действию Cd^{2+} оказался сорт Зазерский 85, а самым чувствительным – Заря.

Для изучения причин формирования описанных реакций был проведен цитогенетический анализ. Выявлен рост выхода цитогенетических нарушений по мере увеличения концентрации кадмия, отмечены признаки блокировки пролиферации на поздних стадиях митоза. Отмечены высокие частоты мультиполярных митозов, нерасхождений, агглютинаций, патологических анафаз, что говорит о том, что кадмий вызывает повреждение аппарата веретена деления. Обнаружены дозы ТМ, которые можно рассматривать как относительно безопасные для растения (до 0,3 мг/мл Cd^{2+}), вызывающие существенное угнетение ростовых процессов (0,5 – 0,7 мг/мл) и условно-летальные (свыше 1 мг/мл). Таким образом, по сумме собранных данных можно утверждать, что для целей исследования полиморфизма ярового двурядного ячменя по его устойчивости к действию кадмия можно использовать его дозу 0,35 мг/мл. Показано, что сорта ячменя различаются по устойчивости к действию кадмия, на основе литературных данных рассмотрены вероятные причины формирования наблюдаемых эффектов.

АНАЛИЗ РОСТОРЕГУЛИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ 1,1-ДИХЛОРБЕНЗИЛЦИКЛОПРОПАНА

Дреева И.А., Хабаева З.Г., Гаппоева В.С., Газзаева Р.А., Гаглыева А.Р.

ФГБОУ ВО Северо-Осетинский Государственный Университет им. К. Л. Хетагурова, Владикавказ, Россия
siktir90@mail.ru

В работе изучено влияние синтезированного гетероциклического соединения (1,1-дихлорбензилциклопропан), на изменение показателей роста и развития овощных культур.

При постановке эксперимента оценивали следующие показатели: всхожесть семян, скорость роста, площадь листовой пластинки и общей листовой поверхности, степень пигментированности, сроки цветения и бутонизации, диаметр стебля, объем корневой системы и сухую массу растения. Использовали семена овощных культур: огурца (сорт Изящный), томата (сорт Белый налив) и свеклы (сорт Бордо). В качестве контроля использовали дистиллированную воду и биопрепарат – Эпин-Экстра. Концентрация препарата составляла – 0,002%.

Перед посевом отбирали разрушенные семена. Просеянные семена обрабатывали 96% спиртом и промывали в струе проточной воды для удаления мукора. После часовой промывки семена заливали дистиллированной водой для набухания в течение 3 ч. Семена высевали на лист фильтровальной бумаги, наложенной на стекло и смоченный водой. Края фильтровальной бумаги опускались в воду чашки Петри. Сверху семена покрывались фильтровальной бумагой, в которой проделывали отверстия для обеспечения

аэрации. На протяжении пяти дней, проводили оценку всхожести семян. Затем семена высевали в поддоны с землей. Проводили замеры каждые 48 ч.

Результаты показали значительное сокращение межфазных периодов начала цветения и массового цветения, ранних сроков и интенсивности бутонизации. Растения, обработанные препаратом, имели более развитую корневую систему, увеличился диаметр стебля, площадь листовой поверхности и степень пигментированности листа. Это служит достаточным основанием в пользу повышения функциональных свойств растительного организма, т.к. именно лист является основным ассимиляционным органом растения, обеспечивающим в процессе фотосинтеза весь организм органическими веществами и энергией. Увеличение диаметра стебля сопровождается увеличением прочности стебля, улучшением механической функции его проводящей и опорной базы для листьев, почек, цветков.

Таким образом, вызванные препаратом морфофизиологические изменения всхожести и развития растительного организма обеспечивают его большую устойчивость к неблагоприятным условиям внешней среды. Важное практическое и сельскохозяйственное значение имеет высокая прочность механических и опорных систем, способствующая предотвращению полегания растений.

ИЗУЧЕНИЕ ИММУННОГО ОТВЕТА МХА *PHYSCOMITRELLA PATENS* НА ПОРАЖЕНИЕ ФИТОПАТОГЕННЫМИ БАКТЕРИЯМИ

Егорова Е.Д., Виноградова С.В.

Институт биоинженерии, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия
svetlana.vinogradova@biengi.ac.ru

Изучение формирования иммунитета у растений при поражении фитопатогенами – актуальная задача современной биологии. Фитоиммунитет высших растений против некоторых бактериальных патогенов изучен достаточно хорошо. При изучении взаимодействия *Arabidopsis thaliana* и бактерий *Pseudomonas* было показано, что первичной защитной реакцией растения является синтез активных форм кислорода, фенольных соединений и каллозы.

В настоящее время мох *P. patens* используется в качестве модельного объекта для проведения экспериментов в области клеточной и эволюционной биологии растений. О взаимодействии мхов, первых наземных растений, и бактерий известно сравнительно немного.

Ранее мы подтвердили патогенность штаммов *P. fluorescens* и *P. syringae* для *P. patens* на фенотипическом, цитологическом уровнях в соответствии с постулатами Коха. Целью данной работы является изучение раннего иммунного ответа *P. patens*, инокулированного фитопатогенными бактериями.

Для проведения исследования использовали гаметофоры *P. patens* и инокулировали суспензиями *P. viridiflava*, *P. fluorescens* и *P. syringae*. Детектирование активных форм кислорода проводили с использованием 3,3'-диаминобензидина. Образование каллозы анализировали с помощью окрашивания анилиновым голубым, а накопление фенольных соединений - толуидиновым голубым.

Наиболее существенное воздействие на гаметофоры оказывал штамм бактерии *P. viridiflava*, который вызывал гибель клеток *P. patens* уже на 5-ый день после инокуляции. Мы обнаружили, что инокулирование гаметофоров мха бактериальными фитопатогенами рода *Pseudomonas* (особенно штаммом *P. viridiflava*) приводило к накоплению каллозы и фенольных соединений, а также активных форм кислорода.

Методами GC-MS и электронной микроскопии в зараженных образцах было показано образование олеосом в ответ на избыточный синтез фитостеролов, таких как кампестерол и стигмастерол. Мы также отметили в зараженных образцах накопление токоферола – протектора клеточных мембран от окислительного повреждения.

Таким образом, результаты нашего исследования свидетельствуют о том, что в ответ на поражение фитопатогенными бактериями у *P. patens*, как и у высших растений, в качестве первичного иммунного ответа синтезируются активные формы кислорода, фенольные соединения, происходит накопление каллозы, а также вторичных метаболитов, участвующих в регуляции клеточных мембран и способствующих усилению синтеза защитных веществ в растении.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 13-04-40104 и Гранта Президента РФ МК-7138.2015.4 на базе ЭУИК (U-73547).

ВЛИЯНИЕ СВЕТА ПРЕИМУЩЕСТВЕННО СИНЕЙ ДЛИНЫ ВОЛНЫ И РАЗНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ГУМАТОВ КАЛИЯ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ *TRIFOLIUM PRATENSE* L.

Жигулев А.А.

ФГБОУ ВО Тульский государственный университет, Тула, Россия
artemiyzhigulev@gmail.com

Trifolium pratense L. является адаптогеном и мелиорантом, широко используется как кормовая культура. Целью работы являлось изучение влияния света, преимущественно синей длины волны, и внесения разной концентрации гуматов калия на рост и развитие *Trifolium pratense* L. При этом исследовалось как влияние каждого фактора отдельно, так и их комплексное воздействие.

Для достижения поставленной цели был проведен вегетационный эксперимент. В 8 чашек Петри с 30 г серой лесной почвой было высеяно по 30 семян. В 4-х семена выращивались под естественным освещением, в 4-х других - под светодиодной лампой. Освещение светодиодной лампой с соотношением светодиодов: 7 синих (475нм±20нм) к 1 красному (623нм±20нм) проводилось с учетом длины светового дня.

Влияние гумата калия на вегетацию клевера исследовали при его внесении в рекомендуемой, в большей и в меньшей концентрациях: 0.1, 0.5, 0.05 мг/мл. Четвертая чашка была контрольной. Первые две недели полив осуществлялся растворами гуматов определенной для каждой чашки концентрации. Начиная с третьей недели, полив осуществлялся один раз раствором гуматов калия, остальное время водой. В работе оценивалась всхожесть семян, рост растений и пигментный состав листьев.

Исследование показало, что наибольшая всхожесть семян была под светодиодной лампой с концентрацией гуматов 0.05 мг/мл. Однако на рост клевера свет с преимущественно синей частью спектра влиял отрицательно, что объясняется нехваткой красной части спектра.

Спектрофотометрический анализ показал увеличение содержания пигментов в листьях растений, произраставших под светодиодной лампой, что объясняется нормализацией светосбора и протеканием фотосинтеза в условиях нехватки ФАР: Хла в 1.770, Хл b в 1.252, каротиноидов в 1.587 раз.

В условиях оптимальной освещенности (солнечный свет) добавка гуматов (0.05 и 0.1 мг/мл) не влияла на рост и развитие растения, а в наибольшей концентрации (0.5 мг/мл) рост подавлялся в 2 раза по отношению к контрольному значению без добавления гуматов калия.

Ингибирующий эффект света светодиодной лампы (7:1) на рост и развитие растения снимался при добавлении гуматов калия в концентрации 0.05 мг/мл, причем рост стимулировался для контрольных значений (при выращивании на солнечном свете).

Таким образом, гуматы калия могут быть использованы при выращивании *Trifolium pratense* L. в искусственных условиях в концентрации 0.05 мг/мл.

Результаты исследований расширяют представления об оптимальных условиях для культивирования *Trifolium pratense* L.

ИССЛЕДОВАНИЕ УЧАСТИЯ ТИЛАКОИДНОЙ альфа- карбоангидразы В ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОМ МЕТАБОЛИЗМЕ *ARABIDOPSIS THALIANA*

Журикова Е.М., Игнатова Л.К., Иванов Б.Н.

ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пушкино, Россия
zhurikova-alena@yandex.ru

Карбоангидраза (КА) – цинксодержащий фермент, который катализирует обратимую гидратацию углекислого газа. Среди белков тилакоидных мембран высшего растения *Arabidopsis thaliana* выявлена КА α-семейства, альфа-КА4. Мы установили участие альфа-КА4 в фотосинтетическом метаболизме высшего растения *A. thaliana*, в частности в регуляции энергозависимого нефотохимического тушения (НФТ) флуоресценции хлорофилла *a*.

В работе использовали растения *A. thaliana* дикого типа (ДТ) и мутантные растения, нокаутированные по гену *At4g20990*, кодирующему альфа-КА4 (линии 9-12 и 8-8). Растения выращивали при 8 часовом освещении светом интенсивностью 100 мкмоль квантов/м²с и концентрации CO₂ 450 ppm. С помощью флуориметра mini-RAM («Walz», Германия) измеряли параметры флуоресценции хлорофилла *a* ФС2, а с помощью системы РАМ-101 в сочетании с эмиттерно-детекторным блоком ED-P700DW («Walz», Германия) эффективный квантовый выход ФС1 при насыщающей интенсивности света, 500 мкмоль квантов/м²с, и концентрации CO₂ 800 ppm. Измерение количества пероксида водорода было основано на перекисном окислении люминола. Скорость ассимиляции CO₂ листом измеряли с помощью газоанализатора GFS-3000 в потоке воздуха с концентрацией CO₂ 700 ppm.

Эффективный квантовый выход ФС2, измеренный при стационарном фотосинтезе, у мутантных растений по альфа-КА4 был несколько выше, а квантовый выход ФС1 был значительно ниже, чем у растений ДТ. При этом, в листьях мутантных растений содержание пероксида водорода было в 1,5-2 раза выше, а ассимиляция CO_2 в мутантах $\square$ значительно ниже, чем в растениях ДТ.

Мы предполагаем, что отсутствие альфа-КА4, вызывает перераспределение потоков электронов в электрон-транспортной цепи. Большее светоиндуцируемое накопление H_2O_2 в мутанте может свидетельствовать об увеличении потока электронов, направленного на O_2 , а не на восстановление НАДФ⁺, о чем свидетельствует сниженная ассимиляция CO_2 . Восстановление O_2 , является частью «водно-водного цикла», который приводит к повышенному образованию АТФ, вызывая увеличение биосинтеза крахмала на свету в листьях мутантных растений, что было показано нами ранее.

Исследования поддержаны грантом РФФИ 15-04-03883

ВЛИЯНИЕ ЭНДОФИТНЫХ ШТАММОВ *BACILLUS SUBTILIS* И СУПЕРФОСФАТА НА МИКОРИЗАЦИЮ КОРНЕЙ ПШЕНИЦЫ

Кинзябаева Э.Р., Курамшина З.М.

Стерлитамакский филиал ФГБОУ ВО Башкирского государственного университета, Стерлитамак, Россия
e.kinzyabaeva@mail.ru

Микориза – один из распространенных в природе типов мутуалистических растительно-грибных взаимодействий. Микориза оказывает на растение благоприятное воздействие: за счёт развитого мицелия увеличивается поглощающая поверхность корня и усиливается поступление в растение воды и питательных веществ. Одним из преимуществ микоризы является возможность уменьшения количества применяемых фосфорных удобрений для микоризируемых растений. На формирование микоризы большое влияние оказывают удобрения, вносимые в почву для улучшения роста и развития растений. Одним из часто применяемых видов удобрений являются фосфорные. В практике сельского хозяйства применяются и биопрепараты на основе разнообразных микроорганизмов. Так, некоторые эндофитные штаммы бактерий *Bacillus subtilis* используются в качестве основы препаратов для защиты растений от фитопатогенов. Вносимые в почву удобрения либо ухудшают, либо усиливают микоризообразование у сельскохозяйственных растений. Реакция микоризных растений на удобрения зависит от качества последних, способа внесения и обеспеченности почвы элементами питания. Целью исследований явилось исследование влияния фосфорного удобрения и эндофитного штамма *Bacillus subtilis* на микоризацию растений пшеницы. В качестве фосфорных удобрений использовали суперфосфат. Объектом исследования была пшеница мягкая яровая *Triticum aestivum* L. (сорт Тулайковская золотистая). Для посадки были отобраны крупные ровные семена (по 70 г. семян пшеницы). Для эксперимента использована черноземная почва, суперфосфат вносили в почву согласно инструкции. Часть семян растений обрабатывали суспензией спор (10^6 клеток/мл) эндофитных бактерий *B. subtilis* 26Д и высевали в почву. Через 60 суток растения извлекали из земли и определяли морфометрические параметры. Корни отделяли и проводили количественный учет ВАМ по методу Травло. Для этого корни осветляли в растворе 10%-ного КОН, промывали 2%-ным раствором HCl и окрашивали трепановым синим. При определении степени колонизации микоризы использовали стандартную технику световой микроскопии окрашенных корней. В результате исследований было выявлено снижение показателей микоризации у растений как в случае предварительной обработки семян пшеницы бациллами, так и при внесении в почву суперфосфата. Снижение показателей микоризации корней растений при инокуляции семян бактериями связано, вероятно, с фунгицидной активностью бацилл. При внесении суперфосфата микоризация снижалась в результате наличия в почве легкодоступного фосфора.

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ЭКЗОГЕННЫМ МЕЛАТОНИНОМ В ПРОРОСТКАХ РАПСА *BRASSICA NAPUS* НА СВЕТУ И В ТЕМНОТЕ

Коломейчук Л.В., Мурган О.К., Ефимова М.В.

ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия
kolomeychuklil@mail.ru

Образование активных форм кислорода (АФК) лежит в основе ключевых метаболических процессов; одним из следствий накопления АФК является перекисное окисление липидов мембраны (ПОЛ). Нарушения структуры мембранного бислоя приводят к инактивации мембранных рецепторов и ферментов, нарушению ионного гомеостаза и снижению энергетического потенциала клетки. Контролировать накопление АФК, и,

следовательно, развитие ПОЛ, могут ферментативные и неферментативные системы антиоксидантной защиты, в частности, фитогормон мелатонин.

Нами проведено сравнительное исследование действия экзогенного мелатонина (1 и 10 мкМ) на степень проявления ПОЛ в семядолях и гипокотильях 7-суточных проростков рапса *Brassica napus*, выращенных на селективном свете и в темноте. Интенсивность ПОЛ оценивали спектрофотометрическим методом, основанным на образовании окрашенного комплекса – продукта малонового диальдегида (МДА) в реакции с тиобарбитуровой кислотой при нагревании.

Концентрация МДА в проростках рапса, выросших в темноте, была ниже, чем на белом свете. Соотношение степени ПОЛ в семядолях и гипокотильях этиолированных и деэтиолированных проростков определялось спектральным составом света. Максимальные различия (в 3 раза) наблюдались у проростков, выращенных на зеленом свете и в темноте. Содержание МДА в гипокотильях рапса, выращенного на белом, красном и синем свете было в 2 раза ниже аналогичного показателя семядолей. Экзогенный мелатонин (1 мкМ) снижал накопление малонового диальдегида только в темноте и на красном свете, при этом ответная реакция гипокотилей была выше. Высокая концентрация гормона активировала ПОЛ в темноте и на белом свете.

Таким образом, нами показана зависимость интенсивности перекисного окисления липидов от спектрального состава света и выявлена органоспецифичность накопления МДА в проростках рапса. Выявлена способность мелатонина подавлять развитие ПОЛ, впервые показана зависимость интенсивности действия гормона от условий освещения. Скорее всего, мелатонин проявляет свой эффект самостоятельно или за счет активации других систем антиоксидантной защиты.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ (№16-04-01071-а).

ИЗУЧЕНИЕ ОТВЕТА ПРОРОСТКОВ *ARABIDOPSIS THALIANA* НА НИЗКИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ИОНОВ НАТРИЯ

Кропочева Е.В., Глаголева Е.С., Бибикова Т.Н.

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

katerinakropocheva@yandex.ru

Натрий является биологически активным элементом, способным влиять на рост и развитие растений. Воздействие ионов натрия на растительный организм наиболее широко рассматривается в свете проблемы засоления почв. Создание устойчивых к засолению сортов сельскохозяйственных растений требует понимания работы сигнальной системы, связанной с восприятием растением соли. Высокое содержание солей вызывает осмотический стресс, который может скрывать ответ растения на повышение концентрации отдельных ионов. Мы поставили цель проследить ответ проростков арабидопсиса на небольшие изменения концентрации ионов натрия в среде, не оказывающие влияние на рост и развитие растений.

В своей работе мы использовали 4-6-дневные проростки *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. Для измерения pH и концентрации активных форм кислорода (АФК) вне клетки применяли флуоресцентные красители: флуоресцеин изотионат декстран и ОхуBURST-BSA соответственно. Различные концентрации NaCl добавляли в среду в процессе конфокальной микроскопии. Белковый состав растений, обработанных NaCl в течение 2 часов, изучали с помощью метода двумерного электрофореза с последующей MALDI-TOF – масс-спектрометрией. Экспрессию генов анализировали с помощью количественного ПЦР в реальном времени (Real-time PCR). В качестве контроля, во всех экспериментах мы использовали соответствующие концентрации KCl для исключения влияния осмотических эффектов и хлорид-аниона.

Согласно полученным данным, наименьшая концентрация NaCl, вызывающая изменения pH вблизи поверхности корня арабидопсиса – 3мМ. Данная концентрация соли не влияла на скорость прорастания семян и роста корня. Также, добавление 3 мМ NaCl значительно повышало скорость образования активных форм кислорода. Аналогичная концентрация KCl не вызвала изменений внеклеточного pH или образования АФК. Для идентификации белков, количество которых изменяется при обработке 3мМ NaCl, мы сравнили белковый состав проростков арабидопсиса. Обнаружено, что воздействие NaCl приводило к увеличению количества изоформы Е цитохрома b5. Однако, экспрессия гена, соответствующего этому белку, не отличалась от контроля.

Таким образом, наши результаты показывают, что проростки арабидопсиса способны воспринимать минорные изменения в концентрации ионов натрия в среде, передавать сигнал посредством изменений pH и образования АФК и модифицировать белковый состав в соответствии с этим сигналом.

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ГОРОХА ПОСЕВНОГО ПРИ ДЕЙСТВИИ ХЛОРИДА КАДМИЯ

Кулаева О.А., Жернаков А.И., Афонин А.М., Жуков В.А., Цыганов В.Е., Тихонович И.А.

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

oakulaeva@gmail.com

Высокая актуальность проблемы загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами, в том числе и кадмием, обуславливает необходимость интенсивного исследования молекулярно-генетических механизмов, лежащих в основе устойчивости растений к данным токсичным веществам. Кадмий не является микроэлементом, необходимым для роста большинства растений и животных и не участвует в каких-либо процессах клеточного метаболизма за редким исключением у диатомовых водорослей, у которых он имеет биологическую функцию.

С применением технологии «секвенирования следующего поколения» было проанализировано влияние кадмия на экспрессию генов у линии гороха SGE и полученного на ее основе уникального мутанта гороха SGECD¹, характеризующегося устойчивостью к токсичным концентрациям кадмия.

Суточная обработка растений линии SGE хлоридом кадмия приводила к усилению экспрессии генов, кодирующих переносчики металлов из семейства OPT и ферменты метаболизма глутатиона. Снижение экспрессии было выявлено для генов, кодирующих гликозил-гидролазы, пероксидазы и некоторые АТФ-азы. У мутанта SGECD¹ усиливалась экспрессия генов, кодирующих белки семейства HIPP, относящиеся к металлошаперонам, металлотионеины и гликозил-гидролазы. Снижение экспрессии было выявлено для генов, связанных с окислительным стрессом. Одинаково изменяли свою экспрессию у обеих линий гороха гены, связанные с метаболизмом глутатиона.

При выращивании растений линии SGE в среде содержащей хлорид кадмия в течение трёх суток наибольшее усиление экспрессии было выявлено для генов, кодирующих медь-связывающие белки, пептидазы, ферменты биосинтеза глутатиона и компоненты клеточной стенки. Снижение экспрессии было выявлено для генов, продукты которых участвуют в модификации хроматина. В корнях мутанта SGECD¹ после трёх суток обработки растений хлоридом кадмия усиливалась экспрессия генов, кодирующих белки теплового шока, металлошапероны, регуляторы активности металлотионеинов. Снижение экспрессии было выявлено для генов, кодирующих метилтрансферазы и пероксидазы.

Таким образом, ни у линии SGE, ни у мутанта SGECD¹ не было выявлено какого-либо специфического ответа на действие ионов кадмия. При этом у линии SGE и мутанта SGECD¹ процесс детоксикации кадмия идет разными путями. У мутанта SGECD¹ превалирует изменение систем, связанных с металлсвязывающими белками, что возможно обеспечивает дополнительную устойчивость к кадмию данного мутанта.

Данная работа была финансово поддержана РФФИ (грант 16-34-60132) и НШ-6759.2016.4.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ ОТВЕТ ТРЕХСУТОЧНЫХ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ НА ЭКСПОНИРОВАНИЕ ИСХОДНЫХ СЕМЯН В ПРОТОКЕ ОЗОНО-ВОЗДУШНОЙ СМЕСИ

**Лазукин А.В.^{1,2}, Сердюков Ю.А.¹, Грабельных О.И.^{3,4}, Корсукова А.В.^{3,4}, Забанова Н.С.^{3,4},
Кривов С.А.²**

¹ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия, ²ФГБОУ ВО НИУ «Московский энергетический институт», Москва, Россия, ³ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия; ⁴ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

lazukin_av@mail.ru

В работе приведены обобщенные результаты экспериментальных исследований воздействия выдержки семян в замкнутом объеме в протоке озono-воздушной смеси на морфологию трехсуточных темновых проростков. Данные морфологических испытаний обобщены на основании четырех независимых опытов, проведенных в исследовательских коллективах институтов Иркутска и Москвы. В качестве модельного объекта в работе использованы высококачественные семена мягкой озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта «Иркутская» урожая 2015 года. Эксперименты проведены в 3-4 квартале 2016 года. При этом для озонирования, электросинтеза озона, создания протока газа и измерения концентрации озона в каждом из четырех опытов было использовано идентичное оборудование. Озон синтезировался из влажного атмосферного воздуха, продуваемого через реактор поверхностного разряда. Обработанные семена проращивались в темноте в термостатируемых условиях (24±1°C) на двух слоях фильтровальной бумаги смоченной дистиллированной водой в изолированных емкостях по 50 штук на емкость в трех повторах на вариант. Для гомогенизации

результатов морфологических испытаний использовались методика электрического удара и метод лестничной закладки. Полученные результаты свидетельствуют, что экспонирование семян в протоке озono-воздушной смеси вызывает увеличение средней длины ростка в варианте. Это показано в каждом из четырех экспериментов с учетом нормировки на связанный с опытом контроль. Увеличение среднего достигается за счет заметного уменьшения количества ослабленных проростков. Эффект более выражен для длительных экспозиций (рассматривались экспозиции 15, 30, 45 и 60 мин) и при более значительных концентрациях озона в протоке (рассмотрены концентрации озона от 1 до 5 г/м³ при протоке воздуха 0,5 л/мин). Не отмечено достоверного влияния выдержки семян в озono-воздушной смеси на особенности развития корневой системы проростков (количество корней и средняя длина корневой системы) и на энергию прорастания (трехсуточной всхожести). Также выявлено, что выдержка семян в протоке воздуха в той же геометрии и интенсивности, но без введения озона в воздух, вызывает ингибирование длины ростка. В дальнейшем предполагается установить порог концентрации озона в протоке воздуха, запускающий процесс стимулирования, и выявить взаимосвязь между активностью ключевых ферментов и длительностью экспонирования.

МУТАЦИЯ ГЕНА *ARA7/ATRAVF2B*, ВОВЛЕЧЕННОГО В РЕГУЛЯЦИЮ ВЕЗИКУЛЯРНОГО ТРАНСПОРТА, СТИМУЛИРУЕТ РОСТ И ПОВЫШАЕТ СОЛЕУСТОЙЧИВОСТЬ *ARABIDOPSIS THALIANA* (L.) HEYNH.

Майорова О.В.¹, Орлова Ю.В.¹, Халилова Л.А.¹, Мясодедов Н.А.¹, Шувалов А.В.¹, Карпычев И.В.¹, Беляев Д.В.¹, Балнокин Ю.В.^{1,2}

¹ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; Москва, Россия, ²ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносов, Москва, Россия
oli-ifr.ran@mail.ru

Везикулярный транспорт (ВТ) веществ вовлечен во множество физиологических функций, в том числе процессов, лежащих в основе солеустойчивости растений. Посредством ВТ осуществляется регуляция содержания ион-транспортирующих белков в мембранах. Регуляторами ВТ являются малые ГТФазы, относящиеся к семейству Rab.

В настоящей работе мы сосредоточили внимание на Rab5 ГТФазе *AtARA7/AtRabF2b*. Была исследована связь ВТ с ионным гомеостатированием и солеустойчивостью *Arabidopsis thaliana*. Работу выполняли на растениях дикого типа (ДТ) *A. thaliana* (L.) Heynh. (экотип Col-0) и инсерционном мутанте *ara7* (SALK_090266C) (<http://signal.salk.edu/index.html>). Была охарактеризована мутация *ara7* и определен фенотип мутантных растений. Характеристика мутации включала определение положения вставки в последовательности нуклеотидов мутантного гена *ara7* и влияния мутации на уровень экспрессии *AtARA7*. Для определения фенотипа мутанта изучали рост, содержание Na⁺ и K⁺ в органах, ультраструктуру клеток корня у мутантных растений и растений ДТ, выращенных в условиях водной культуры в присутствии и отсутствии NaCl в питательном растворе (ПР).

Мутация *ara7* привела к существенному увеличению биомассы корней и листьев *A. thaliana* при выращивании растений в условиях засоления, а листьев также и при отсутствии NaCl в ПР. Мутантные растения, выращенные на ПР с NaCl, были способны поддерживать содержание воды на уровне, наблюдавшемся у растений ДТ. В корнях, листьях и цветочных стрелках у мутантов в условиях засоления содержание K⁺ было выше, а содержание Na⁺ ниже, чем у ДТ. Соответственно, отношение содержания Na⁺ к содержанию K⁺ в органах (K⁺/Na⁺), используемое как индикатор солеустойчивости растений, у мутанта было более высоким, чем у ДТ. В целом, полученные данные показывают, что мутация *ara7* стимулирует рост и улучшает ионный и водный статус растений в условиях засоления, что позволяет сделать вывод о более высокой солеустойчивости мутанта *ara7*, чем растений ДТ.

Мы предполагаем, что изменения в ионном статусе и росте *A. thaliana*, вызванные мутацией, обусловлены изменением в содержании ион-транспортирующих белков в плазмалемме. Наиболее вероятными претендентами на роль таких белков являются Na⁺/H⁺ антипортер SOS1 и K⁺ канал KAT1.

Исследование поддержано РФФИ, грант №15-04-04712.

ВЛИЯНИЕ *BACILLUS SUBTILIS* НА АКТИВНОСТЬ КАТАЛАЗЫ РАСТЕНИЙ ГАЗОННОЙ ТРАВЫ В УСЛОВИЯХ НЕДОСТАТОЧНОЙ ОСВЕЩЕННОСТИ

Маркина В.О., Курамшина З.М.

Стерлитамакский филиал ФГБОУ ВО Башкирский государственный университет, Стерлитамак, Россия
vichka_markina_93@mail.ru

Образование активных форм кислорода является одним из ранних ответов клеток растений на стрессовое воздействие абиотической, биотической и антропогенной природы. Активность антиоксидантной системы является одним из механизмов защиты растений от неблагоприятных факторов среды. Для защиты от окислительного стресса растительные клетки содержат конъюгированные ферменты, обезвреживающие кислородные радикалы, например, такие как каталаза. Каталаза – антиоксидантный фермент, который способствует быстрой утилизации перекиси водорода, катализирует дисмутацию перекиси до воды и кислорода.

Известно, что эндофитные бактерии *Bacillussubtilis* оказывают положительное влияние на растения при неблагоприятных факторах среды. Однако остается неясным вопрос о влиянии эндофитных штаммов на устойчивость газонных трав к недостатку света.

В связи с этим, целью настоящего исследования стало изучение влияния эндофитных штаммов *B. subtilis* на активность каталазы растений газонной травы в условиях недостатка света.

Газонную травосмесь сорта «Сибиряк» выращивали в вегетационных сосудах. Часть семян перед посадкой инокулировали *B. subtilis* шт. 26Д и 11ВМ. Опытные растения выращивали при недостатке света. На 30-е сутки определяли активность каталазы по методике Королюка с соавт., 1988. Эксперименты проводили в трех биологических повторностях.

В ходе исследования было отмечено, что у неинокулированных растений, выросших в условиях недостаточного освещения, активность каталазы была ниже на 42,8 %, чем у растений, выросших при нормальном освещении. Однако у растений, обработанных клетками *B. subtilis* и выросших при недостатке света, активность фермента повышалась по сравнению с растениями, выросшими при нормальном освещении. Активность каталазы у растений, инокулированных бактериями *B. subtilis* шт. 26Д и 11ВМ и выросших при недостаточном освещении, была выше в 2,8 и 2,3 раза, соответственно, по сравнению с неинокулированными и выросшими при тех же условиях. Следует отметить, что активность каталазы у инокулированных бактериями *B. subtilis* шт. 26Д и 11ВМ растений, выросших при нормальном освещении, была выше на 50 и 14,3 %, соответственно, чем у необработанных и выросших при тех же условиях.

Таким образом, инокуляция семян газонной травы эндофитами *Bacillussubtilis* шт. 26Д и 11ВМ снижала отрицательный эффект недостатка света у растений, что проявлялось в повышении активности каталазы.

КЛОНИРОВАНИЕ АТФ-азы Р-ТИПА ИЗ МОРСКОЙ МИКРОВОДОРОСЛИ *Dunaliella maritima* И ЕЕ ПРЕДПОЛАГАЕМАЯ РОЛЬ В ТРАНСПОРТЕ ИОНОВ Na^+

Маталин Д.А.¹, Храмов Д.Е.², Карпычев И.В.¹, Попова Л.Г.¹, Шувалов А.В.¹

¹ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия

²ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия
dmatalin@mail.ru

Микроводоросли, обитающие в соленых средах, поддерживают низкие внутриклеточные концентрации Na^+ за счет функционирования в плазматических мембранах (ПМ) Na^+ -транспортирующих АТФаз Р-типа. Для микроводоросли *Dunaliellamaritima* Na^+ -АТФаза Р-типа была продемонстрирована в экспериментах на выделенных везикулах ПМ (Porova et al., 2005). Была поставлена задача клонировать Na^+ -АТФазу из *D.maritima* с целью исследования экспрессии и функциональной активности этого фермента. На основе двух консервативных аминокислотных мотивов АТФаз Р-типа были созданы вырожденные нуклеотидные праймеры для поиска последовательности Na^+ -АТФазы *D.maritima* методом ПЦР. С этими праймерами, на матрице тотальной РНК из *D.maritima*, был амплифицирован фрагмент кДНК (771 п.н.). Секвенирование показало, что полученный фрагмент идентичен срединному фрагменту H^+ -АТФазы ПМ экстремально галотолерантной микроводоросли *D.salina* (белок АВВ88698.1). Исходя из схожести фрагментов АТФаз *D.maritima* и *D.salina*, на основании известной полноразмерной последовательности АТФазы *D.salina*, были подобраны праймеры для амплификации кДНК, содержащей ORF для АТФазы *D.maritima*. Амплифицированная последовательность была клонирована в вектор pYES2. Секвенирование показало, что она содержит ORF (2772 п.н.) для АТФазы, идентичной H^+ -АТФазе *D.salina*.

Параллельно проведенный анализ *in silico* транскриптомов родственной микроводоросли *D.tertiolecta* не обнаружил АТФаз Р-типа, относящихся к Na^+ -АТФазам. Среди прочих АТФаз были выявлены две разные H^+ -

АТФазы (HA1Dte и HA2Dte) и две Ca^{2+} -АТФазы (CA1 Dte и CA2 Dte). АТФаза HA2 Dte оказалась идентична клонированной АТФазе *D.maritima* (обозначена HA2 Dma). На основе данных о последовательностях H^{+} - и Ca^{2+} -АТФаз *D.tertiolecta* были выбраны праймеры для клонирования частичных последовательностей АТФаз *D.maritima*. Были клонированы фрагменты АТФаз *D.maritima* HA1 Dma и CA1 Dma. Методом qRT-PCR мы оценили относительный уровень представленности транскриптов трех АТФаз *D.maritima* (HA1 Dma, HA2 Dma, CA1 Dma) при гиперосмотическом солевом шоке (ГСШ). Результаты показали, что при ГСШ происходит индукция транскрипции гена HA2 Dma, тогда как относительный уровень представленности транскриптов для HA1 Dma и CA1 Dma падает на ранних стадиях ГСШ и остается низким в ходе ответа клеток на ГСШ. Данные свидетельствуют, что АТФаза HA2 Dma необходима для преодоления клеткой гиперосмотического солевого стресса, возможно, участвуя в транспорте ионов Na^{+} .

Исследование поддержано РФФИ, грант №16-04-01544.

АНАЛИЗ ПРОДУКТОВ РАСПАДА УГЛЕВОДНЫХ ПОЛИМЕРОВ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ ПРИ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ФИТОПАТОГЕННОЙ БАКТЕРИЕЙ *PESTOBACTERIUM ATROSEPTICUM* SCRI1043

Меликова Д.А., Горшков В.Ю.

ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
dianamelikova95@mail.ru

Возбудители «мягких гнилей» всегда считались типичными некротрофами, взаимодействующими со своим хозяином за счет «грубой силы» («brute-force pathogens»), а именно массивной продукцией экстраклеточных ферментов, разрушающих клеточную стенку растений (Charkowski *et al.*, 2012). При этом особенности разрушения растительных полисахаридов при инфекциях, вызванных пектобактериями, остаются не выясненными.

При инфицировании растений клетками *P. atrosepticum* у хозяина проявлялись симптомы заболевания, выражающиеся обширной мацерацией тканей и некрозом клеток. Через 5-6 суток растения погибали. Отбор образцов для анализа продуктов разрушения полисахаридов проводили через двое-трое суток после инфицирования.

После гомогенизации растительных тканей нами были последовательно отобраны следующие фракции полисахаридов клеточной стенки из контрольных и инфицированных растений: фракции, экстрагируемые 1) фосфатным буфером, 2) оксалатом аммония и 3) гидроксидом калия.

Нами было продемонстрировано, что в ходе инфекции, вызванной *P. atrosepticum*, происходит разрушение ионно-связанных пектиновых веществ растительных клеточных стенок, о чем свидетельствует изменение профиля элюции оксалат-экстрагируемых полисахаридов и снижение содержания углеводов этой фракции в 3 раза. Развитие инфекции, вызванной *P. atrosepticum*, сопряжено с изменением профиля связующих гликанов растительной клеточной стенки, экстрагируемых гидроксидом калия, и снижением их содержания на 25%. Часть пектиновых полисахаридов растительной клеточной стенки при колонизации растений *P. atrosepticum* разрушается до высокомолекулярных продуктов с молекулярной массой более 100 кДа; эти фрагменты экстрагируются из гомогенатов тканей фосфатным буфером и, следовательно, не имеют прочной связи с клеточной стенкой; доминирующая часть этих фрагментов представляет собой пектиновые вещества, а именно рамногалактуронан I и полигалактуроновою кислоту. В инфицированных *P. atrosepticum* растениях картофеля при развитии симптомов «черной ножки», также как в инфицированных растениях табака увеличивается содержание полисахаридов в буфер-экстрагируемой фракции по сравнению с контрольными растениями; среди этих полисахаридов присутствуют фрагменты рамногалактуронана I.

ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ ФЕРМЕНТА ДАГАТ НА СТАДИЯХ МАКСИМАЛЬНОГО НАКОПЛЕНИЯ НЕОБЫЧНЫХ ТАГ У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА БЕРЕСКЛЕТ

Павленко О.С.^{1,2}, Лиходеевский Г.А.³, Садовская Н.С.¹, Сидоров Р.А.¹

¹ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия, ²ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия, ³ФГАОУ ВПО Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия
helliga.p@gmail.com

В состав запасных липидов растений могут входить как обычные триацилглицериды (ТАГ), так и их аналоги, *sn*-1,2-диацил-3-ацетилглицериды (АсДАГ), у которых *sn*-3-положение этерифицировано остатком

уксусной кислоты. Соотношение в составе запасных липидов ТАГ разного жирнокислотного состава, а также их аналогов, зависит от функционирования различных изоформ диацилглицеринацилтрансферазы (ДАГАТ), которая осуществляет превращение диацилглицерида в ТАГ. Роль различных ДАГАТ в биосинтезе ТАГ, по-видимому, зависит от вида растения. Установлено, что у растений, в составе ТАГ которых содержатся только обычные ЖК, ключевым ферментом, участвующим в накоплении масла в семенах, является ДАГАТ-1, в то время как ДАГАТ-2 отвечает за накопление масла у растений, в составе ТАГ которых преобладают необычные ЖК. У растений уровень экспрессии разных генов ДАГАТ варьирует в зависимости от ткани, органа и этапа развития организма, также изменение экспрессии генов может быть ответом на стрессовые воздействия.

Растения рода бересклет способны накапливать запасные липиды в семенах и ариллусах плодов. Запасные липиды семян большинства исследованных видов бересклетов на 80–98% состоят из *АсДАГ* и лишь на 2–15% – из ТАГ обычного состава. При этом, в липидном составе ариллусов наблюдается обратная картина, поскольку околоплодники содержат преимущественно ТАГ. Следует отметить, что семена и ариллусы могут значительно отличаться между собой по составу запасных липидов, а разные виды бересклета характеризуются специфической динамикой накопления ТАГ и их аналогов на разных этапах созревания плода. Так максимальное содержание *АсДАГ* у бересклета Максимовича (*E. maximoviczianus* (Prokh.)) приходится на ранние стадии развития плода, а у бересклета европейского (*E. europaeus* L.) – на стадию зрелого плода.

В своем исследовании мы оценили уровень экспрессии двух генов ДАГАТ (ДАГАТ-1 и ДАГАТ-2) на стадиях максимального содержания *АсДАГ* в ариллусах бересклета Максимовича и бересклета европейского. Показано, что у бересклета европейского выявлена экспрессия только гена ДАГАТ-2, тогда как у бересклета Максимовича наблюдалась экспрессия генов и ДАГАТ-1, и ДАГАТ-2. При этом, уровни экспрессии ДАГАТ-2 относительно уровня экспрессии гена актина у бересклета Максимовича и бересклета европейского составили 82% и 250%, соответственно. По-видимому, экспрессия генов ДАГАТ у этих видов бересклетов контролируется специфическими механизмами, для выяснения которых требуется проведение дополнительных исследований.

ВЛИЯНИЕ *BACILLUS SUBTILIS* НА СОДЕРЖАНИЕ МАЛОНОВОГО ДИАЛЬДЕГИДА В ПОБЕГАХ ПШЕНИЦЫ ПРИ ИМИТАЦИИ ПОЧВЕННОЙ ЗАСУХИ

Саттарова Л.Р., Курамшина З.М.

Стерлитамакский филиал ФГБОУ ВО Башкирский государственный университет, Стерлитамак, Россия
liliya-sattarova-dm@mail.ru

Засуха является одним из наиболее распространённых неблагоприятных факторов окружающей среды. При воздействии засухи у растений в первую очередь повреждаются мембранные структуры, и, как следствие, происходит увеличение содержания малонового диальдегида (МДА) – продукта окисления липидов в растительных тканях. Для увеличения продуктивности и устойчивости культурных растений особое внимание уделяется использованию бактериальных препаратов, изготовленных на основе штаммов эндофитных штаммов *Bacillus subtilis*. Целью данной работы явилось изучение влияния инокуляции семян пшеницы эндофитными штаммами бактерий *Bacillus subtilis* шт. 26Д на содержание малонового диальдегида в условиях имитации почвенной засухи. Семена растений *Triticum aestivum* L обрабатывали суспензией спор (10^6 клеток/мл) эндофитных бактерий *B. subtilis* 26Д и высевали в почву. Почвенную засуху имитировали следующим способом. После посева семян почву поливали дистиллированной водой до влажности 70 % от полной полевой влагоемкости, которую определяли расчетным методом. После появления всходов контрольными растениями служили те, которые поливались из расчета создания 70 % влажности почвы. Опытные растения (имитация засухи) выращивались в сосудах, в которых влажность почвы поддерживалась на расчетном уровне 30 % от полной полевой влагоемкости. Через 30 дней измеряли биомассу растений и содержание МДА в побегах. Навеску 250 мг растительной ткани гомогенизировали с 4 мл 20%-ного раствора трихлоруксусной кислоты, с последующим центрифугированием в течение 20 мин при 8000 об/мин. Затем к 1 мл реакционной смеси добавляют 4 мл 0,5%-ного раствора тиобарбитуровой кислоты. Смесь инкубируют в течение 30 мин при 95°C на водяной бане. Реакционную смесь охлаждают и центрифугируют в течение 12 мин при 8000 об/мин. Измерение оптической плотности проводят при длине волны 532 нм и 600 нм. В результате проведенных исследований было выявлено, что растения, неинокулированные бактериями и растущими в условиях недостатка влаги, имели высокие показатели содержания МДА, в отличие от растений, инокулированных бактериями и подвергнутых засухе. Следует отметить, что растения, инокулированные *B. subtilis* и выросшие при нормальной влажности почвы, имели более низкие показатели МДА, чем необработанные бактериями растения и выросшие при оптимальном увлажнении почвы. Таким образом, в условиях засухи обработка спорами эндофитного штамма бактерий *B. subtilis* 26Д способствовала снижению отрицательного эффекта засухи у растений.

КРИОСОХРАНЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИ ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ КОРНЕЙ ШЛЕМНИКА БАЙКАЛЬСКОГО МЕТОДОМ ИНКАПСУЛЯЦИИ-ДЕГИДРАТАЦИИ

Соловьева А.И., Степанова А.Ю., Высоцкая О.Н.

ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия

shyjoval.aleksandra@rambler.ru

Scutellaria baicalensis – лекарственное растение, экстракты корней которого обладают широким спектром физиологической активности, в том числе цитотоксической. Это связано с содержанием в них более 125 соединений фенольной природы, среди которых выделяют четыре доминирующих флавонола: байкалин, байкалеин, вогонин и вогонозид. Культивируемые *in vitro* корни генетически стабильны, приближены по морфологии и степени дифференциации к корням интактных растений и обладают стабильным уровнем синтеза вторичных соединений. Штамм генетически трансформированных корней, на котором проводится наше исследование, является уникальным. Преобладание содержания вогонозида имеет большое практическое значение, поскольку его агликон – вогонин обладает способностью избирательно индуцировать апоптоз онкогенных клеток, не затрагивая при этом обычные диплоидные клетки. Однако, длительное культивирование *in vitro* связано с необходимостью периодической пересадки образцов на свежие питательные среды. В связи с этим возрастает риск их потери из-за инфицирования. Криосохранение культивируемого *in vitro* растительного материала позволяет снизить до минимума вероятность потери ценных образцов и сократить материальные затраты на поддержание коллекций. Криосохранению культивируемого *in vitro* растительного материала шлемника байкальского посвящена одна единственная работа, выполненная корейскими исследователями. Ее объектом исследования была суспензионная культура *Sc. baicalensis*, которую подвергали криосохранению с помощью протокола медленного замораживания. При этом авторы не регистрировали изменения содержания единственного флавонола – байкалина. Таким образом, протоколов криосохранения для других типов растительного материала шлемника байкальского, в том числе генетически трансформированных корней, до сих пор не разработано. Таким образом, важно создать эффективный протокол криосохранения генетически трансформированных корней *Sc. baicalensis*. На данный момент нами получены первые положительные результаты по криосохранению генетически трансформированных корней *Sc. baicalensis* методом инкапсуляции-дегидратации. Достигнута посткриогенная выживаемость 7.3%. Показано, что добавление 0.3 М сахарозы в состав альгинатных капсул обеспечивает лучшее восстановление данного растительного материала, по сравнению с концентрацией сахарозы 0.1 М.

ИССЛЕДОВАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ РАЗЛИЧНЫХ ОТДЕЛОВ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА ПАМ – ФЛУОРИМЕТРИИ И СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ

Степанова В.А., Шаланов В.В.

ФГАОУ ВО Самарский национальный исследовательский университет им. академика С.П. Королева, Самара, Россия

vera_stepanova_94@list.ru

В данной работе было проведено исследование фотосинтетических показателей различных отделов высших растений с помощью метода ПАМ - флуориметрии и спектрофотометрии. Данные методы позволили нам проследить степень развитости и различия фотосинтетического аппарата, также нами были вычислены концентрации фотосинтетических пигментов, рассматриваемых образцов растений при соответствующих длинах волн - хлорофилл *a* - $\lambda=662$ нм, хлорофилл *b*: $\lambda=644$ нм, каротиноиды: $\lambda=440,5$ нм. При этом, было выявлено различие фотосинтетических показателей между образцами, располагающимися последовательно в эволюционном порядке.

Полученные значения спектров поглощения спектров флуоресценции были обработаны нами при помощи программы Origin 8.1. На основе данных показателей нами были составлены графики, отражающие разницу в поглощении и флуоресценции фотосинтетических пигментов растений. Также нами были вычислены концентрации фотосинтетических пигментов, и на основании полученных данных был проведен сравнительный анализ между представленными образцами экстрактов растений, в результате которого, нами выявлено: чем более развитую структурную организацию имеет представитель какого-либо отдела высших растений, тем выше концентрация фотосинтетических пигментов, а также выше такие важные физиологические свойства как поглощаемость и флуоресценция.

Нами было установлено, что наибольшую концентрацию фотосинтетических пигментов имеет отдел покрытосеменных растений в силу своей наиболее эволюционно развитой структурной организации, также фотосинтетические пигменты данного отдела обладают наиболее высокой поглотительной способностью и способностью к флуоресценции. Нами было обнаружено, что представители голосеменных и однодольных

растений обладают меньшей концентрацией фотосинтетических пигментов по причине специфики строения хвойной листовой пластины, где низкие фотосинтетические показатели листьев компенсируются их количеством. В образцах однодольных растений наблюдается низкая концентрация фотосинтетических пигментов в силу полифункциональности листовой пластины, а также по причине адаптаций к изменяющимся условиям окружающей среды.

ВЛИЯНИЕ ЦИНКОВЫХ УДОБРЕНИЙ НА УРОЖАЙНОСТЬ ГИБРИДОВ КУКУРУЗЫ РАЗНОЙ ГРУППЫ СПЕЛОСТИ

Тафий М.Д., Николайчук В.И., Вакерич М.М., Белчгази В.И., Горват Я.В., Гедзур Т.И.

Ужгородский Национальный Университет, Ужгород, Украина
vanja_tafij@mail.ru

В Украине кукуруза одна из самых важных кормовых культур, очень выгодна для производства. Особенно при условии использования новых гибридов и агротехнологий. Благодаря правильному подбору гибридов, использования качественных семян и нового технологического оборудования, конкурентоспособность значительно увеличилась. Благодаря успехам наших селекционеров, нам удалось повысить потенциал урожайности 12-15 т/га.

Роль микроэлементов, как ферментных систем и биокатализаторов, трудно переоценить. Цинк - основной микроэлемент для кукурузы. Нехватка цинка снижает продуктивность и качество урожая, снижает накопление углеводов, повышает жаро- и засухоустойчивость растений.

Кукуруза - растение с продолжительным вегетационным периодом, усваивает микроэлементы до начала восковой зрелости семян, продуцируя большую вегетативную массу. В растениях гибридов, которые удобрялись растворами нитрата цинка низких концентраций, наблюдаем улучшение мощности стеблей, насыщенности цвета, количества, веса семян в початке, длины и диаметра початка.

Объект исследований - 9 гибридов кукурузы разных групп спелости, отличающихся серией признаков: тип семян, устойчивость к фузариозу, группа спелости. Для оценки влияния цинка нами выбрано разные варианты исследования. Растения проращивали на фильтр-бумаге Whattman №2 в 10 мл. 0,01% и 0,02% водными растворами $Zn(NO_3)_2$ (ч. д. а.). Растения произрастали при температуре 20°C, влажности 80% и освещения лампами дневного света (16 часов в сутки). В контроле вместо растворов - дистиллят. Повторяемость пятикратная. Достоверность проверена статистически.

Согласно результатов исследования мы можем утверждать, что подпитка цинковыми удобрениями плодотворно сказывается на продуктивности гибридов: Евралис - увеличение количества массы 1000 семян растений, подпитанных 0,01% нитратом цинка на 16% в сравнении с контролем, в гибридах ДКС 1 - 4%, ДКС 2 - 17%, ДКС 3 - 13%, ДКС 4 - 28%, ДКС 5 - 14%, ДКС 6 - 7%, 230 СВ - 23%, 300 МВ - 25%.

ПОТЕНЦИАЛ ТЕРМОСТАБИЛЬНОЙ ЛИХЕНАЗЫ КАК БЕЛОК-СТАБИЛИЗИРУЮЩЕГО ПАРТНЕРА ДЛЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ И РАСТИТЕЛЬНЫХ СИСТЕМ ЭКСПРЕССИИ

Тюрин А.А.^{1,2}, Павленко О.С.^{1,2}, Кабардаева К.В.^{1,2}

¹ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия

²ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия

alexjofar@gmail.com

В ходе исследования оценена устойчивость термостабильность лихеназы к протеолитическим ферментам, и, главное, возможность интеграции крупных аминокислотных последовательностей — целевых белков — внутрь молекулы самой лихеназы.

Нами экспериментально определено, что каталитический модуль лихеназы устойчив к действию различных протеиназ *in vitro*.

Для того, чтобы оценить потенциал термостабильной лихеназы, как белок-стабилизирующего партнера при наработки рекомбинантных белков, мы применили метод «вставки доменов» и использовали модельные флуоресцентные белки GFP и RFP, а также потенциальные целевые белки - интерферон αA и два белка *Mycobacterium tuberculosis* Esat6 и Cfp7. Для оценки потенциала лихеназы конструировали гибридные белки, в которых модельные или целые белки были интегрированы в виде внутреннего домена в две области каталитического модуля лихеназы, а именно в область 53 и/или 99 а.о. Продемонстрировано, что все сконструированные белки эффективно экспрессируются в бактериальных и растительных клетках, при этом уровень гибридных белков был выше, чем нативных модельных и целевых белков. Дополнительно, наши результаты продемонстрировали, что использование термостабильной лихеназы, как белок-стабилизирующего

партнера, дает возможность получать функциональные двойные и тройные химеры; может быть полезна для решения проблемы получения растворимой формы IFN- α в составе слитого белка; привлекательно для дизайна вакцин, в том числе и мультиэпитопных; имеет дополнительные преимущества для быстрой и экономичной очистки слитых целевых белков при осаждении нецелевых белков этанолом.

Исследования выполнены при финансовой поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований, грант № 16-34-00249 мол_а

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИЦИДНОЙ И ФУНГИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ РАСТЕНИЙ РОДОВ *MARANTA* И *SPATHIPHYLLUM*

Фофанов М.В., Филя Т.В., Фортигина П.А., Филиппова Ю.Ю.

ФГБОУ ВО Челябинский государственный университет, Челябинск, Россия

MVFofanov@mail.ru

Фитонциды – обширная группа химических веществ, обладающих бактерицидными и фунгицидными свойствами. Они содержатся в семенах, фруктах, листьях, стеблях, цветках и клубнях самых различных растений.

Цель работы: определение бактерицидной и фунгицидной активности растений родов *Maranta* и *Spathiphyllum*.

Материалы и методы.

Поиск родов/видов растений, у которых ранее не были обнаружены бактерицидные и фунгицидные свойства, осуществлялся с использованием международной базы данных NCBI. В результате анализа нами были выбраны представители родов *Maranta* и *Spathiphyllum*.

Для определения бактерицидной и фунгицидной активности летучих фитонцидов исследуемых растений был применен дистанционный метод исследования с использованием эталонных штаммов микроорганизмов: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) и *Candida albicans* (ATCC 10231).

Метод: в стерильный ламинарный шкаф помещали выбранные нами растения вместе с чашками Петри с питательной средой, предварительно засеянной культурой микроорганизмов. Через 24 часа инкубации (при 25°C, с освещением) чашки убирали в термостат (37°C) на 48 часов. Затем проводили подсчёт количества выросших колоний микроорганизмов (КОЕ). Параллельно в качестве контроля проводили все манипуляции с бактериями/грибами без присутствия растений. Каждое измерение проводили в 8 повторностях.

В ходе статистической обработки для оценки значимости межгрупповых различий использовали критерий Манна-Уитни с поправкой Бонферрони.

Результаты.

1. Количество микроорганизмов *S. aureus*, выросших на чашках Петри, которые инкубировались с выбранными растительными объектами, было статистически значимо меньше числа бактерий, выросших на контрольных чашках. Это может свидетельствовать о высокой бактерицидной активности летучих фитонцидов растений родов *Maranta* и *Spathiphyllum*.

2. Не было обнаружено статистически значимых отличий в количестве грибов *C. albicans*, выросших в присутствии/при отсутствии растений обоих исследуемых нами родов. Поэтому мы можем предположить, что растения родов *Maranta* и *Spathiphyllum* не обладают фунгицидным действием.

Таким образом, впервые нами была показана бактерицидная активность летучих фитонцидов растений родов *Maranta* и *Spathiphyllum* в отношении *S. aureus*. *S. aureus* – один из наиболее опасных возбудителей госпитальных инфекций, который может быть полирезистентен к большинству известных на сегодняшний день антибиотиков. Выявление молекулярных основ данного эффекта может помочь в создании антибиотиков нового поколения.

РОЛЬ СИМБИОТИЧЕСКИХ ГЕНОВ ГОРОХА (*PISUM SATIVUM* L.) *SYM11*, *SYM14* И *SYM36* В ФОРМИРОВАНИИ ИНФЕКЦИИ ПРИ СИМБИОЗАХ С АРБУСКУЛЯРНО-МИКОРИЗНЫМИ ГРИБАМИ И КЛУБЕНЬКОВЫМИ БАКТЕРИЯМИ

Хайруллина М.М.¹, Штарк О.Ю.²

¹ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

²ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

x.mania2012@yandex.ru

Горох посевной образует арбускулярную микоризу (АМ) с грибами филы *Glomeromycota* и азотфиксирующие клубеньки с бактериями *Rhizobium leguminosarum*. Развитие этих симбиозов контролируется симбиотическими генами растения, среди которых выявляют общие гены, участвующие в обоих симбиозах, и уникальные, необходимые только для АМ или клубеньков. В данном исследовании с использованием световой и конфокальной микроскопии продемонстрировано, что мутация в гене *Sym36*, приводящая к отсутствию клубеньков, приводит также к нарушению проникновения АМ-гриба *Rhizophagus irregularis* через ризодермис. У мутантной линии RisNod26 (*sym36*) эти нарушения выражены сильнее, чем у линии RisNod24 (*sym36*). У обеих линий выявлены мутации в последовательности, имеющей высокий уровень сходства с геном *Medicago truncatula* (Mt) *VAPYRIN*. С использованием компьютерного моделирования продемонстрировано, что у RisNod26 мутация может вызывать существенное изменение вторичной структуры белка. Результаты косегрегационного анализа подтвердили гомологию гена *Sym36* с геном *MtVAPYRIN*. Таким образом, мутант RisNod26 несет более сильную мутантную аллель гена *Sym36* (*Psvapyrin-1*), а RisNod24 – более слабую (*Psvapyrin-2*). С использованием световой и конфокальной микроскопии показано, что мутация в гене *Sym11*, приводит к нарушению процесса инфекции как бактериями, так и АМ-грибом на стадии проникновения в ризодермис, а также к нарушению органогенеза клубенька. У мутантов N24 (*sym11*) и E135n (*sym14*) выявлены сходные нарушения развития инфекционной нити: блок инфекции на стадии колонизации бактериями скрученного корневого волоска. С использованием количественной ПЦР проведен анализ экспрессии симбиотических генов *NSP1* (*Nodulation Signaling Pathway 1*), *VAPYRIN* и *RPG* (*Rhizobial Polar Growth*) в корнях мутантов гороха по генам *Sym11* и *Sym14* исходной линии Sparkle, инокулированных клубеньковыми бактериями и АМ-грибами. Показано, что (i) ген *NSP1* экспрессируется в корнях гороха конститутивно и независимо от типа симбиоза или мутации в генах *Sym11* и *Sym14*; (ii) мутация в гене *Sym11* приводит к снижению экспрессии гена *VAPYRIN* в корнях, инокулированных клубеньковыми бактериями и не влияет на экспрессию этого гена при микоризации; (iii) экспрессия гена *RPG* специфична для корней, инокулированных клубеньковыми бактериями. Отсутствие экспрессии гена *RPG* у мутантов по генам *Sym11* и *Sym14* позволяет полагать, что оба гена могут участвовать в сигнальном пути, регулирующем функционирование гена *RPG* у гороха.

Исследование поддержано грантами РНФ (14-24-00135 и 16-16-00118) и РФФИ (16-04-01859) и СПбГУ (1.37.534.2016).

ОСОБЕННОСТИ РОСТА И ВТОРИЧНОГО КАРОТИНОГЕНЕЗА У ПРИЧЕРНОМОРСКИХ ИЗОЛЯТОВ ЗЕЛЕННОЙ МИКРОВОДОРОСЛИ *HAEMATOCOCCUS PLUVIALIS* FLOTOW (*VOLVOCALES*)

Челебиева Э.С.¹, Данцюк Н.В.¹, Чеканов К.А.², Чубчикова И.Н.¹, Дробецкая И.В.¹, Минюк Г.С.¹

¹ФГБУН Институт морских биологических исследований им. А. О. Ковалевского РАН, Севастополь, Россия

²ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

elina.chelebieva@gmail.com

Одним из условий решения проблемы организации массового культивирования зеленой микроводоросли *Haematococcus pluvialis* Flotow (*Volvocales*), как промышленного источника природного кетокаротиноида астаксантина (Аст) в Причерноморской зоне России, является поиск и введение в культуру местных штаммов, адаптированных к субтропическим климатическим условиям и, одновременно с этим, обладающих экономически оправданной продуктивностью по биомассе и астаксантину.

Целью работы было исследование особенностей роста и накопления Аст у трёх причерноморских изолятов *H. pluvialis*. Штамм IMBR-1 (NCBI, KU193764.1) выделен в субтропической зоне Причерноморья (окрестности г. Адлер), штамм IMBR-2 (NCBI, KU193763.1) обнаружен в высокогорном районе центрального Кавказа на ледниковом склоне ущелья Безенги (2500 м над уровнем моря), штамм IMBR-3 (NCBI, KU193762.1) выделен в умеренно-континентальном климате (г. Севастополь).

В работе использовали метод двухстадийной накопительной культуры. На I стадии штаммы выращивали на модифицированной питательной среде ОНМ при плотности потока ФАР $68 \mu\text{E} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1})$, $T 21^\circ\text{C}$, скорости продувки культур газо-воздушной смесью $1 \text{ л} \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{л}^{-1}$. Индукцию вторичного каротиногенеза (ВКГ) осуществляли путём создания дефицита N ($4,12 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$), P ($5,32 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$) и увеличения интенсивности ФАР до $238 \mu\text{E} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1})$. В процессе культивирования регистрировали: численность и средние объёмы ($V_{\text{ср}}$) клеток, удельную скорость роста (μ), продуктивность ($P_{\text{ср}}$) культур по сухому веществу и каротиноидам (Кар), содержание и состав пигментов в культурах, клетках и биомассе.

Показано, что высокогорный и равнинные штаммы существенно различались по ряду морфо-физиологических признаков: размерной структуре популяций клеток, скорости их деления и накопления каротиноидов.

Так, холодолюбивый высокогорный штамм IMBR-2 существенно уступал равнинным теплолюбивым штаммам по средним размерам вегетативных клеток (в 1,7-2,4 раза), $\mu_{\text{макс}}$ (в 1,9-2,4 раза) и содержанию суммарных Кар в культуре и сухой биомассе, как на зелёной, так и на красной стадиях (1,2-1,8 раз, соответственно). Выход суммарных Кар с учетом разведения культур при переходе на красную стадию из литра исходной культуры (за 20 суток культивирования) у штаммов IMBR-1 и IMBR-3 был сходным и составил $380\text{--}390 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$; против $270 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ у высокогорного IMBR-2. При этом относительное содержание эфиров Аст в суммарных Кар было близким (87-88%).

СОДЕРЖАНИЕ ПРОЛИНА В ЛИСТЬЯХ ОВСА ПОСЕВНОГО ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ NaCl-ЗАСОЛЕНИЯ И КИСЛОТНОСТИ КОРНЕВОЙ СРЕДЫ

Четина О.А., Акбулякова Г.М., Мурсалимова Г.Р.

ФГБОУ ВО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия
lymar11@rambler.ru

Галофитные и гликофитные виды растений имеют некоторые общие механизмы устойчивости к засолению, прежде всего, стресс-индуцированное накопление осмопротекторов и активизация антиоксидантной защиты. В функционировании их защитных систем важнейшее значение отводится пролину, защищающему белково-липидные комплексы путем обезвреживания гидроксильных радикалов и других активных форм кислорода, повреждающих биомембраны. Проллин вовлекается в сложную регуляцию генов различных изоформ супероксиддисмутазы. Проллин – один из самых распространенных осмолитов, поддерживающих осмотический потенциал клетки. Образование пролина в условиях стресса является способом регуляции pH цитозоля. В современной физиологии растений практически отсутствуют сведения о совместном воздействии на высшие растения засоления и кислотности/щелочности корневой среды. Таким образом, исследование механизмов устойчивости растений к совместному воздействию засоления и кислотности является актуальным.

Цель работы – установить изменение в содержании пролина в связи с адаптацией растений к совместному воздействию NaCl-засоления и кислотности корневой среды.

Модельные опыты по устойчивости проведены с овсом посевным *Avena sativa* L. Растения выращивали на вермикулите с раствором Кнопа в течение 5-7 дней, затем в вермикулит добавляли растворы хлористого натрия и уксусной кислоты для формирования солевой и кислой среды. Содержание пролина изучали через 10-12 часов после стресса.

Пролин в надземных органах определили по (Bates et al.). Повторность определений – 3-кратная. Достоверность различий между вариантами устанавливали по критерию различия сдвига Ван дер Вардена (при уровне значимости меньше 0,05 принимается гипотеза о различии выборок).

Овес выращивали на вариантах разного засоления NaCl, при pH7 и pH3. В листьях овса посевного на всех вариантах засоления и кислотности корневой среды отмечено более высокое содержание пролина относительно контроля. При кислотности корневой среды (pH 3) накопление пролина несколько снижено ($107\text{--}192 \text{ мг} / 100 \text{ г}$ сухой массы растений) относительно вариантов с нейтральной реакцией корневой среды ($158\text{--}292 \text{ мг} / 100 \text{ г}$ сухой массы), вероятно, из-за угнетения растений.

Таким образом, подтвердилось участие пролина в формировании устойчивости овса посевного при совместном воздействии засоления и кислотности (различия между вариантами оказались математически достоверны). Двухфакторный дисперсионный анализ подтвердил достоверное влияние кислотности ($F=22$; $p=0,0002$) и разных уровней засоления ($F=10,39$; $p=0,04$) на накоплении пролина в надземных органах.

ОБРАБОТКА ПРОДУКТАМИ ПОВЕРХНОСТНОГО РАЗРЯДА СЕМЯН ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР.

Шамова И.В.¹, Лазукин А.В.^{1,2}, Кривов С.А.¹

¹ФГБОУ ВО Национальный исследовательский университет «Московский энергетический институт», Москва, Россия, ²ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия
shamova1995@gmail.com

В данной работе проводились исследования воздействия продуктов поверхностного диэлектрического барьерного разряда на длину ростка, длину корневой системы трехсуточных проростков на энергию прорастания семян таких зерновых культур, как озимая рожь (*Secale cereale* L., сорта «Чулпан») и мягкие пшеницы (*Triticum aestivum* L.), яровая сорта «Новосибирская 29» и озимая сорта «Иркутская». Год урожая всех зерновых культур – 2015.

Поверхностный диэлектрический барьерный разряд развивался вдоль поверхности твердого диэлектрика при атмосферном давлении без принудительного потока газа через зону обработки. Диэлектрический барьер – керамическая пластина толщиной 1 мм. Электродная система, использованная при обработке семян, состояла из пяти полосовых электродов шириной 1 мм, расположенных на расстоянии 5 мм друг от друга. Обратный электрод-подложка заземлен. Семена размещались на металлическом заземленном электроде на расстоянии 10 мм до плоскости барьера. Проводилась серия опытов с пластиной, которая закрывала полосовые электроды, и без пластины. К полосовым электродам прикладывалось синусоидальное напряжение действующего значения 2,5 кВ, частотой 25 кГц. Время воздействия 5 и 15 минут.

Семена трёх зерновых культур по-разному отреагировали на обработку. Так, у пшеницы озимой при пятиминутной обработке без пластины заметно увеличение средней длины ростка на 25% относительно контроля (8,7±2,7 мм) и увеличение длины корневой системы на 14% (контроль 57,6±16,7 мм), при уменьшении энергии прорастания на 5% (контроль 0,96±0,03). Для яровой пшеницы результаты следующие: лучше всего показал себя пятнадцатиминутный метод обработки без пластины. Удлинение ростка, в данном случае, составило 14% относительно контроля (7,8±3 мм), увеличение корневой системы на 26% (контроль 57,2±19,4 мм), при уменьшении энергии прорастания на 2% (контроль 0,92±0,04). Исследуемые показатели семян ржи имеют значения: подавление роста coleoptily составило 3% (контроль 13,9±7,2 мм), а корневой системы, соответственно, 14% (контроль 82,4±40,3 мм).

Уменьшение энергии прорастания предположительно связано с гибелью слабых семян у всех зерновых культур (наименьшая длина ростка – озимая контроль 4-6 мм, обработка 6-8 мм; яровая контроль 3-5 мм, обработка 5-7 мм; рожь контроль 4-6 мм, обработка 7-9 мм). Предполагается более детальное исследование воздействия продуктов поверхностного диэлектрического барьерного разряда на сорта пшеницы и изменение условий обработки семян ржи путем уменьшения времени воздействия.

АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА И ПОВРЕЖДЕНИЯ ЛИПИДОВ И БЕЛКОВ РАСТЕНИЙ В ХОДЕ АНОКСИИ И ПОСЛЕДУЮЩЕГО ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

Шиков А.Е.

ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия
shik-999@inbox.ru

Живые организмы, в том числе растения, неоднократно сталкиваются со стрессовыми факторами. Распространённым воздействием является кислородное голодание – гипоксия или аноксия. Прямым следствием длительных бескислородных условий является окислительный стресс – накопление активных форм кислорода (АФК) в высоких концентрациях. По возвращении растения в условия нормальной аэрации он только усиливается. Обычно растения, устойчивые к окислительному стрессу, оказываются более жизнеспособными.

Объектами исследования являлись 10-дневные проростки риса (*Oryza sativa*) и 7-дневные проростки пшеницы (*Triticum aestivum*). Пшеница выступала в роли неустойчивого растения, а рис – устойчивого. Количество H₂O₂ и супероксиданионрадикала определяли спектрофотометрически. Карбонилирование белков проверялось на спектрофотометре с окрашиванием динитрофенилгидразином. Определение перекисного окисления липидов (ПОЛ) осуществлялось отслеживанием малонового диальдегида (МДА).

Было показано, что аноксия вызывает снижение ПОЛ. Процесс усиливался в ходе реэрации у обоих растений. Тем не менее, у пшеницы обнаружено более значительное усиление ПОЛ в процессе реоксигенации. Данные согласуются с динамикой накопления АФК в проростах растений. У пшеницы в ходе реэрации существенно возрастает продукция активных форм кислорода, что приводит к ПОЛ.

Анализ содержания активных форм кислорода показал, что исходный уровень супероксида и H₂O₂ у риса был выше, чем у пшеницы. Аноксия вызывала снижение их продукции, а реэрация – генерацию АФК. При этом у пшеницы наблюдали резкое увеличение пероксида водорода. Полученные данные позволяют заключить, что накопление АФК у пшеницы индуцирует ПОЛ значительнее, чем у риса.

Измерение степени карбонилирования белков риса в условиях аноксии и реаэрации показало, что в побегах риса её интенсивность сохранялась на относительно постоянном уровне, возвращаясь к контрольным значениям в ходе реаэрации. Степень окислительного карбонилирования белков в корнях несколько возрастала. В побегах пшеницы наблюдалась тенденция к увеличению содержания карбонилированных форм, а в корнях динамика похожа на таковую у риса.

Резюмируя полученные данные, существенное увеличение продукции АФК в клетках неустойчивого растения провоцирует окислительные повреждения липидов и белков, что приводит к нарушениям нормальной деятельности клеток и апоптозу. Напротив, в проростках риса поддержание относительно постоянного уровня АФК позволяло снизить интенсивность ПОЛ и препятствовать окислительным модификациям белков.

Исследования поддержаны грантами РФФИ 12-04-01029, 14-04-32320 и 15-04-03090.

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ КАТАЛАЗЫ И ПЕРОКСИДАЗЫ В *LEPIDIUM SATIVUM* L. ПОД ВЛИЯНИЕМ КИСЛОТНО-ЩЕЛОЧНЫХ СВОЙСТВ КОРНЕВОЙ СРЕДЫ

Шилоносова И.С.

ФГБОУ ВО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия
lafishka@mail.ru

Активность ферментов ограничена узкими пределами физических показателей цитозоля (Т, рН и др.), которые поддерживаются в клетках с помощью различных механизмов, в том числе, рН-регуляции. Неблагоприятные факторы среды приводят к повышению концентрации активных форм кислорода в клетках растений и, как следствие, к росту активности ферментов антиоксидантной системы, в том числе каталазы и пероксидаз. Существование кислых и щелочных почв связано, как с природными факторами, так и с техногенным загрязнением. Растения должны обладать определенными механизмами устойчивости в неблагоприятных условиях почвенной среды. В настоящее время отсутствуют сведения о реакции высших растений и их ферментов на кислотность и щёлочность почв. Цель данной работы - оценка воздействия кислотно-щелочной реакции корневой среды на активность каталазы и пероксидаз в кресс-салате. Исследование проведено в модельных опытах с вариантами 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 рН. Растения выращивали на вермикулите с питательным раствором Кнопа в течение 7 дней, затем на растения воздействовали растворами с разной рН. Активность ферментов измеряли через 1, 4, 24, 28 и 48 часов после воздействия стресса. Высоту и массу растений, а также содержание органических кислот определяли через 3 суток. В течение 24 часов после изменения рН корневой среды в сторону кислотности и щелочности наблюдалось достоверное понижение пероксидазной активности по сравнению с контролем. Затем активность пероксидаз растений, подвергшихся изменению фактора, постепенно возрастала и восстановилась до контрольного уровня через 48 часов после начала действия стресса. Достоверных изменений в активности каталазы по вариантам опыта не установлено. В листьях растений под действием кислотности корневой среды отмечено повышение общего содержания кислот, на варианте рН=4 количество титруемых кислот возросло на 21 % относительно контроля. Накопление кислот в цитозоле могло быть причиной снижения пероксидазной активности. При воздействии щелочной среды тенденция к возрастанию количества кислот в кресс-салате оказалась математически не достоверной. На фоне подкисления и подщелачивания произошло увеличение высоты кресс-салата при понижении доли сухой массы. Возможно, усиление роста связано с растяжением клеток из-за повышенной их обводненности.

ПРАЙМИНГ ЗАЩИТНЫХ РЕАКЦИЙ В РАСТЕНИЯХ ТОМАТА ПРИ ФУЗАРИОЗНОМ УВЯДАНИИ

Шпилевский С.Н., Кабашникова Л.Ф.

Государственное научное учреждение Институт биофизики и клеточной инженерии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь
metanova@mail.ru

В последнее десятилетие интенсивно проводятся работы по созданию индукторов устойчивости растений на основе метаболитов иммунного ответа. В отличие от фунгицидов, иммуномодуляторы не вызывают развитие устойчивости у болезнетворных штаммов и являются идеальным средством для профилактики большинства заболеваний растений.

Проведен скрининг иммуномодулирующих агентов на ранних стадиях развития растений томата сорта Тамара, выращенных в почвенной культуре в климатикамере при температуре 24°C и освещенности 100 $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ с фотопериодом 14 ч и затем перенесенных на водопроводную воду. Растения обрабатывали салициловой кислотой (СК), β -аминомасляной кислотой (АМК), β -1,3-глюканом (Sigma-Aldrich) методом опрыскивания, контроль – дистиллированной водой. Инфицирование грибным патогеном *Fusarium oxysporum* (Sacc.),

вызывающим фузариозное увядания томата, проводили через 48 ч после обработки иммуномодуляторами, внося суспензионную культуру гриба через корни в водную среду. Анализировали листья через 72 ч после инокуляции растений патогеном. Содержание фотосинтетических пигментов определяли методом ВЭЖХ (Rodriguez-Amaya D. B., 2004). Фотохимическую активность ФС 2 регистрировали методом РАМ-флуориметрии (Krause G.H., Weis E., 1991). Содержание пероксида водорода определяли по методу (J.G. Mohanty et al., 1997), активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) – по методу (Heath R.L., Packer L., 1968).

Ответной реакцией растений томата на атаку патогеном являлось увеличение на 32% содержания пероксида водорода, что свидетельствует о развитии окислительного стресса. При этом наблюдалось двукратное увеличение содержания конечного продукта ПОЛ – малонового диальдегида (МДА), что указывает на активацию деструктивных процессов в липидах мембран. Поражение растений томата патогеном вызывало снижение содержания хлорофилла ($a+b$) и каротиноидов в расчете на единицу площади листа и нарушение первичных процессов фотосинтеза. Предобработка растений АМК, СК и β -1,3-глюканом оказывала защитное действие на пигментный аппарат хлоропластов томата при фузариозе, а в АМК-обработанных растениях наблюдали также восстановление активности фотохимических реакций ФС 2. Действие иммуномодуляторов на содержание пероксида водорода в инфицированных листьях было не столь однозначно: АМК не изменяла этот показатель, СК снижала его до контрольного уровня, а β -1,3-глюкан вызывал значительное повышение содержания H_2O_2 . При этом все иммуномодуляторы оказывали ярко выраженный защитный эффект на состояние мембранных липидов, что проявлялось в снижении количества МДА в инфицированных листьях томата до контрольного уровня.

Полученные результаты свидетельствуют о стабилизирующем действии изученных иммуномодуляторов на структурно-функциональное состояние аппарата фотосинтеза и мембранных липидов, механизмы которого требуют дальнейшего изучения.

1. Rodriguez-Amaya D. B. HarvestPlus Handbook for Carotenoid Analysis // D. B. Rodriguez-Amaya, M. Kimura. Harvest Plus. 2004. 63 p.
2. Krause G.H., Weis E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics // Annu. Rev. Plant. Physiol. Mol. Biol. 1991. Vol. 42. P. 313-349.
3. J.G. Mohanty et al. A highly sensitive fluorescent micro-assay of H_2O_2 release from activated human leukocytes using a dehydroxyphenoxazine derivative // J. Immunol. Methods. – 1997. – Vol. 202. – N 2. – P.133-141.
4. Heath R.L., Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplast. 1. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation // Ibid. – 1968. – V. 125, N. 1. – P. 189-198.

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ФАКТОРОВ НА МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ *MELISSA OFFICINALIS* ПРИ ВВЕДЕНИИ ЭКСПЛАНТОВ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO*

Якимова О.В.

ФГБУН Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма, Симферополь, Россия
olyayakimova@yandex.ru

Мелисса (*Melissa officinalis* L.) – перспективная лекарственная и эфиромасличная культура, которую широко используют во многих отраслях производства, а также в медицине. В основном мелиссу возделывают как лекарственную культуру, так как в ее сырье низкое содержание эфирного масла (0,02-0,2%). В ФГБУН «НИИСХ Крыма» ведется селекция по созданию высокомасличных сортов мелиссы.

В последние годы с целью повышения эффективности селекции активно используют биотехнологические приемы, в том числе метод клонального микроразмножения. В отличие от традиционных методов семенного и вегетативного размножения микроразмножение *in vitro* способствует быстрому размножению ценного селекционного материала и новых сортов.

Для мелиссы методические приемы микроразмножения *in vitro* слабо разработаны. Целью нашего исследования было изучение некоторых аспектов культивирования мелиссы на 1-2-м этапах клонального микроразмножения.

Материалом для исследования были растения мелиссы сортов Цитронелла, Соборная, Крымчанка. В качестве инициальных эксплантов для микроразмножения использовали меристемы и сегменты стебля с узлом, вычлененные из растений, выращенных в условиях закрытого грунта. Экспланты культивировали согласно общепринятым методикам по культуре тканей и органов *in vitro* на различных модификациях питательной среды Мурасиге и Скуга (МС), дополненной 6-БАП, тиадазурином, кинетином и ГК₃.

Установлено, что частота приживаемости у меристематических эксплантов была на 20-30% выше, чем у узловых. Развитие основного, а иногда и адвентивных побегов, начиналось на 7-10-е сутки культивирования. На 30-е сутки культивирования, в зависимости от типа экспланта, длина побегов достигала от 6,2 до 18,8 мм, а их количество – до 5,6 шт./эксплант. Многие морфометрические параметры развивающихся из меристем побегов были ниже по сравнению с побегами, полученными из узлов.

Проведен анализ влияния состава питательной среды и генотипа на 1-2 этапах микроразмножения. На первом этапе микроразмножения наиболее высокие значения развития микропобегов у обоих типов эксплантов, для сортов Соборная и Цитронелла отмечали при их культивировании на питательной среде МС с 1,0 мг/л БАП, а для сорта Крымчанка – с 0,5 мг/л БАП. На втором этапе микроразмножения *in vitro* у всех сортов максимальные показатели развития побегов были на питательной среде МС, дополненной 0,5 мг/л БАП. При этом наибольший коэффициент размножения (1:11,1 за цикл) отмечали у сорта Соборная.

Полученные экспериментальные данные являются основой для дальнейшей разработки методики клонального микроразмножения *M. officinalis* L.

СЕКЦИЯ «ЭКОЛОГИЯ»

ТАКСАЦИОННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СОСНОВЫХ ДРЕВОСТОЕВ РАЗНОГО ВОЗРАСТА НА СТАРОПАХОТНЫХ ЗЕМЛЯХ

Аверина М. В.¹, Феклистов П.А.¹

¹ФГАОУ ВО Северный (Арктический) федеральный университет им. М. В. Ломоносова, Архангельск, Россия
averina.mariya1990@yandex.ru

Объектом исследования являются сосновые древостои на старопашотных землях Кенозерского национального парка Архангельской области.

Высота древостоя на старопашотных землях до 50-летнего возраста ниже чем высота древостоя 2 бонитета по сравнению данным таблиц хода роста для среднетаежной подзоны Архангельской области (Лесотаксационный справочник, 1986). Высота в этот период отличается в среднем на 2 м. При достижении возраста 50 лет высота древостоя на старопашотных землях превышает табличные данные примерно на 1,5 метра все последующие годы. Зависимость высоты от возраста подтверждает и корреляционный анализ. Связь очень высокая, прямолинейная коэффициент корреляции составляет 0,90, корреляционное отношение 0,93.

Диаметр древостоя на старопашотных землях до возраста 40 лет и после 120 лет ниже, чем диаметр древостоя 2 бонитета по данным таблиц хода роста. Диаметр в этот период отличается на 1-3 см. В период с 40 до 120 лет диаметр древостоя на старопашотных землях выше табличных данных, максимальное различие наблюдается в возрасте 50-60 лет, когда диаметр на старопашотных землях выше табличных на 3,3 и 4,5 см. Зависимость диаметра древостоя от возраста подтверждает и корреляционный анализ, связь высокая, прямолинейная.

В первые три десятилетия густота древостоев на старопашотных землях резко увеличивается, то есть происходит вселение сосны на пашню после чего начинается снижение густоты. Отмечено что густота на старопашотных землях во все годы значительно (до 2500 шт./га) ниже густоты древостоя 2 бонитета по данным таблиц. Зависимость густоты древостоя и возраста подтверждает и корреляционный анализ, связь высокая, прямолинейная.

Запас на 1 га древостоя на старопашотных землях в первые 50 лет ниже, чем запас древостоя 2 бонитета по данным таблиц, после 50 лет, запас на старопашотных землях превышает на 20-50 м³ на 1 га. Отмечено, что запас достаточно значителен в 140 лет он составляет 575 м³ на 1 га. Зависимость запаса на 1 га древостоя и возраста подтверждает корреляционный анализ, связь высокая, прямолинейная.

АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ИНВАЗИВНОЙ ПОПУЛЯЦИИ *HARMOZICA RAVERGIENSIS* (MOLLUSCA, GASTROPODA, PULMONATA) НА ТЕРРИТОРИИ ГОРОДА БЕЛГОРОД

Адамова В. В.¹

¹ФГАОУ ВО Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия
500838@bsu.edu.ru

В последние десятилетия наблюдается активное расселение кавказского наземного моллюска *Harmozica raveriensis* (Férussac, 1835) за пределы северной границы своего ареала на территории Восточной Европы. Настоящее исследование является продолжением нашей работы, посвященной анализу демографических и конхиометрических параметров колоний *H. raveriensis* на территории Белгорода. На основе данных, полученных методом гель-электрофореза аллозимов, изучена генетическая структура популяции инвазивного моллюска, обитающего в условиях урбанизированного ландшафта на территории города Белгород. В большинстве колоний выявлен высокий уровень генетической изменчивости, низкие показатели инбридинга и слабая генетическая подразделенность изучаемых популяций. В инвазивных группах преобладает генетическая вариабельность на индивидуальном уровне, на что указывает значение коэффициента инбридинга особи относительно большой популяции ($F_{it}=0.216$, $p=0.001$), превышающее в почти два раза значение коэффициента инбридинга особи относительно субпопуляции ($F_{is}=0.111$, $p=0.001$) и значение коэффициента инбридинга субпопуляции относительно большой популяции ($F_{st}=0.117$, $p=0.001$). Анализ матриц попарных значений уровня потока генов и географических дистанций между изучаемыми группами улиток не показал значимую корреляцию между этими параметрами. Об этом свидетельствуют невысокое значение коэффициента корреляции Мантеля (0.375, $p=0.084$), что говорит об отсутствии четкой взаимосвязи пространственной и генетической структуры популяции. Вероятно, распределение адвентивных колоний соответствует островной модели. Данное предположение отчасти подтверждается кластерным анализом, проведенным с помощью

невзвешенного парно-группового метода (UPGMA) на основе матрицы генетических расстояний по Неи. Расчет эффективной численности и сопоставление ее с аналогичными показателями фоновых и адвентивных видов наземных моллюсков продемонстрировал высокий уровень жизнеспособности популяций изучаемого вида в районе исследования. Согласно полученным значениям в среднем соотношение эффективного размера выборки к ее общему объему равно 0.917 ± 0.029 .

Таким образом, полученные результаты демонстрируют высокий уровень жизнеспособности адвентивных колоний *H. ravergensis*, о чем свидетельствует богатый генофонд и большие значения эффективной численности. Высокая доля индивидуальной изменчивости обеспечивает генетическую пластичность, что может способствовать дальнейшему успеху инвазии.

ПОИСК ПУТЕЙ СНИЖЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ФОСФАТ-ИОНОВ В НЕДОСТАТОЧНО ОЧИЩЕННЫХ СТОЧНЫХ ВОДАХ

Аканаева А. Н.¹

¹ФГБОУ ВПО Поволжский государственный технологический университет, Йошкар-Ола, Россия
anya.akanaeva@mail.ru

Сброс недостаточно очищенных сточных вод является существенным фактором ухудшения состояния водных объектов, вызывает их антропогенную эвтрофикацию. Особую значимость проблема эвтрофирования приобрела в последние десятилетия за счет увеличения концентрации растворенных фосфатов в бытовых стоках вследствие интенсивного развития новых технологий в промышленности и повсеместного применения фосфорсодержащих моющих средств.

В г. Волжске очистка хозяйственно-бытовых и промышленных стоков осуществляется на биологических очистных сооружениях. В последнее время эффективность очистки сточных вод снизилась. По данным лаборатории БОС г. Волжска содержание фосфатов в уходящей сточной воде превышает нормативы сброса в 2-3 раза. Встает проблема дефосфатизации уходящих сточных вод с БОС г. Волжска. Цель работы – поиск путей снижения концентрации фосфат-ионов в недостаточно очищенных сточных водах.

Задачи:

1. Изучить действие стандартных сорбентов на изменение концентрации фосфат-ионов в недостаточно очищенных сточных водах.

2. Оценить возможность использования растительных организмов для снижения концентрации фосфат-ионов в воде.

3. Оценить эффективность данных способов дефосфатизации.

Определение содержания фосфат-ионов в воде производилось по РД 52.24.382-2006 [3]. Для дефосфатизации использовались:

1. Сорбенты: активированный уголь, оксиды железа, известняк-ракушечник и мел

2. Растительные организмы: элодея канадская, роголистник погруженный, ричия.

Для дефосфатизации приготавливались фильтры, после воронки с бумажным фильтром наполнялись измельченным сорбентом. Через них производили фильтрацию воды и оценивали изменение концентрации фосфат-ионов в сточной воде и в модельных растворах. При использовании растительных организмов для дефосфатизации в 250 мл раствора добавлялись растения до заполнения объема сосуда. Время взаимодействия – 2 суток.

Выводы и практические рекомендации:

1. Наиболее эффективен для дефосфатизации из изученных сорбентов – оксид железа.

2. Снижение концентрации фосфатов недостаточно-очищенных сточных вод возможна с использованием водных растений.

3. Эффективность использования водных растений для дефосфатизации соотносится с использованием общепринятого сорбента – оксида железа. Наибольшей эффективностью обладает водное растение – ричия.

МАКРОМИЦЕТЫ ПАМЯТНИКА ПРИРОДЫ "КОМСОМОЛЬСКАЯ РОЩА" (Г. КАЛУГА)

Алексеев А.С.1, Сионова М.Н.¹

¹ФГБОУ ВО Калужский государственный университет им. К.Э. Циолковского, Калуга, Россия
alexei.alex1997@yandex.ru

Памятник природы регионального значения «Комсомольская роща» (36 га) находится в черте г. Калуга и представляет собой фрагмент сосновых насаждений, сохранившийся в городской среде. Возраст сосен от 26-30 до 200-300 лет. На территории ООПТ есть и лиственные посадки клена, липы, ясени, дуба, плодовых деревьев (возраст 35-45 лет), а также отдельные деревья березы и осины естественного происхождения. Кустарниковые насаждения - это декоративные посадки спиреи, ирги, калины, акации, а также лещина, крушина, черемуха естественного происхождения. Старые сосны расположены равномерно по всей территории; более молодые

образуют отдельные куртины, между которыми находятся лужайки с луговыми видами растений, среди которых преобладают злаки. Территория испытывает высокую рекреационную нагрузку. Много деградированных участков, занятых сорными растениями, которые вытесняют лесные виды.

Устойчивость природного комплекса в значительной степени зависит от состава грибов, обеспечивающих сбалансированность круговорота веществ. Первые сведения о микобиоте памятника природы «Комсомольская роща» были опубликованы в 2005 году и содержали данные о 72 видах. В 2015 и 2016 гг. на территории этой ООПТ проведены повторные маршрутные учеты макромицетов, результаты которых позволили дополнить и уточнить предыдущий список грибов.

К 2017 году здесь отмечены 134 вида (12 видов – сумчатых (Ascomycota) и 122 вида – базидиальных (Basidiomycota) из 45 семейств. Наибольшим числом видов представлены семейства Мусенасеае (12 видов, 9,7%), Агарикасеае (10 видов, 7,5%), Strophariaceae и Tricholomataceae (по 9 видов, 6,7%), Russulaceae и Inocybaceae, (по 8 видов, по 6%), Psathyrellaceae (7 видов, 5,2%). Плодовые тела подавляющего большинства видов отмечены единично. Это объясняется высокой рекреационной нагрузкой на природный комплекс.

Доля видов макромицетов-ксилобионтов среди всего видового обилия – 41% (55 видов). Это объясняется большим количеством поврежденных и усыхающих деревьев (по-видимому, в результате антропогенного прессинга). Примерно одинаковое число видов и, соответственно, одинаковая доля среди видового обилия у микоризообразователей (24 вида, 18%), подстилочных (26 видов, 19%) и гумусовых сапротрофов (27 видов, 20%).

На территории ООПТ «Комсомольская роща» установлено произрастание 47 видов съедобных грибов (35%). Также здесь учтено 75 видов несъедобных (56%) и 12 видов ядовитых макромицетов (9%). Редкие виды макромицетов отмечены не были.

ОБОСНОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ БИОТЕСТ-СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР *IN VITRO* С ЦЕЛЬЮ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ ДЕРЕВЬЕВ *PINUS SYLVESTRIS* L.

Аминева Е.Ю.¹, Гуреев А.П.², Попов В.Н.²

¹ ФГБУ Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии, Воронеж, Россия; ² ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия
elena.pardaeva@mail.ru

В последние десятилетия на территории Воронежской области отмечается увеличение количества засух и их усиление. Лесные древесные растения демонстрируют различные адаптивные способности, что обусловлено, в первую очередь, генотипическими особенностями организма.

В качестве объекта исследования использовали сосну обыкновенную (*Pinus sylvestris* L.) – один из основных видов-лесообразователей. В результате засухи 2010г. часть деревьев погибла, однако некоторые не пострадали, это объясняется различным адаптивным потенциалом.

Цель работы – обосновать возможность применения биотест-системы на основе каллусных культур *in vitro* для ранней диагностики засухоустойчивости исходных деревьев сосны обыкновенной. Ранее нами был предложен способ определения засухоустойчивости деревьев на основе учета реакций каллусных культур в ответ на условия культивирования. Исходные деревья, произрастающие в насаждении «Ступино» (Воронежская обл., с.Ступино), были предоставлены в.н.с. ФГБУ «ВНИИЛГИСбиотех» Н.Ф.Кузнецовой.

Реакция каллусных культур *in vitro* различных генотипов на условия культивирования значительно различается по показателям: скорость формирования и жизнеспособность каллусной ткани (СК и ЖК), частота и интенсивность каллусогенезов (ЧК и ИК).

Для подтверждения возможности использования биотест-системы проведен анализ экспрессии генов первичных каллусных культур исследуемых генотипов. В качестве референсного гена брали *GapC1*. Анализировали экспрессию 3 генов: *AbaH*, *LEA*, *ADC*. Мы обнаружили повышенный уровень экспрессии исследуемых генов в каллусных культурах, имеющих высокие показатели СК, ЧК, ЖК, ИК. Например, экспрессия гена *AbaH* у д.83 и д.94 (засухоустойчивых по данным анализа каллусных культур) примерно в 14 раз выше, чем у д.96 и в 5 раз выше, чем у д. 98, которые являются чувствительными к засухе.

Таким образом, на основе комплексного анализа каллусных культур сосны обыкновенной (на основе биотехнологических показателей и уровня экспрессии генов, кодирующих стрессовые белки) установили, что применение каллусных культур *in vitro* сосны обыкновенной для ранней диагностики засухоустойчивости исходных деревьев является возможным и целесообразным.

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИИ РОТАНА В ГОРОДСКИХ ВОДОЕМАХ ГОРОДА КАЗАНИ.

Балезина Л. Ю.¹, Замалетдинов Р. И.¹, Назаров Н. Г.¹

¹ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
l.balezina@yahoo.com

Расселение ротана за пределами его естественного ареала является одним из наиболее интересных примеров биологических инвазий, а также одной из актуальных проблем ведения прудового рыбного хозяйства. Инвазии данного вида являются нежелательными, так как способны приводить к большим изменениям водных экосистем и серьезным экологическим потерям.

Целью данной работы является изучение структуры популяции головешки-ротана (*Perccottus glenii* Dybowski, 1877) в городских водоемах г. Казани (на примере озера Марьино).

Материалом для данной работы послужила выборка ротана ($n = 469$), отловленная в 2015 году в озере Марьино. Сбор ихтиологического материала проводился путем непосредственного отлова с использованием мальковой волокуши с размером ячеек 1 мм. Для морфометрического анализа проводились промеры длины и высоты тела каждой особи. Промеры проводились штангенциркулем с точностью измерения $\pm 0,1$ см. Каждую особь взвешивали на лабораторных весах ЕК 410i с точностью $\pm 0,01$ г.

Минимальные значения массы ротана из популяции озера Марьино составили 0,09 г, максимальные – 97,73 г. Среднее значение массы ротана равно $5,09 \pm 2,52$ г. Минимальное значение длины особей ротана составили 1,64 см, максимальная – 18,9 см; среднее значение параметра составляет $5,10 \pm 2,55$ см. Наибольшая высота тела особей ротана исследуемой популяции составила 2,48 см, наименьшая – 0,09 см, среднее значение параметра – $0,55 \pm 0,32$ см.

Рассчитан коэффициент упитанности Фультона для популяции ротана, среднее значение которого составило $2,78 \pm 0,14$, что является результатом высокой степени упитанности особей ротана озера Марьино.

Результаты расчета коэффициента ранговой корреляции Спирмена выявили высокую степень зависимости между морфометрическими параметрами рыб. Коэффициент Спирмена для параметров длины тела и массы ротана составил 0,7673, по параметрам высоты тела и массы ротана равен 0,9403, по параметрам высоты и длины тела ротана составил 0,9717. Зависимость длины тела и массы описывается уравнением $y = 0,009x + 2,1934$ ($R^2 = 0,7616$). Зависимость высоты тела от массы - $y = 0,006x - 0,1616$ ($R^2 = 0,6678$). Зависимость высоты и длины тела ротана описывается уравнением $y = 0,009x + 2,1934$ ($R^2 = 0,7616$).

ОЦЕНКА ПОТЕНЦИАЛА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГОРЧИЦЫ БЕЛОЙ (*SINAPIS ALBA*) И КУКУРУЗЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (*ZEА MAYS L.*) ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПОЧВОГРУНТОВ ПОЛИГОНА ТБО «САЛАРЬЕВО»

Бекк В.В.¹

¹ФГБОУ ВПО Российский государственный аграрный университет - МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия
tg_koo@mail.ru

Вследствие интенсификации производственной и хозяйственной деятельности человека, происходит деградация естественных экосистем и нарушение связей между отдельными компонентами биосферы, что обуславливает появление экологических проблем. Безусловно, таковыми являются проблема обращения с твердыми бытовыми отходами и как следствие появление полигонов их захоронения. Неотъемлемым звеном в процессе рекультивации полигона ТБО является биологический этап, в задачи которого входит восстановление естественного ландшафта, биоремедиация нарушенного почвенного покрова и экосистемы в целом.

В данной работе рассмотрена возможность использования некоторых растений для целей фиторемедиации почвогрунтов полигона ТБО «Саларьево», посредством оценки состояния биологической компоненты почвогрунтов, и сравнения их эффективности. Для чего ранее были изучены различные свойства почвогрунтов, а также качественный и количественный состав некоторых представителей аэробных гетеротрофных микроорганизмов рода *Bacillus*, как индикатор экологического состояния почвогрунтов; По коэффициенту биологического поглощения (КБП) тяжелых металлов произведена оценка способности изучаемых растений (Горчицы Белой (*Sinapis alba*) и Кукурузы обыкновенной (*Zea mays L.*) к ассимиляции тяжелых металлов (Cd и Pb) надземными органами. Подготовка и проведение исследования производилось по общепринятым методикам в лабораторных условиях. Повторность микробиологических анализов – трехкратная, вегетационных испытаний – двухкратная.

В результате исследования выявлены микроорганизмы рода *Bacillus*, которые по литературным данным, характеризуют процессы минерализации органического вещества почвогрунтов, режим азотного питания, активность протекания биохимических реакций. Среди прочих выводов, хочется отметить наблюдаемую

зависимость разнообразия и распределения рассматриваемых микроорганизмов (*Bac. Mycoides*, *Bac. Cereus*, *Bac. Idosus*, *Bac. megaterium*, *Bac. Virgulus*, *Bac. Agglomeratus*, *Bac. Subtilis*) с показателем целлюлозоразрушающей способности. По литературным данным, растения горчицы белой и кукурузы обыкновенной имеют хороший фиторемедиационный потенциал, который во многом определяется почвенно-климатическими условиями и видом загрязнителя. Так, среди изучаемых растений максимальным значением КБП обладает кукуруза обыкновенная (*Zea mays* L.), соответственно для Pb-0,39, что в 2 раза выше аналогичного показателя для горчицы белой (*Sinapis alba*), и для Cd-2,16, что в 1,5 раз выше показателя для горчицы белой.

БИОФИЗИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ СОВРЕМЕННОГО АРЕАЛА ЮЖНОГО ВСЕЛЕНЦА *DIAPHANOSOMA ORGHIDANI* NEGREA И КЛИМАТИЧЕСКИЕ СЦЕНАРИИ ЕГО РАССЕЛЕНИЯ В ВОДОЕМАХ САМАРСКОГО ПОВОЛЖЬЯ

Болотов С. Э.^{1,2}, Мухортова О. В.³, Федоров Р. А.²

¹Бюджетное учреждение высшего образования Ханты-Мансийского автономного округа – Югры Сургутский государственный университет, Сургут, Россия; ²ФГБУН Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, Борок, Россия; ³ФГБУН Институт экологии Волжского бассейна РАН, Тольятти, Россия
alhimikhmu@yandex.ru

Daphanosoma orghidani Negrea – южный рачок каспийского происхождения, который с 2003 г. активно расселяется в водоемах бассейна Средней и Верхней Волги, где в последние годы составляет конкуренцию аборигенной *D. brachyurum* (Liévin) и нередко входит состав доминантов сообществ зоопланктона. Несмотря на пристальный интерес гидробиологов к процессам расселения этого вида, уверенно прогнозировать основные направления его продвижения в северные водоемы крайне сложно.

Цель работы – разработка и исследование биофизических моделей географического распространения южного вселенца *D. orghidani* Negrea и построение климатически-обусловленных сценариев его расселения в водоемах Самарского Поволжья.

На основе авторских программных скриптов на суперкомпьютере SUN Fire 15000 методами биофизики сложных систем и машинного обучения рассчитывали экологические оптимумы *D. orghidani* в отношении приоритетных факторов среды, и на их основе моделировали современный ареал вида с точки зрения максимальной вероятности его встречаемости в рассматриваемом географическом пространстве.

Модельные расчеты свидетельствуют, что основными факторами, лимитирующими развитие рачка, выступают термические условия – как непосредственно водной среды, так и регионального климата. Полученная математическая модель качественно удовлетворительно воспроизводит тонкие паттерны географического распространения вида, позволяет прогнозировать основные направления его расселения и оценивать риски биологической инвазии.

Разработаны и исследованы климатически обусловленные сценарии расселения *D. orghidani* в водоемах Самарского Поволжья к 2050 г. Установлено, что следует ожидать расширения экспансии вида в Самарском Поволжье, однако экстремальные (модель CNRM-CM5 (IPCC), сценарий – sr85) термические условия среды могут сдерживать его продвижение по региону.

Реализованная биофизическая модель может быть успешно использована в мониторинге биоинвазий планктонных беспозвоночных в Поволжском регионе.

МАТЕРИАЛЫ ПО ПАРАЗИТОФАУНЕ СУДАКА *SANDER LUCIOPERCA* (LINNAEUS, 1758) В 2016 Г.

Бортников Е.С.^{1,2}, Шевкоплясова Н.Н.¹

¹ФГБНУ Азовский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства, Ростов-на-Дону, Россия; ²ФГБОУ ВО Южный Федеральный Университет, Ростов-на-Дону, Россия
Bortnikov_1991@bk.ru

Оценка паразитологического статуса молоди и половозрелого судака проведена по данным анализа трех выборок в весенний, летний и осенний периоды 2016. Половозрелые особи судака были отобраны в весенний период во время нерестового хода в восточной части Азовского моря (Ясенская коса), Ейском и Бейсугском лиманах. Отлов судака промыслового размера был произведен осенью в восточной части Таганрогского залива (район Беглицкой косы) в ходе учетно-траловой съемки по Азовскому морю. Молодь судака отобрана в Бейсугском лимане в летний период. Паразитологический анализ проводился по общепринятым методикам.

Списочный состав паразитофауны половозрелого судака включал 9 видов из 6 классов: ресничных (*Trichodina* sp.), моногеней (*Ancyrocephalus paradoxus*), трематод (*Bucephalus polymorphus*, *Diplostomum* sp.,

Tylodelphys clavata), нематод (*Cosmocephalus sp.*, *Contracaecum collare*), ракообразных (*Achtheres sandrae*) и двусторчатых моллюсков (*Unionidae gen. sp.*)

В весенний период зараженность производителей судака большинством выделенных паразитов колебалась в пределах 10–30 %. Исключение составляли круглые черви – *Cosmocephalus sp.* и *C. collare* с экстенсивностью инвазии 60 и 90 % соответственно. Максимальный показатель интенсивности инвазии у космоцефалюсов не превышал 7 экз., тогда как у контрацекумов он достигал 40 экз. на рыбу, при этом индексы обилия были невысоки, около 3 и 10 экз. соответственно. Оба вида нематод локализовались в серозных покровах кишечника.

В выборке судака из Таганрогского залива преобладали инвазии (4 из 7) с показателями экстенсивности 60–90 %, но также с низкими индексами обилия – не более 2–7 экз., за исключением *B. polymorphus* (индекс обилия 18.0 экз.).

У двух экземпляров судака в мышцах были обнаружены метацеркарии *B. polymorphus*. Инвазия характеризовалась низкими показателями (20 %) в отличие от половозрелых трематод данного вида (70 %), паразитирующих в желудочно-кишечном тракте.

Все выявленные паразиты имели достаточно низкие показатели интенсивности и не представляли явной угрозы для здоровья половозрелого судака.

Молодь судака отобрана для анализа в Бейсугском лимане (Бейсугское НВХ) в летний период. В составе паразитофауны определены 2 вида паразитов – кругоресничные инфузории р. *Trichodina* и цестода *Gryporhynchus cheilancristrotus*. Встречаемость и степень зараженности рыб триходинами и грипоринхусами находились на низком уровне.

По литературным данным, высокая интенсивность заражения рыб дилепидидами (*G. cheilancristrotus*) может приводить к замедлению их роста в среднем на 5 см и уменьшению упитанности в среднем на 10 г.

ВЛИЯНИЕ СЕРНОКИСЛОЙ МЕДИ НА РАЗВИТИЕ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ ПРЕДПОСЕВНОЙ ОБРАБОТКЕ СЕМЯН

Вакерич М.М.¹, Киш Ю.В.¹, Николайчук В.И.¹

¹Ужгородский национальный университет, Ужгород, Украина
vakerich@yandex.ru

Отходы тяжелых металлов, используемых в промышленности, могут оцениваться как потенциальные промышленные яды. Для понимания закономерности биологической аккумуляции и переноса химических элементов в окружающей среде, а также с целью изучения физиологических функций и роли металлов в процессах жизнедеятельности биоты разных систематических групп необходимо иметь данные о содержании тяжелых металлов в органах и тканях, их физиологическое воздействие.

Озимая пшеница является главной зерновой продовольственной культурой в Украине. Она дает высокие урожаи в основных регионах выращивания и отличается высокой чувствительностью к внесению удобрений. Одним из экологически безопасных и оправданных с экономической точки зрения способов удобрения культур является предпосевная обработка семян. Среди необходимых для нормального развития растений элементов важное значение имеет медь, которая является составной частью ферментов (тирозины, лактазы, цитохром оксидазы, супероксиддисмутазы).

Мы исследовали влияние предпосевной обработки семян сернокислой медью на онтогенетическое развитие озимой пшеницы районированных в Закарпатье сортов Писанка и Смуглянка в лабораторных условиях.

Можем констатировать, что стимулирующее влияние на всхожесть семян, длину и вес проростков в обоих исследуемых сортах имела предпосевная обработка семян 0,01% CuSO₄. Использование для обработки семян более высоких концентраций сульфата меди имело ингибирующий эффект, поскольку исследуемые показатели были ниже контрольного варианта (без предпосевной обработки семян). Большая толерантность к предпосевной обработке семян CuSO₄ отмечается в проростках сорта Смуглянка, что свидетельствует о большей устойчивости пшеницы данного сорта в сравнении с сортом Писанка.

Изучая влияние предпосевной обработки семян сернокислой медью на развитие корневых систем проростков озимой пшеницы мы отметили наибольшую чувствительность данной части растения к различного рода загрязнителям (которыми выступают в чрезмерных концентрациях микроэлементы), что также подтверждается исследованиями ряда ученых. Исследуя интенсивность образования корневых систем отмечаем, что при условии предпосевной обработки семян 0,1% сернокислой медью оно не происходит в обоих исследуемых сортах озимой пшеницы.

ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА ОБМЕНА И СТРЕСС-ОТВЕТА У БАЙКАЛЬСКИХ ЭНДЕМИЧНЫХ И ГОЛАРКТИЧЕСКИХ АМФИПОД В УСЛОВИЯХ ПОСТЕПЕННОЙ ГИПЕРТЕРМИИ

Верещагина К.П.¹, Бедулина Д.С.¹, Тимофеев М.А.¹

¹НИИ биологии ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия
k.p.vereshagina@gmail.com

Целью настоящего исследования было сравнение процессов энергетического метаболизма и общего стресс-ответа при повышении температуры среды у представителей амфипод байкальской эндемичной (*Eulimnogammarus verrucosus* (Gerstf., 1858.)) и голарктической фауны (*Gammarus lacustris* Sars.).

Были проведены эксперименты по экспонированию амфипод в условиях повышения температуры со скоростью 0,8°C/день. Фиксацию образцов производили в жидком азоте в следующих температурных точках экспозиции: *E. verrucosus* - 6°C, 9,2°C, 12,4°C, 15,6°C, 18,8°C, 22°C и 23,6°C; *G. lacustris* - 6°C, 12,4°C, 18,8°C и 23,6°C.

Для оценки влияния изменения температуры среды на показатели энергетического метаболизма и общего стресс-ответа определяли изменение относительной экспрессии следующих генов: белков теплового шока 70 (БТШ70), фактора элонгации (ФЭ), натрий-калиевой аденозинтрифосфатазы (Na^+K^+ АТФаза), АТФ-синтазы альфа (АТФа), АТФ-синтазы гамма (АТФг), оксоглутарат-дегидрогеназы (ОГДГ), гексокиназы (ГК) и фосфофруктокиназы (ФФК).

По результатам исследования показано, что в условиях постепенного повышения температуры происходило статистически значимое увеличение экспрессии генов БТШ70 у амфипод *E. verrucosus* при достижении температуры 23,6 °C. У вида *G. lacustris* происходило статистически значимое увеличение относительной экспрессии генов ОГДГ. По результатам анализа корреляционной сети генов байкальского вида *E. verrucosus* наблюдали сильные корреляционные связи между АТФг и Na^+K^+ АТФазой (0,88), АТРа и Na^+K^+ АТФазой (0,90), АТФг и АТРа (0,95), АТФг и ОГДГ (0,83). Тогда как у голарктического *G. lacustris* наиболее сильная корреляционная связь отмечена между генами БТШ70 и ОГДГ (0,77), ФЭ и БТШ70 (0,76).

По результатам корреляционного анализ генов можно говорить о том, что байкальские амфиподы поддерживают процессы оборота АТФ на стабильном уровне в условиях изменения температур, и задействуют механизмы общего стресс-ответа в первую очередь. Для *G. lacustris* наблюдали противоположную ситуацию. Наиболее сильными корреляционными связями обладали компоненты белкового синтеза и фолдинга. Увеличение экспрессии ОГДГ, как одного из главных компонентов цикла Кребса, может указывать на увеличение энергозатрат. Впервые показано, что для байкальских эндемичных и голарктических видов амфипод характерны разные стратегии энергообеспечения стресс-реакций на уровне экспрессии генов при температурном воздействии.

Исследование проведено при частичной финансовой поддержке проектов Минобрнауки РФ (ГЗ 1354–2014/51), CRDF (FSCX-15-61168-0) и РФФИ (16-34-00687).

ВОЗРАСТ И РОСТ ПРОМЫСЛОВОГО МОЛЛЮСКА *MERCENARIA STIMPSONI* (BIVALVIA, VENERIDAE) В УСЛОВИЯХ ОТКРЫТОГО МОРСКОГО ПОБЕРЕЖЬЯ ПРИМОРСКОГО КРАЯ (ЯПОНСКОЕ МОРЕ)

Власенко Р. В.¹

¹ФГБНУ Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр, Владивосток, Россия
rv_vlasenko@mail.ru

Возрастные и ростовые характеристики являются одними из важнейших биологических показателей морских двустворчатых моллюсков, но остаются малоизученными.

Рассмотрен возрастной состав и рост закапывающихся моллюсков *Mercenaria stimpsoni* (Gould, 1861), обитающих у открытого морского побережья в районе мыса Титова (43°06' с.ш., 134°18' в.д.). Материал собран в 2013 г. вододлазным способом на илисто-песчаном грунте с глубин 10, 13, 16 и 19 м с 1-2 м² на каждом горизонте. Объем выборок составил 15, 12, 15 и 19 экз. соответственно. Длина раковины (L) моллюсков в пробах варьировала от 24,5 до 80,0 мм. На глубинах 10-16 м доля особей с L=65-75 мм составила 60-66%, на глубине 19 м – 84%. Наибольшая доля крупноразмерных особей (L≥75 мм) на глубине 10 м – 26,6%. Моллюски с L<65 мм присутствовали во всех выборках (10,5-33,3%). Возрастные показатели изучали по меткам (задержкам роста), видимым на радиальном спиле раковины.

Возраст моллюсков в выборках варьировал от 6 до 50 лет (ср. 29,4±1,6). На глубине 10 м доминируют особи возрастом до 25 лет – 53%, доля моллюсков старше 35 лет наименьшая из всех выборок – 13%. Напротив,

на глубине 19 м первая группа составляет 16%, а вторая – 63%. Здесь же обнаружены два самых старых моллюска возрастом 50 лет. Наибольшая доля моллюсков 25-35 лет отмечена на глубине 16 м.

Сравнительная оценка темпов роста моллюсков, обитающих на разных глубинах, показала, что на протяжении первых 5-6 лет жизни особи растут интенсивно с наибольшим приростом на 4-м году, величина которого снижается с 6,6 до 5,1 мм по мере увеличения глубины. В последующие годы приросты раковин везде постепенно уменьшаются. На глубине 10 м период относительно интенсивного роста сравнительно короткий, после 14 лет (при L=60,4 мм) величина годового прироста не превышает 2 мм, тогда как глубже подобные приросты наблюдаются до 17 лет (при L=63-59 мм). К 22-м годам, когда моллюски на глубинах от 10 до 16 м имеют размеры около 69 мм, а на глубине 19 м – 65,5 мм, их приросты составляют менее 1 мм в год.

Промыслового размера (L≥55 мм) мерценария достигает в возрасте 11-12 лет на глубине 10 м, в 13-14 лет на глубине 13-16 м, на 19 м в возрасте 15-16 лет.

В поселении мерценарии открытого прибойного побережья при увеличении глубины снижаются темпы роста моллюсков, но увеличивается продолжительность их жизни. Минимальная встречаемость старшевозрастных особей на небольших глубинах может свидетельствовать об их повышенной смертности, обусловленной усиленным гидродинамическим воздействием.

ГОРОДСКИЕ ЛЕСА КАК МЕСТООБИТАНИЯ НАЗЕМНЫХ МОЛЛЮСКОВ В ГОРОДЕ КАЛУГЕ

Галемина И.Е.¹

¹ГБУ ДО КО Областной эколого-биологический центр, Калуга, Россия
victor_alex@list.ru

Для учета наземных моллюсков весной и летом 2016 г. обследованы 49 биотопов (примерно совпадают с границами растительных ассоциаций) в 15 несмежных массивах с древесной растительностью, площадь каждого массива – от 0,04 до 900 га. Моллюсков собирали вручную, а также в каждом биотопе брали 4 пробы подстилки размером 25*25 см для разбора в камеральных условиях.

Всего на территории Калуги обнаружен 41 вид наземных моллюсков. Наибольшей встречаемостью на территории Калуги обладают *Cochlicopa lubrica*(Müll.) и *Fruticicola fruticum*(Müll.) (57% биотопов), *Cochlodina laminata*(Montagu) (45%), *Perpolita hammonis* (Strøm) (41%), *Arion subfuscus* (Drap.) (37%), *Macrogastra plicatula* (Drap.) (35%). Несколько ниже (31%) встречаемость *Perforatella bidentata*(Gmelin), *Pseudotrichia rubiginosa* (Schmidt), *Succinea aputris* (L.).

Большинство найденных моллюсков – лесные виды (64% видов и 65% особей). Синантропные моллюски (*Trochulus hispidus*(L.), *Arion fasciatus*(Nilsson), *Limax maximus*L.) немногочисленны как по числу видов, так и по числу особей (14% и 6% соответственно). В поймах рек преобладают эвритопные виды.

В одном биотопе отмечается от 2 до 19 видов, в среднем 7 видов моллюсков. Наиболее богаты моллюсками полидоминантные листовенные леса (с участием широколиственных пород и осин). Более бедны видами сосняки, липняки, дубравы, ивняки и заросли клена американского. Видовое богатство моллюсков выше в биотопах с большим количеством валежника. В овражно-балочных биотопах видовое богатство выше, чем в биотопах на плакоре.

В разных массивах древесной растительности обнаружено от 7 до 26 видов моллюсков. Прямой зависимости видового богатства моллюсков от площади лесного массива не выявлено. Фрагменты древесной растительности площадью менее 10 га (овраги в центре города и дендрарий) обладают пониженным видовым разнообразием моллюсков и низким процентом лесных видов, однако причины этого могут заключаться не только в площади, но и в происхождении данных местообитаний.

Наибольшим видовым разнообразием моллюсков обладает лесной массив с большим количеством старых осин на северо-западе Калуги, между д. Тимашево и Муратовский щебзавод (26 видов). Здесь также обнаружены редкие лесные улитки *Merdigera obscura*(Müll.) и *Ruthenica filograna* (Ross.) слизень *Limax cinereoniger* Wolf.

ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС ОЗЕРА СЕВАН В УСЛОВИЯХ ПОВЫШЕНИЯ УРОВНЯ ВОДЫ.

Мамян А. С.¹, Гамбарян Л.Р.²

¹Научный центр Зоологии и гидроэкологии, Институт гидроэкологии и ихтиологии НАН РА, Ереван, Армения;

²Ереванский государственный университет, Ереван, Армения

lus-ham@yandex.ru, lusinehambaryan@ysu.am

Озеро Севан (1900 м НУБМ, ~1262 км²), является крупным пресноводным водоемом на территории Армении. Экосистема озера находится в нестабильном состоянии в результате повышения уровня его воды на 3.3 метра,

что привело к улучшению многих морфометрических и гидрофизических показателей, которые были ухудшены в процессе эвтрофирования озера вследствие понижения уровня более чем на 20м. Все изменения флуктуаций уровня воды выражались изменениями в первичном автотрофном звене – фитопланктоне, где наблюдалось изменение количественных и качественных показателей сообщества. В особо продуктивные годы были отмечены “цветения” синезеленых водорослей таких как *Aphanizomenon flos-aquae*, *Anabaena f-a*, а также некоторых диатомовых таких как *Fragilaria crotonensis* и *Melosira granulata*. Исследования фитопланктона озера Севан последних лет важно проводить также в литоральной части озера, где наблюдалось затопление береговой зоны, что способствовало формированию новых биотов влияющих на часть пелагиали. Озеро состоит из двух частей: глубоководного Малого Севана (МС) и более мелкого Большого Севана (БС), максимальная глубина которых составляет 80 м и 30м соответственно. Исследования проведенные в 2016 году, фитопланктона литорали обеих частей озера выявило, что в литорали МС доминируют по своим качественным и количественным показателям диатомовые водоросли, а в БС по количественным показателям синезеленые, а по качественному составу диатомовые. По показателям средней биомассы 2 г/м³ (МС) и 0.96 г/м³ (БС), озеро можно классифицировать как мезотрофный водоем, однако было зарегистрировано осеннее “цветение” в БС синезеленой *Anabaena f-a* (более чем 3 млн. кл/л), а в МС “цветение” вызвал вид - *Melosira granulata* (2 016 000 кл/л). Рассчитанный индекс Шенона составил для обеих частей озера 1.3, что свидетельствует о бедном видовом составе. Индекс сапробности был в МС -1.97, а в БС чуть ниже - 1.86, хотя уровень загрязнения практически был одинаков. Таким образом, улучшение некоторых показателей, таких как увеличение прозрачности и уменьшение количественных показателей фитопланктона свидетельствует об олиготрофикации водоема, однако наблюдающиеся “цветения” могут быть признаком обратимости процессов эвтрофирования.

ВЛИЯНИЕ *HALIMIONE VERRUCIFERA* (M. BIEB.) AELLEN НА *SALICORNIA EUROPAEA* L. И *SUAEDA PROSTRATA* PALL.

Ганусяк А.П.¹, Кузьмина В.С.¹, Симагина Н.О.¹

¹Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Россия
greench12@yandex.ru

Межвидовые и внутривидовые взаимодействия лежат в основе формирования и функционирования растительных сообществ. Исследования проводили в С-3 Крыму, в прибрежной зоне о.Сасык в течение вегетационного периода 2016 года в сообществах ассоциаций: *Halimionietum (verruciferae) salicorniosum (europaea)*, *Halimionietum (verruciferae) suaedosum (prostratae)*. Рассматривали влияние многолетника *Halimione verrucifera* (M. Bieb.) Aellen как действующего вида (ДВ) на однолетники *Salicornia europaea* L. и *Suaeda prostrata* Pall.- подчиненные виды (ПВ).

Для характеристики фитогенного поля *H. verrucifera* закладывали полосные трансекты по сторонам света длиной 100 см, шириной 20 см и шагом 10 см. На отрезках трансект фиксировали численность растений ПВ, высоту их надземной части в течение вегетационного периода. Анализ результатов проводили методами математической статистики. Особи *H. verrucifera* были разделены на группы по периодам онтогенеза (п.о.) и возрастным состояниям согласно качественным морфологическим признакам.

В ходе исследований было установлено неравномерное распределение ПВ в пределах фитогенного поля *H. verrucifera*. Были выявлены пространства не занятые растительностью. Определена различная степень толерантности ПВ к влиянию ДВ. На отрезках трансект численность растений *S. europaea* была выше, чем *S. prostrata*. В концентрических зонах фитогенных полей растений *H. verrucifera* прегенеративного и генеративного п.о. растения *S. prostrata* отсутствовали в пределах 70 см. На отрезках трансект растения *S. europaea*, обладая более высокой толерантностью, произрастали во всех концентрических зонах фитогенного поля *H. verrucifera*.

В ходе онтогенеза многолетние галофиты кумулятивно преобразуют среду. Средообразующая способность *H. verrucifera* изменяется в течение онтогенеза, возрастая от прегенеративного к генеративному п.о. и снижаясь в постгенеративный п.о. Выявлена отрицательная коррелятивная зависимость между высотой *S. europaea*, *S. prostrata* и степенью удаления от растений *H. verrucifera* в прегенеративный ($r = -0,35 \pm 0,07$) и постгенеративный ($r = -0,55 \pm 0,15$) п.о. В генеративный п.о. с увеличением расстояния между ДВ и ПВ возрастают средние морфометрические параметры однолетних растений. Установлена положительная коррелятивная связь между высотой ПВ и расстоянием до *H. verrucifera* генеративного п.о. ($r = 0,9 \pm 0,1$). По мере удаления от центра фитогенного поля *H. verrucifera* снижается его воздействие на подчиненные виды.

ОЦЕНКА УЩЕРБА ГОРОДСКОМУ ЛЕСОПАРКУ "ЛЕБЯЖЬЕ" (Г.КАЗАНЬ) ОТ ПОТЕРИ ДРЕВЕСНО-КУСТАРНИКОВОЙ РАСТИТЕЛЬНОСТИ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ЛИНИИ ТРАССЫ ВСМ-2

Гимранова Э. А.¹

¹ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
gielvira@mail.ru

Строительство высокоскоростной железнодорожной магистрали (ВСМ-2) планируется на территории нескольких субъектов Российской Федерации, в число которых входит и республика Татарстан. В коридор проектирования ВСМ-2 попадает несколько особо охраняемых природных территорий. Непосредственно на территории г. Казани наибольший ущерб, вероятно, получит городской лесопарк «Лебяжье». В ходе строительства магистрали будет проведена вырубка древесной растительности и высоко вероятны значительные механические нарушения растительного покрова. Городской лесопарк представляет собой наиболее крупный естественный лесной массив в черте г. Казани и нарушение целостности этого лесопарка может привести к изменениям в функционировании системы экологического каркаса города.

Целью работы является оценка экологического ущерба от сноса древесно-кустарниковой растительности в результате строительства ВСМ-2 на территории ООПТ «Лебяжье».

В работе были использованы фондовые материалы КФУ и данные собственных полевых исследований древесно-кустарниковой растительности на территории лесопарка «Лебяжье». Непосредственно для исчисления ущерба применялась «Методика расчета фактических затрат на восстановление нарушенного состояния окружающей среды, причиненного повреждением и(или) уничтожением зеленых насаждений на территории г. Казани».

В результате анализа структуры древесно-кустарниковой растительности ООПТ «Лебяжье» выявлено, что наиболее распространенным видом древесной растительности является сосна обыкновенная (48%), вторым по численности видом является береза повислая (26%). Формула древостоя выглядит следующим образом: 5С+3Б+1Ос+1К. Среди кустарниковой растительности наиболее распространены бересклет бородавчатый (45%), рябина обыкновенная (40%), черемуха обыкновенная (14%).

Общее количество древесной растительности непосредственно попадающей в зону вырубки составило 262981 шт. Общее количество кустарниковой растительности непосредственно попадающей в зону вырубки составило 746060 шт. В денежном выражении экологический ущерб от потери древесно-кустарниковой растительности лесопарка «Лебяжье» при строительстве трассы ВСМ-2 составит 2 301 096 584 рубля.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ АВТОТРАНСПОРТА НА АССИМИЛЯЦИЮ ПЛАСТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОВ И НАКОПЛЕНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ОРГАНАХ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО НА ПРИМЕРЕ Г. МОСКВЫ

Голубева М.В.¹, Кулакова Н.Ю.², Баранова Ю.А.¹

¹ ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, Москва, Россия; ²ФГБУН Институт лесоведения РАН,
с. Успенское Московской области, Россия
Kirsche24@yandex.ru

Одной из проблем крупных городов является автотранспортное загрязнение. В воздушную среду от автомобилей поступают продукты полного и неполного окисления. Поэтому, влияние автотранспорта на зеленые насаждения является весьма актуальной темой на сегодняшний день.

Целью исследования явилась оценка накопления пластических углеводов и тяжелых металлов дубом черешчатым (*Quercus robur*), произрастающим в условиях различной автотранспортной нагрузки.

Исследование проводилось на базе Института лесоведения РАН. Изучались деревья исключительно старого генеративного онтогенетического состояния с раскидистым типом кроны. Пробы ветвей и листьев отбирались в двух точках, расположенных в Восточном административном округе города Москвы (по 6 деревьев в одном месте, всего 12 деревьев, 41 образец): в первом случае деревья росли в 2-3 метрах от магистрали (Свободный проспект), во втором случае – около 210 м от шоссе (Терлецкий парк).

Анализ содержания тяжёлых металлов в растительных образцах проведён на атомно-абсорбционном спектрометре, содержание моно- и дисахаров определялось фотометрическим методом с пикриновой кислотой по методу Соловьева. Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы Microsoft Excel.

По данным визуального осмотра санитарное состояние всех изученных деревьев оценивается как наилучшее; по шкале В.А. Алексеева дубы не имеют признаков ослабления.

Проведенный химический анализ показал, что наибольшее количество свинца и меди накапливается в дубах, произрастающих на Свободном проспекте, т.е. непосредственно около дороги. При этом содержание меди превышает содержание свинца в среднем в 14 раз в ветвях и листьях, отобранных в марте и мае, в июле и сентябре - превышение незначительное.

Также были проведены расчеты накопления тяжелых металлов древесными насаждениями, согласно которым одно дерево дуба черешчатого с хорошо развитой раскидистой кроной способно аккумулировать в ней не менее 8 мг свинца и 148 мг меди, освобождая от этих элементов городской воздух.

Содержание водорастворимых углеводов во время вегетационного периода (с марта по сентябрь) закономерно изменялось. В мае, в период активного роста листьев и побегов, содержание суммы моно- и дисахаров во всех деревьях было минимально. К сентябрю концентрация сахаров достигла максимальных величин, что свидетельствует о преобладании процессов ассимиляции.

Таким образом, насаждения дуба черешчатого можно рекомендовать как породу для озеленения территорий, которая является устойчивой к загрязнениям от автотранспорта.

ВОЗДЕЙСТВИЕ ИСКУССТВЕННЫХ УСЛОВИЙ СОДЕРЖАНИЯ СТЕРХА НА ПРАВИЛЬНОЕ ФОРМИРОВАНИЕ ЯИЦ.

Гречишева Я. С.¹

¹ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К. И. Скрябина, Москва, Россия
yanagrechishcheva@gmail.com

В связи с неуклонным увеличением численности населения, давление антропогенных факторов на окружающую среду становится все больше и больше. Результатом воздействия данного пресса среди прочего является и уменьшением биоразнообразия. Как известно, персистентное развитие нашей планеты возможно только в том случае, если будет достаточное биоразнообразие. Одним из ключей решения данной проблемы является деятельность природоохранных организаций, которые помимо прочего занимаются реинтродукцией. Не является исключением и стерх (*Grus leucogeranus*), как одного из эндемиков РФ, его активно разводят в зоопарках и питомниках страны.

Тема актуальна в связи с сокращением численности этого вида в природе и увеличением числа зоопарков, занимающихся содержанием и разведением редких представителей этого отряда и соответственно, необходимостью знать, правильно ли в искусственных условиях идет формирование яиц стерха.

Цель работы – провести сравнение между яйцами стерха, полученных в искусственных условиях и из дикой природы, и определить, насколько сильно условия неволи влияют на оомерические свойства яиц (ширина, длина). Это важно для понимания того, как правильно происходит формирование яиц в неволе (*ex situ*). Также возможно оценить насколько оптимальными являются условия содержания стерха для реализации их репродуктивного потенциала в искусственно созданных условиях среды.

Материалы и методы: были собраны и проанализированы данные, полученные из Питомника редких видов журавлей Окского заповедника за период с 2011- 2015 год. С помощью штангенциркуля с ценой деления 0,1мм было промерено 132 яйца.

Полученные результаты были подвергнуты статистической обработке с использованием пакета приложений «Анализ данных» программы Microsoft Excel. Для сравнения полученных результатов были взяты данные о промерах сходных параметров яиц стерха из дикой природы. После анализа выявили, что результаты, собранные на базе Питомника, лежат близко к середине интервала разбросов соответствующих средних значений из дикой природы.

Из проведенных исследований, сделан вывод, что сотрудниками Питомника подобраны оптимальные условия для размножения стерха, и формирование яиц идет правильно и не имеет значимых различий в оомерических свойствах яиц стерха из дикой природы. Все это служит хорошей перспективой для сохранения стерха, и восстановления его численности в природе.

ИММОБИЛИЗАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ БИОТИЧЕСКОГО БЛОКА ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ ЦЕНТРА ВОСТОЧНО-ЕВРОПЕЙСКОЙ РАВНИНЫ В ОТНОШЕНИИ ЦИНКА И КАДМИЯ

Железнова О. С.¹

¹ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, Москва, Россия
Zheleznova_rzn@mail.ru

Цинк (Zn) и кадмий (Cd) – элементы, принципиально различные по своей биофильности. Эссенциальный Zn активно участвует в метаболических процессах, тогда как токсичный Cd из-за высокого сродства к тиоловым группам белков способен нарушать метаболизм металлов в организме. Геохимическая аналогичность Zn и Cd – сходная конфигурация электронных оболочек и близкие значения атомного веса этих элементов – определяет многие общие черты их миграции в природных биогеохимических циклах.

Цель настоящей работы – изучить возможности биотического блока лесных экосистем по иммобилизации Zn и Cd.

В качестве объекта исследований выступили хвойно-широколиственные лесные сообщества юго-запада Мещерской низины. Почвенно-геохимическое опробование осуществлялось в 2013 г. На основе микроэлементных определений рассчитывались коэффициенты транслокации и дискриминации, баланс элементов.

Согласно полученным результатам, распределение биофильного Zn и токсичного Cd в фитомассе древесных растений достаточно контрастно. К наиболее характерным закономерностям можно отнести: 1) активную транслокацию Zn в надземные органы и существенную аккумуляцию Cd в тканях корней; 2) повышение селективности транспортных систем древесных растений по отношению к Cd в направлении: корни < тонкие ветви < фотосинтезирующие органы, что связано с необходимостью защиты фотосинтетического аппарата; 3) аккумуляцию избытка поглощенных металлов в коре гумидокатных (Zn) и ариданитных (Cd) видов; 4) барьерную функцию древесины в отношении Cd, обусловленную его преимущественным ксилемным транспортом в форме свободного иона Cd²⁺. При этом возможной причиной снижения барьерной функции древесины *Populus tremula* по отношению к Cd является повышенное хелатирование Cd в ксилемном соке растений рода *Populus*, связанное с особенностями метаболизма тиоловых соединений.

На основе балансовых исследований установлено, что: 1) масштабы рецикличной миграции Zn сопоставимы с запасами его почвенных подвижных форм (1468,7 г/га/год и 1959,0 г/га, соответственно), в то время как для Cd масштабы рецикличной миграции почти в 6 раз меньше его доступных для биопоглощения почвенных запасов (11,919 г/га/год и 64,0 г/га, соответственно); 2) долговременная иммобилизация Zn в фитомассе (106,34 г/га/год) превышает его поступление из атмосферы на 39,5%, в то время как ежегодная долговременная иммобилизация в фитомассе Cd (1,251 г/га/год) составляет лишь 29,1% от атмосферных выпадений; 3) в экосистемах Южной Мещеры Zn является дефицитным элементом, а Cd – избыточным.

ОСЕННЯЯ ОРНИТОФАУНА ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ ТЕРРИТОРИЙ ЗОНЫ БЕРЕЗОВЫХ ЛЕСОВ И РЕДКОЛЕСИЙ СЕВЕРО-ЗАПАДА МУРМАНСКОЙ ОБЛАСТИ

Зацаринный И. В.¹, Собчук И.С.¹, Варюхин В.С.¹

¹ФГБОУ ВО Рязанский государственный университет им. С.А. Есенина, Рязань, Россия
zatsarinny@mail.ru

Северо-запад Мурманской области является одним из крупных промышленно развитых центров региона. Основные производственные и, в значительной мере, освоенные территории этого района сосредоточены в зоне березовых лесов и редколесий в окрестностях г. Заполярный и пгт. Никель. В течение длительного периода времени природные экосистемы этого района испытывают на себе различные виды природного и техногенного воздействия. Структура населения птиц этого района в гнездовой период достаточно хорошо описана ранее и четко дифференцирована в зависимости от степени трансформации структуры природных экосистем (Кольская..., 2012; Зацаринный и др., 2016, 2016а, 2016 б)

Цель исследования – установить видовой состав и количественное обилие птиц, населяющих трансформированные территории зоны березовых лесов и редколесий, в осенний период.

Исследование выполнено в сентябре 2016 г. Проведены пешие маршрутные учеты птиц (Равкин, Челинцев, 1999) на четырех ранее заложенных маршрутах в окрестностях г. Заполярный и пгт. Никель (Зацаринный и др., 2016, 2016а), общей протяженностью 38,8 км.

В осенний период фауна птиц обследованной территории представлена небольшим количеством видов. Всего встречено 22 вида, из которых, наиболее многочисленными были чечетка *Acanthis flammea* (1,9 особей/км) и ворон *Corvus corax* (1,1). Достаточно обычны – рябинник *Turdus pilaris* (0,3), белобровик *Turdus*

iliacus (0,2), белая куропатка *Lagopus lagopus* (0,2), обыкновенный клест *Loxia curvirostra* (0,2), ворона серая *Corvus cornix* (0,2). Сравнительно редко встречаются: сорока *Pica pica*, свиристель *Bombycilla garrulous*, большая синица *Parus major*, буроголовая гаичка *Parus montanus*, чиж *Spinus spinus*, снегирь *Pyrrhula pyrrhula*. Большая часть перелетных видов в первой половине сентября уже не встречается в этом районе. Среди птиц этой группы наиболее обычен луговой конек *Anthus pratensis* (0,5 особей/км), реже ($\leq 0,1$ особей/км) встречаются белая трясогузка *Motacilla alba*, мухоловка-пеструшка *Ficedula hypoleuca*, пеночка-весничка *Phylloscopus trochilus*. Помимо воробьинообразных были встречены дербник *Falco columbarius* и хохлатая чернеть *Aythya fuligula*. На обследованной территории были встречены и птицы нехарактерные для лесных и болотных экосистем этого района, живущие, в том числе, в городах и поселках сизый голубь *Columba livia*, городская ласточка *Delichon urbica* и домовый воробей *Passer domesticus*.

ВЗАИМОСВЯЗЬ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ И ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ У ВИДОВ РОДА DROSOPHILA

Земская Н. В.^{1,2}, Москалев А. А.^{1,2,3,4}

¹ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия; ²ФГБОУ ВО Сыктывкарский государственный университет им. П. Сорокина, Сыктывкар, Россия; ³ФГАОУ ВО Московский физико-технический институт (государственный университет), Московская область, г. Долгопрудный; ⁴ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия
kukushonok90@yandex.ru

Существуют доказательства связи между стрессоустойчивостью и долголетием среди различных линий одного вида живых организмов. Долгоживущие линии часто относительно более устойчивы к различным видам стресса. В то же время короткоживущие мутанты модельных организмов, напротив, гиперчувствительны к неблагоприятным факторам среды. Подобные связи можно проследить, сравнивая разные виды между собой. Исследование нескольких эволюционно близких видов может выявить как уникальные, так и универсальные механизмы формирования генетических детерминант продолжительности жизни и стрессоустойчивости. Цель настоящего исследования состояла в выявлении взаимосвязей продолжительности жизни с различными характеристиками жизненного цикла и стрессоустойчивостью у 12 различных видов рода *Drosophila*.

Мы исследовали 12 видов рода *Drosophila* (*D. ananassae*, *D. austrosaltans*, *D. biarmipes*, *D. erecta*, *D. kikkawai*, *D. melanogaster*, *D. pseudoobscura*, *D. saltans*, *D. simulans*, *D. virilis*, *D. willistoni*, *D. yakuba*), оценили их продолжительность жизни, длительность предимагинального развития, массу тела имаго, фертильность и стрессоустойчивость (ответ на окислительный стресс (20 mM пероксид водорода), гипертермию (35 °C), голод, ионизирующее излучение). Виды дрозофил предоставлены В. Гладышевым (Гарвардская школа медицины, Бостон, США).

Наибольшую продолжительность жизни и стрессоустойчивость во всех исследованиях, кроме радиоустойчивости, показали особи *D. virilis*. Также относительно высокую устойчивость показали особи видов *D. kikkawai* (окислительный стресс), *D. pseudoobscura* (гипертермия), *D. biarmipes* (голодание) и *D. simulans* (радиоустойчивость). Исследуемые показатели имеют положительную (длительность развития, масса тела, стрессоустойчивость) или отрицательную (фертильность) корреляцию с видовой продолжительностью жизни. По-видимому, наблюдаемые отличия обусловлены адаптациями к разным условиям существования вида, сформировавшимися в естественной среде их обитания, а продолжительность жизни является ключевым интегративным показателем приспособленности, отражающим особенности жизнеспособности, различных характеристик жизненного цикла и стрессоустойчивости.

Работа выполнена при финансовой поддержке Комплексной программы УрО РАН по теме "Экологическая генетика, транскриптомика и метаболомика продолжительности жизни и стрессоустойчивости 13 видов рода *Drosophila*" № 15-4-4-23, № гос. регистрации 115082010010 и темы НИР «Сохранение коллекций экспериментальных животных для фундаментальных исследований».

ЛИШАЙНИКИ ГОРНОЙ ЧАСТИ ИШИМБАЙСКОГО РАЙОНА РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН

Ибрагимова А. И.¹, Каюпов Ф. И.¹

¹Стерлитамакский филиал ГОУ ВПО Башкирский государственный университет, Стерлитамак, Россия
alsu_ibragimova_1995@mail.ru

В наши дни, стала актуальной, проблема борьбы с загрязнением окружающей среды. Многие виды лишайников – хорошие индикаторы степени загрязненности воздуха. Именно поэтому ученых и привлекает этот уникальный дар природы. До сих пор находят все новые и новые виды лишайников, используют их в

качестве индикаторов атмосферного загрязнения на разных территориях России, однако все эти исследования сводятся к изучению видового разнообразия лишайнобиоты.

Целью нашей работы является исследование биоразнообразия лишайников горной части Ишимбайского района.

Исследования лишайников проводилось в 2015 году маршрутным методом вблизи села Макарово, восточнее районного центра города Ишимбай (широта 53° 36.032', долгота 56°44.805').

В результате изучения биоразнообразия лишайнобиоты горной части Ишимбайского района Республики Башкортостан нами был составлен список лишайников, состоящих из 72 видов.

Выявленные виды лишайников относятся к одному классу *Ascolichenes*, 4 порядкам: *Pyrenocarpales*, *Peltigerales*, *Lecanorales* и *Pertusariales*, 18 семействам и 27 родам.

Наибольшим видовым разнообразием отличается порядок *Lecanorales*, он насчитывает 63 видов. Достаточно малочисленными являются 3 следующих порядка – порядок *Peltigerales* – 5 видов, порядок *Pertusariales* – 3 вида и порядок *Pyrenocarpales*, представленный единственным экземпляром. Ведущими семействами лишайнобиоты района исследования являются: *Physciaceae*, *Parmeliaceae* и *Cladoniaceae*. Ведущими родами являются 4 рода – *Parmelia*, *Cladonia*, *Physcia* и *Physconia*.

Нами также был проведен морфологический анализ лишайников Ишимбайского района. По морфологическому строению типа таллома среди выявленных видов преобладают листоватые лишайники – 36 видов, за ними следуют накипные и кустистые лишайники по 18 видов каждый.

Сбор лишайников проводился с четырех типов субстрата: кора деревьев, обработанная древесина, почва и каменистые обнажения.

На коре различных пород деревьев нами собрано 52 вида лишайников, на каменистом субстрате – 11 видов, на поверхности почвы – 6 видов и на обработанной древесине – 3 вида.

Основными экологическими группами среди собранных нами лишайников на исследуемой территории являются: эпифитные – 49 видов, эпилитами 20 видов, эпигейными 8 видов и эпиксильными 4 вида лишайниками. Наличие таких экологических групп свидетельствует о том, что в районе исследования сохранены не только растительные субстраты (деревья и кустарники), но и почва и горные породы.

Лихенофлора горной части Ишимбайского района Республики Башкортостан недостаточно изучена и требует дальнейшего исследования.

ВЛИЯНИЕ АБИОТИЧЕСКОГО СТРЕССА НА ИЗМЕНЕНИЕ СТЕХИОМЕТРИИ C:N и C:P В СИСТЕМЕ ПОЧВА-РАСТЕНИЕ

Квиткина А. К.¹, Дударева Д.М.²

¹ФГБУН Институт физико-химических и экологических проблем почвоведения РАН, Пушкино, Россия,

²ФГБОУ ВО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия

aqvia@mail.ru

Абиотический стресс, а именно режим высушивания-увлажнения, может изменять соотношение C:N:P в растениях и в растворимых формах в почве настолько же сильно, как и внесение минеральных удобрений. Целью нашей работы являлось определить соотношение C:N:P при абиотических стрессах в растениях кукурузы, подвижных формах, экстрагируемых из почвы, и в микробной биомассе. В эксперименте использовали серую лесную почву (бывшая опытная станция ИФХиБПП РАН, г.Пушино), с глубины 0-20 см на луговом участке (Сорг=0,9%, pH=5,6, ППВ 46% весовых). Кукурузу (*Zea mays* L.) выращивали в оранжерее. Затем моделировали три варианта увлажнения в течение вегетационного сезона (90 сут) в трёх повторностях: контроль (постоянное оптимальное увлажнение 70% ППВ), постоянная засуха (недостаток увлажнения) и периодическая засуха.

Выделение из почвы C, N, P производилось методом прямой фумигации-экстракции (Setia et al., 2012). Подвижные формы C, N экстрагировали 0,05 М K₂SO₄, подвижные формы фосфора 0,5 М NaHCO₃ (Olsen, R., 1954). C и N в растениях и лиофилизированных почвенных экстрактах определяли на CHNS-анализаторе LECO 5. Фосфор определяли колориметрическим методом.

В системе почва-растение корни растений непосредственно контактируют как с микробной биомассой, так и с подвижными формами элементов минерального питания. Однако соотношения C:N:P в подвижных формах и микробной биомассе были на порядок меньше, чем в растениях. Рассчитали среднее значение между контролем и засухой, и в корнях кукурузы наблюдали максимально контрастное соотношение C:N:P 1200:20:1, в надземной фитомассе (листьях и стеблях) C:N:P отметили соотношение на уровне 550:20:1, в микробной биомассе C:N:P принимало значения 45:3:1, в подвижных формах C:N:P находилось на уровне 30:6:1. Изменения стехиометрии C:N:P в растениях и в подвижных формах почвы при этом были однонаправленными. Засуха приводила к снижению C:N и к увеличению N:P как в растениях, так и в почве. В микробной биомассе, напротив, при засухах C:N повышалось, а N:P снижалось. Между постоянной засухой и периодической засухой особой разницы не наблюдалось. Таким образом, любой недостаток влаги оказывал существенное влияние на

стехиометрию главных биофильных элементов в растениях. Также засухи существенно изменяли количество урожая и качество фитомассы кукурузы, снижая соотношение углерода к азоту в стеблях и корнях по сравнению с оптимально увлажненным контролем.

Исследование проведено при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ 17-04-01933 и РНФ 14-14-00625.

БИОПРЕПАРАТ ДЛЯ ОЧИСТКИ СТОЧНЫХ ВОД, ОСЛОЖНЕННЫХ ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ АММОНИЙНОГО АЗОТА

Кельник Д.И.¹, Глушень Е.М.¹

¹Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь
kelnik.daria@yandex.ru

Ухудшение качества поверхностных вод происходит из-за постоянного загрязнения веществами антропогенного происхождения, в том числе биогенными элементами (в частности, соединениями азота и фосфора), что связано с недостаточной глубиной очистки сточных вод. Из всех существующих методов удаления избыточного азота наиболее приемлема биологическая нитрификация с использованием эффективных микробных препаратов для интенсификации очистки сточных вод.

Цель работы состояла в создании биопрепарата для интенсификации очистки сточных вод от аммонийного азота.

Методом накопительной культуры получены штаммы микроорганизмов родов *Rhodococcus*, *Bacillus* и *Pseudomonas*, активно потребляющие аммонийный азот.

Для контроля процесса очистки сточных вод определяли содержание ХПК, БПК, аммонийного, нитратного и нитритного азота.

Основу препарата Деаммон для интенсификации очистки сточных вод составляют штаммы, проявившие высокий деструктивный потенциал по отношению к аммонийному азоту: *Rhodococcus sp.* ДД, *Bacillus sp.* ДК-18, *Bacillus sp.* ДДК-11, *Pseudomonas sp.* ДК-21, *Pseudomonas sp.* ГПД-7. Данные штаммы снижают содержание NH_4^+ в концентрации 36 мг/л за 24 часа на 88-95%.

Лабораторные испытания эффективности препарата Деаммон провели на модельной, а также сточной воде биологических очистных сооружений (БОС) УП «Несвижское ЖКХ». Варианты модельной сточной воды создавали с различным содержанием аммонийного азота (10 – 50 мг/л), которые являются проблемными для БОС.

В модельном стоке в периодических условиях препарат снижал аммонийный азот в концентрации 10 и 50 мг/л за 1 час на 100% и 93% соответственно.

Лабораторные исследования на сточной воде УП «Несвижское ЖКХ» с содержанием NH_4^+ равным 42,0 мг/л показали, что снижение концентрации аммонийного азота при использовании препарата Деаммон наиболее активно протекало в течение первых 9 часов.

Промышленные испытания препарата доказали его эффективность – концентрация аммонийного азота снизилась с 12,4 мг/л до 5,47 мг/л (на 44 %), а содержание нитратного и нитритного азота осталось на прежнем уровне. Эффективность очистки сточных вод от аммонийного азота установилась на постоянном уровне (80-87 %) и сохранялась на протяжении 6 месяцев. Показатели качества сточной воды (ХПК и БПК₅) снизились на 20-40 %.

Лабораторные и промышленные испытания препарата Деаммон, свидетельствуют о перспективности его использования на биологических очистных сооружениях для очистки сточных вод с высоким содержанием аммонийного азота.

ОСОБЕННОСТИ АЛЬГОФЛОРЫ ТЕХНОГЕННОГО ВОДОЕМА В ПЕРИОД УГАСАНИЯ

Кривина Е. С.¹

¹ФГБУН Институт экологии Волжского бассейна, Тольятти, Россия
pepelisa@yandex.ru

Малые водоемы являются очень важной частью урбанизированного ландшафта, при этом они испытывают на себе значительную антропогенную, в том числе и техногенную, нагрузку крупных городов, в черте которых они расположены.

В г.о. Тольятти расположена система малых водоемов – Васильевские озера, которые возникли в конце 50-х гг. XX в. после создания плотины Жигулевской ГЭС им. Ленина вследствие поднятия грунтовых вод и заполнения ими естественных понижений рельефа. Все они испытывают мощную нагрузку со стороны дачных

массивов и отдыхающих. Также некоторые водоемы стали объектом активной эксплуатации со стороны промышленных предприятий города в качестве приемников отходов. В результате некоторые из озер исчезли.

В данной работе рассматривается состояние фитопланктона оз. Шламонакопительное в период его угасания (с 2004 г. озеро считается пересохшим). Изучение трансформации альгофлоры водоема в этот период интересно и тем, что именно в это время происходит резкое изменение характера и уровня техногенной нагрузки. Изначально данный водоем использовался как приемник зол ТЭЦ, но после 1996 г. его эксплуатация была прекращена. Отбор проб проводился раз в 10 дней в период с июня по сентябрь 1991 г., с мая по октябрь 1992 г. и раз в месяц в 2001 г. За весь период исследования в альгофлоре планктон было обнаружено 76 таксонов водорослей рангом ниже рода (31 таксон – 1991-92 гг.; 71 – 2001 г.). После уменьшения техногенной нагрузки на водоем произошло значительное увеличение видового богатства водорослей планктона: общее видовое богатство водорослей возросло в 2,3 раза, а среднее удельное число видов возросло в 5 раз. Изменения были отмечены и в таксономической структуре альгофлоры планктона: на 1-ом этапе она охарактеризовалась как синезелено-диатомовая с заметным участием криптофитовых и зеленых водорослей, а в 2-ом – как зелено-синезеленая с заметным участием диатомовых водорослей.

Высокая видовая специфичность альгофлоры (коэффициент сходства Серенсена 44%) и низкий уровень преемственности видов (общий коэффициент преемственности составил 28 %) на начальном и конечном этапах исследования свидетельствовали о значительной трансформации экосистемы. Увеличение видового богатства водорослей при уменьшении степени антропогенной нагрузки на водоем позволяет предположить, что характер трансформации имел позитивный характер.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ БИОПЛЕНОК ДЛЯ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Кузнецов А.Л.¹, Левачева М.А.¹, Панаит А.И.¹, Суворов О.А.¹

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия
panait-artem@rambler.ru

Работа посвящена культивированию и морфологическому анализу клеточного состава микробных биопленок. Для пищевой индустрии и практической медицины биопленки представляют серьезную проблему, как источники загрязнения микроорганизмами продукции, технологических линий и инструментов. Исследование выполнено на оригинальном экспериментальном стенде в виде рециркуляционной системы протока воды с возможностью заражения микрофлорой и микроскопического изучения внутренней поверхности трубки. На основе полученных результатов сформулированы способы обработки, направленные на разрушение биопленки или на предотвращение ее формирования.

Микроорганизмы в водной среде существуют, как правило, не в планктонном виде, а в форме биопленки, сформированной на поверхности. На начальной стадии микроорганизмы выделяют во внешнюю среду экзополимеры, которые создают подложку для адгезии и внеклеточный матрикс вокруг заселяющих микроорганизмов. Такие многоклеточные системы способны поддерживать внутренний гомеостаз для заселяющих микроорганизмов и называются биопленками. Их развитие происходит на границе раздела и состоит из следующих этапов: первичная адгезия, адаптация бактерий к поверхности материала подложки, формирование многослойных клеточных структур и кластеров в результате секреции внеклеточного матрикса, а также активации процессов деления.

Рост прикрепленных микроорганизмов приводит к образованию бактериальных систем, погруженных в экзополимерный матрикс. Периодически фрагменты биопленки отторгаются в окружающую среду и бактерии колонизируют другие поверхности. Рост биопленки обусловлен параметрами среды: окислительно-восстановительным потенциалом раствора, его кислотностью, наличием субстратов, качеством поверхности и другими факторами. В результате возникает популяция (симбиоз) микрофлоры с высокой устойчивостью к антимикробным средствам, способностью адаптироваться к дезинфекции, а также переживать длительное время после удаления рабочего раствора.

Физиология микроорганизмов в монослойной однородной популяции качественно отличаются от процессов, протекающих в биопленке. В таком биоценозе микробных клеток устанавливается своеобразный гомеостаз на уровне обмена энергией, продуктами метаболизма и информацией. Изучение иерархии отношений в биопленке на производстве или в медицинском учреждении в силу ряда технических и методических причин затруднено. Это ограничение заставляет создавать испытательные стенды, применение которых решает задачу исследования биослоев в стандартизованных воспроизводимых условиях научной лаборатории.

Работа поддержана Российским научным фондом, проект № 16-16-00020.

АФИЛЛОФОРОИДНЫЕ ГРИБЫ СРЕДНЕАХТУБИНСКОГО И СВЕТЛОЯРСКОГО ЛЕСНИЧЕСТВ ВОЛГОГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

Курагина Н. С.¹

¹ФГБОУ ВПО Волгоградский государственный университет, Волгоград, Россия
pipenko87@mail.ru

Исследования афиллофороидных грибов на территории Среднеахтубинского и Светлоярского лесничеств Волгоградской области проводилось с 2011 по 2016 гг. на постоянных пробных площадях и маршрутах.

В результате проведенных исследований было выявлено 154 вида афиллофороидных грибов, относящихся к 94 родам, 29 семействам и 12 порядкам. Ведущими семействами, число видов в которых превышает среднее значение, являются *Polyporaceae* (25 видов), *Hymenochaetaceae* (20), *Meruliaceae* (17), *Schizoporaceae* (15), *Fomitopsidaceae* (12), *Phanerochaetaceae* (11), *Corticaceae* (6), *Peniophoraceae* (6). Таким образом, спектр ведущих семейств типичен для микобиоты аридной зоны Голарктики, где высокий уровень биоразнообразия характерен, прежде всего, для этих семейств.

Согласно анализу трофической структуры афиллофороидных базидиомицетов преобладающим субстратом, на котором поселяются грибы, является древесина на разных стадиях разложения. Наибольшей видовой специфичностью обладают *Quercus robur* и *Fraxinus lanceolata*. На *Quercus robur* было зафиксировано 30 грибов-стенотрофов (например, *Abortiporus biennis*, *Fistulina hepatica* и т.д.), на *Fraxinus lanceolata* – 11 стенотрофов (*Byssomerulius corium*, *Trametes pubescens* и т.д.).

86 видов грибов Среднеахтубинского и Светлоярского лесничеств относятся к мезофилам, 44 вида являются ксерофилами, а группа гигрофилов является самой малочисленной. Таким образом, можно отметить, что выявленное соотношение экологических групп является характерным для сухостепно-полупустынной зоны.

Благодарности: автор выражает свою благодарность за помощь в исследованиях Вадиму Александровичу Сагалаеву (ВолГУ), Евгение Вячеславовне Горемыкиной (ВолГУ), Марине Анатольевне Головановой (ВолГУ), Юрию Александровичу Ребриеву (ИОНЦ РАН), Сергею Викторовичу Волобуеву (БИН РАН), Вере Александровне Непотас (Среднеахтубинское лесничество), Александру Ивановичу Семёнову (Светлоярское лесничество).

ВЛИЯНИЕ ПОСТЕПЕННОГО ПОВЫШЕНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ СРЕДЫ НА ПОКАЗАТЕЛИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РАЗЛИЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ АМФИПОД *GMELINOIDES FASCIATUS* (STEBB., 1899)

**Лубяга Ю.А.², Трифонова М.С.¹, Аксенов-Грибанов Д.В.^{2,3}, Гурков А.Н.^{2,3}, Шатилина Ж.М.^{2,3},
Тимофеев М.А.³**

¹АНО Байкальский исследовательский центр, Иркутск, Россия; ²НИИ биологии ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия; ³ФГБУН Институт озерадения РАН, Санкт-Петербург, Россия

yuliya.a.lubyaga@gmail.com

Целью настоящего исследования являлось изучение влияния постепенного изменения температуры на интенсивность энергетического метаболизма у амфипод вида *Gmelinoides fasciatus* (Stebb., 1899) из литорали озера Байкал, Финского залива и Ладожского озера. Данный вид амфипод представляет собой уникальный объект для исследований адаптивных способностей гидробионтов, так как изначально он относится к немногочисленной в Байкале группе эндемичных эврибионтов, и благодаря высокой экологической пластичности ему удалось выйти далеко за пределы исходного ареала (Базикалова, 1951; Березина, 2016).

В работе использовали представителей трёх популяций амфипод *G. fasciatus* выловленных из водоёмов с различной минерализацией. После акклимации к лабораторным условиям, амфипод экспонировали в условиях постепенного повышения температуры (1 °С/ч) с 6°С до температуры гибели 100 % особей амфипод. Определяли изменения содержания основных энергетических метаболитов: глюкозы, гликогена и лактата.

Экспозиция в условиях постепенного повышения температуры среды приводила к накоплению лактата в диапазоне температур с 27 °С до 29 °С у амфипод из оз. Байкал, в то время как у амфипод из Финского залива накопление лактата отмечали лишь к концу эксперимента (33 °С). У представителей *G. fasciatus* из литорали Ладожского озера содержание лактата не отклонялось от контрольных значений на протяжении всего эксперимента. Отмечали накопление свободной глюкозы к окончанию эксперимента (31 °С) у *G. fasciatus* из Финского залива и оз. Байкал. Изменение содержания гликогена наблюдали у амфипод из популяции Ладожского озера, тогда как у представителей других популяций изменений выявлено не было. Показана

отрицательная корреляция ($r = -0,72$, $P = 0,00473$) между содержанием глюкозы и гликогена в условиях гипертермии у данного вида амфипод из Ладожского озера; у представителей двух других популяций корреляция не выражена.

Установлено, что возрастание температуры не приводит к многократному изменению содержания энергетических метаболитов у *G. fasciatus* из всех исследуемых мест обитания, характерному для других байкальских видов амфипод (Тимофеев, 2010). Это выделяет обособленное положение вида *G. fasciatus* среди амфипод озера Байкал не только по экологическим характеристикам, но и по биохимическим показателям. Вероятно, это отражает особый эволюционный путь данного вида, отличный от эволюционного пути других байкальских и небайкальских видов амфипод.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке грантов РФФИ 16-34-60060 мол_а_дк, CRDF FSCX-15-61168-0, 6.742.2016/ДААД, 6.734.2016/ДААД.

СОХРАНЕНИЕ ГЕНОФОНДА ИСЧЕЗАЮЩИХ СОРТОВ ЯБЛОНИ ЗАКАРПАТСКОЙ ОБЛАСТИ

Маргитай В. В.¹, Николайчук В. И.¹, Вакерич М. М.¹

¹Ужгородский национальный университет, биологический факультет, кафедра генетики, физиологии растений и микробиологии, Ужгород, Украина
vasyl.margitay@uzhnu.edu.ua

Разработки и принципы органического садоводства уже используются за пределами Украины. Украина с её агроклиматическим потенциалом может достичь прогресса в производстве экологически чистых яблок для внутреннего потребления и для реализации через экспорт. В Украине много земель, на которых не использовались пестициды и агрохимические удобрения в течение последних 20 лет, так как были разделены между паевиками, у которых не было желания или возможности их обрабатывать. Производство органической продукции при условии грамотной реализации и сертификации является рентабельным.

Основой органического садоводства есть сорта, пригодные для органического выращивания. Аборигенные сорта исчезают и заменяются новыми, популярными сортами. В связи с этим нужно сохранить генофонд этих сортов для использования в органическом садоводстве.

Аборигенные исчезающие сорта приспособлены к почвенно-климатическим условиям низменности и предгорья Закарпатской области, имеют устойчивость к основным болезням, не требуют тщательного ухода (детальная обрезка, использование средств защиты, прореживания завязи и т. д.). Деревья яблони сортов местного происхождения приспособлены к местным буроземно-подзолистым почвам. Хорошо растут на них, имеют здоровый вид, дают щедрые урожаи, долговечны и долго плодоносят.

Перед выделением аборигенных сортов сначала было изучено разнообразие сортов яблони в Закарпатской области. Из этого списка выбрали сорта, которые растут на территории нашей области в течение наиболее длительного времени и меньше подвержены заболеваниям (парша и мучнистая роса), имеют хорошие вкусовые качества, хорошо хранятся, имеют удовлетворительные размеры плода.

Проведен скрининг аборигенных сортов яблони на Закарпатье и выделены лучшие с высокими продуктивными показателями без применения пестицидов, проведено их описание в соответствии с методикой описания сортов. Вследствие скрининга ассортимента сортов яблони на Закарпатье были отобраны местные аборигенные сорта: Штетинское красное, Батул, Дурнайка, Полованя, Соливарское и Краса Закарпатья, Феркованя, сделаны первые шаги к созданию коллекции этих сортов. Были заготовлены черенки для окулировки с целью сохранения генофонда этих сортов и дальнейшего их использования. 31.08.2016 были проведены окулировки этих сортов на карликовый подвой М9, что даст возможность в следующем году получить однолетние кронированные саженцы.

Наиболее крупные плоды у сорта Дурнайка, меньше плоды (среднего размера) у сортов Полованя, Соливарское, Батул, Краса Закарпатья. Наименьшие плоды у сорта Штетинское красное, что характерно для этого сорта.

РАДИОНУКЛИДЫ (^{226}Ra , ^{232}Th , ^{40}K , ^{137}Cs) В ПОЧВАХ ТОСНЕНСКОГО РАЙОНА ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ РАЗНОГО ВРЕМЕНИ ОТБОРА ОБРАЗЦОВ

Мингареева Е.В.^{1,2}

¹ФГБНУ Центральный музей почвоведения им. В.В. Докучаева, Санкт-Петербург, Россия; ²ФГБНУ
Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, Обнинск, Россия

Elena.mingareeva@yandex.ru

Цель работы - исследование содержания естественных радионуклидов ^{226}Ra , ^{232}Th , ^{40}K и техногенного ^{137}Cs в разных типах почв Тосненского района Ленинградской области с использованием коллекции почвенных монолитов ЦМП им. В.В. Докучаева.

Объектом исследования явились почвы разных сроков отбора образцов (1934–2009гг.), сформированные на породах озерно-ледникового, водно-ледникового происхождения и аллювиальных отложениях. Образцы почв 1934 и 1964 гг. отбора условно были приняты за фоновые, т.к. не содержали ^{137}Cs .

Содержание ^{226}Ra в озерно-ледниковых отложениях (гор. С) составляет 19,5–25,9Бк/кг ($\Delta X=23,0$ Бк/кг), водно-ледниковых – 14,5–22,5Бк/кг ($\Delta X=18,5$ Бк/кг) и аллювиальных – 8,7 Бк/кг. Гумусовые и органогенные горизонты (далее - гумусовые) характеризовались широким диапазоном удельной активности (R_A) ^{226}Ra : 7,0–24,0Бк/кг ($\Delta X=17,7$ Бк/кг), что соответствовало диапазону R_A фоновых образцов. Торфяной и перегнойный горизонты характеризовались минимальной R_A – 7–9Бк/кг.

Содержание ^{232}Th в озерно-ледниковых отложениях варьирует в пределах от 27,7 до 60,8Бк/кг ($\Delta X=47,3$ Бк/кг), водно-ледниковых – от 27,6 до 41,5Бк/кг ($\Delta X=34,6$ Бк/кг), а аллювиальных – 11,7 Бк/кг. R_A ^{232}Th в гумусовых горизонтах варьирует в более узком диапазоне, по сравнению с почвообразующими породами: 10,0–43,4Бк/кг, $\Delta X=25,3$ Бк/кг. Аналогично ^{226}Ra , торфяной и перегнойный горизонты имеют минимальную активность – 10–11Бк/кг.

R_A ^{40}K в озерно-ледниковых отложениях варьирует в пределах от 464 до 1043 Бк/кг ($\Delta X=826$ Бк/кг), водно-ледниковых – от 417 до 688 Бк/кг ($\Delta X=552$ Бк/кг), а для аллювиальных составило 550Бк/кг. Гумусовые горизонты имеют очень широкий диапазон активности ^{40}K (50–852Бк/кг, $\Delta X=553$ Бк/кг). Как и в случае ^{226}Ra и ^{232}Th органогенные горизонты содержат минимум ^{40}K – 50–55Бк/кг.

Искусственный радионуклид ^{137}Cs обнаружен только в слое 0–20см почв сроков отбора 1996–2009гг. Диапазон его содержания варьирует от 20 до 290Бк/кг ($\Delta X=64,8$ Бк/кг). Максимальное количество наблюдается в верхних 5 см, ниже идет резкое уменьшение в несколько раз (3–13раз). Исключением является аллювиальная серогумусовая почва, в которой максимальная R_A ^{137}Cs приходится на глубину 5–20см. Максимальные R_A зафиксированы в торфяно-перегнойном элювоземе (290Бк/кг) и дерново-подзолистой почве (93,6Бк/кг). В остальных почвах R_A ^{137}Cs не превышает 49Бк/кг.

Установлены особенности профильного изменения содержания радионуклидов разных сроков отбора образцов.

ИЗУЧЕНИЕ ЗАГРЯЗНЕННОСТИ ПОЧВЫ НА СНЕГОСВАЛКЕ ГОРОДА ЧЕБОКСАРЫ МЕТОДОМ БИОИНДИКАЦИИ

Михайлова И. Н.¹, Алексеева В. А.²

¹Республиканское учреждение "Экспертно-аналитический центр экологической и промышленной безопасности", Чебоксары, Россия; ²МБОУ Начальная общеобразовательная школа № 2, Чебоксары, Россия
oleum8352@mail.ru

Зимой снег на дорогах загрязнен нефтепродуктами, взвешенными веществами, песком, солью. Снег вывозят на снегосвалки, которые загрязняют почву, растения, водные объекты.

Цель: определить загрязнение почвы со снегосвалки г. Чебоксары с помощью тест-растения кресс-салат.

Новизна работы: впервые исследована почва под снегосвалкой г. Чебоксары методом биоиндикации на тест-растении кресс-салат с двумя вариантами контроля (жилая зона и лес).

Практическая значимость: обозначена актуальная для г. Чебоксары проблема – складирование снега с дорог, экспериментально обоснована необходимость в ее решении.

Исследования проводились в январе-феврале 2017 г. Мы выращивали кресс-салат в трех вариантах почвы: опытный – почва со снегосвалки г. Чебоксары (в районе пр. Тракторостроителей), условный контроль – почва с дворовой территории (ул. Гастелло, д. 4/1), контроль – почва с городского леса (около ул. Ашмарина), по 3 повторности в каждом варианте. Высаживали по 200 семян, измеряли по 5 растений в каждой повторности в трех временных отрезках.

Наибольшая всхожесть семян выявлена на почве из леса, на почве с дворовой территории – почти в 2 раза меньше, на почве со снегосвалки – в 3,8 раза меньше, чем на почве из леса и в 2 раза меньше, чем со двора.

По длине корня в начале эксперимента растения снегосвалки были меньше растений лесной почвы в 4,7 раз, ниже растений с почвы двора в 1,4 раза. На 10-ый день растения с почвы снегосвалки и двора различаются недостоверно, по сравнению с растениями лесной почвы корень в 1,7 раза короче. Через 13 дней у растений со снегосвалки длина корня в среднем в 1,5 раза короче, чем растений с почвы двора и в 1,8 раз короче, чем у растений лесной почвы.

По длине стебля в начале эксперимента растения снегосвалки ниже растений лесной почвы в 1,3 раза, ниже растений с почвы двора в 1,2 раза. С десятого дня различия по длине стебля недостоверны, мы объясняем это большим влиянием фактора освещенности по сравнению с фактором загрязнения почвы зимой. На 13-ый день растения на почве со снегосвалки начали вянуть, стебель гнулся к земле.

Длина листа – наиболее слабый индикаторный признак. Достоверные отличия растений с почвы снегосвалки от растений лесной почвы выявлены в начале и в конце эксперимента (в 1,3 раза), отличия от растений с почвы двора – только в начале эксперимента (в 1,2 раза).

Наша гипотеза подтвердилась: растения на почве со снегосвалки хуже прорастают и более угнетены по сравнению с растениями с почвы леса и жилой зоны.

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ *ACONITUM EXCELSUM* В РАСТИТЕЛЬНЫХ СООБЩЕСТВАХ ЗАУРАЛЬЯ И ПРЕДУРАЛЬЯ

Насырова Р. Р.¹

¹Стерлитамакский филиал ГОУ ВПО Башкирский государственный университет, Стерлитамак, Россия
nrre93@mail.ru

Аконит высокий (Борец высокий) - *Aconitum excelsum* - высокое многолетнее травянистое растение из семейства лютиковых (Ranunculaceae) со стержневым корнем. Стебель прямостоячий, высотой от 60 см до 2 м, ветвистый. Листовые пластинки крупные, шириной до 30 см, они обладают сердцевидной формой, разделены на 3-9 пальчатых долей с редкими волосками. Цветки растения грязно-фиолетовые (иногда белые), неправильные, с конически-цилиндрическим шлемом. Как в корнях, так и в наземных частях аконита высокого содержится значительное количество алкалоидов. Растение ядовито! Но несмотря на это применяется в народной медицине. Они широко применяются в китайской медицине как болеутоляющее средство при плевритах, невралгии, ревматических болях, раке, а также при болезнях, сопровождающихся судорогами. Произрастает в широколиственных, хвойно-широколиственных и березовых лесах, на полянах, вырубках, в зарослях кустарников, лесных оврагах. Предпочитает умеренно увлажненные почвы, богатые питательными веществами. Выдерживает значительное затенение, но интенсивно цветет лишь в лесных прогалинах (так называемых «окнах») и на опушках.

Изучение биологии экологии Борца высокого проводилось в двух географически различающихся районах.

Целью исследования было: 1. Выявление морфометрических особенностей борца высокого. 2. Выявление сообществ, в которых встречается изучаемый объект

Было проведено семь геоботанических описаний. Величина каждой площадок составляла 25м². Для определения растений использовался «Определитель высших растений Башкирской АССР» (1988, 1989). В геоботанических описаниях, для каждого вида путем глазомерной оценки указывалось его количественное участие. Для количественной оценки представленности видов, использовалась шкала проективного покрытия по Б. М. Миркину (1989). Для оценки сходства видового состава описанных фитоценозов использовался коэффициент сходства Жаккара (КС). После выявления списка видов флоры была проанализирована их структура по фитоценолотическому статусу, жизненным формам, географической структуре, происхождению и ресурсному значению.

В ходе исследования были сделаны следующие выводы. В широколиственных и хвойно-широколиственных лесах стебель длинее, 180-185 см, чем а опушках, 90-120 см. Но количество цветков, напротив, больше на опушках леса, 40-50 шт., чем в затененных местах, 25-35 шт. Листовые пластинки крупные, шириной до 35 см. Размеры листьев сильно не отличаются, в зависимости от сообществ, в которых он произрастает.

ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО УЩЕРБА ВОДНЫМ БИОЛОГИЧЕСКИМ РЕСУРСАМ ВОЛЖСКОГО ПЛЕСА КУЙБЫШЕВСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

Нигматуллина Р. Р.¹

¹ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
ru08.96@yandex.ru

В целях развития туристических экскурсионных маршрутов на острове Свияжск в акватории Куйбышевского водохранилища планируется строительство водных подходов к причалу пассажирских судов для повышения его пропускной способности. Трасса планируемого дноуглубления находится в акватории Свияжского залива Куйбышевского водохранилища, с общей протяженностью 7,45 км. Объект исследования расположен к Юго-Востоку от острова Свияжск. Общая площадь дноуглубительных работ составит 20,35 га при объеме земляных работ 703 208м³.

Целью работы является определение величины экологического ущерба, наносимого водным биологическим ресурсам (ВБР) Куйбышевского водохранилища при реализации данного проекта. Для оценки величины ущерба ВБР в данной работе определялись следующие параметры: 1) количественные и качественные показатели ихтиофауны и ее кормовой базы на исследуемой акватории 2) зоны с повышенными показателями взмучивания воды, на которых будет наблюдаться летальное воздействие взвешенных частиц на кормовую базу и ихтиофауну.

Для расчета ущерба ВБР использована «Методика исчисления размера вреда, причиненного водным биологическим ресурсам, утвержденная приказом Росрыболовства от 25.11.2011 г. №1166». Для расчета зон повышенной мутности был определен объем общей мутности и рассчитаны зоны с летальными концентрациями взвешенных частиц.

По результатам расчетов мы определили, что размер ущерба в перерасчете на биомассу для фитопланктона составляет 2254660, 7 кг, для зоопланктона 2727237,5 кг, для зообентоса мягкого и твердого составляет 164314,5 кг и 1584461,27кг соответственно. В ухудшенных условиях обитания и воспроизводства рыб составляет 319,4 кг. В общей сумме мы получаем ущерб в 6791535,6 кг.

В соответствии с принятыми Средневолжским территориальным управлением Росрыболовства нормативами, в качестве компенсационных мероприятий после проведения дноуглубительных работ в акватории Свияжского залива Куйбышевского водохранилища необходимо осуществление искусственного воспроизводства ВБР путем выпуска 7484610 шт. двухлеток сазана или 32928657 шт. молоди стерляди.

СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ГЕЛЬМИНТОФАУНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ БУРОЗУБКИ *SOREX ARANEUS*

Никонорова И. А.1, Бугмырин С.В.¹

¹ФГБУН Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия
nikonnira@mail.ru

Обыкновенная бурозубка *Sorex araneus* L. (Insectivora: Soricidae) – один из наиболее многочисленных видов мелких млекопитающих Карелии, характеризующий высокой пищевой активностью и широким спектром питания. Высокая численность, круглогодичная сезонная активность и эвритопность делает этот вид удобным модельным объектом для проведения различных экологических исследований.

Целью данной работы стало изучение сезонных особенностей видового разнообразия и численности гельминтов *Sorex araneus* в условиях Карелии.

Основой для эколого-фаунистических исследований послужила электронная база данных (среда Access) гельминтов мелких млекопитающих, составленная по материалам полевых исследований, проводимых в Карелии с 1997 по 2007 гг. на базе полевого стационара лаборатории Паразитологии животных и растений ИБ КарНЦ РАН (д. Гомсельга).

Для анализа сезонного изменения видового состава гельминтофауны *S. araneus* выбран период с 2002 по 2006 гг. Всего исследовано 150 особей обыкновенной бурозубки (по 30 экз. в каждый сезон), отловленных в январе, мае-июне, июле, августе и октябре.

Всего за изученный период обнаружено 20 видов гельминтов, относящихся к 3 систематическим группам – трематоды (2), цестоды (8) и нематоды (10 видов). Максимальное видовое богатство паразитов отмечено в июне и июле – 20 видов, минимальное в январе – 14 видов. В течение всего сезона наблюдений у *S. araneus* постоянно регистрировались 13 видов гельминтов – 6 видов цестод *Monocercus arionis*, *Ditestolepis diaphana*, *Neoskjabinoilepis schaldybini*, *N. singularis*, *Staphylocystis furcata*, *Vigisolepis spinulosa*, и 7 видов нематод *Capillaria kutori*, *C. incrassata*, *Eucoleus oesophagicola*, *Porrocaecum depressum*, *Sobolephyme soricis*, *Longistriata codrus*, *L. didas*.

Практически для всех видов цестод прослеживается постепенное увеличение экстенсивности и интенсивности инвазии в течение летне-осеннего сезона и спад в зимний период. В начале и середине лета в

гельминтофауне *S. araneus* преобладают нематоды *Longistriata codrus* (ЭИ – 90%) и *L. didas* (73%). В осенний период высокие показатели заражённости характерны для цестод *Diestolepis diaphana* (63%), *Monocercus arionis* (57%), *Staphylocystis furcata* (53%). В зимний период самыми многочисленными паразитами были нематоды *Eucoleus oesophagicola* (48%) и *Porrocaecum depressum* (33%).

Сравнительный анализ видового разнообразия гельминтофауны *Sorex araneus* в разные сезоны года показал обеднение видового состава паразитов в зимний период по сравнению с летним. Состав и численность паразитов *Sorex araneus* может значительно варьировать в зависимости от периода (сезона года) проведения исследований, что в свою очередь определяется как экологией хозяина (активность, пространственное распределение, спектр питания), так и особенностями биологии самих паразитов.

ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ МАЛОЙ РЕКИ В УРБАНИЗИРОВАННОЙ СРЕДЕ

Ножкина С. С.¹, Платунова Г.Р.¹

¹ФГБОУ ВО Удмуртский государственный университет, Ижевск, Россия

SonyaNozhkina@yandex.ru

Малые реки являются основой формирования водных ресурсов. От их экологического состояния зависит благополучие прилегающих экосистем и крупных водотоков, берущих свое начало из них и качество питьевой воды, которую получают местные жители. Река Чемошурка является одной из малых рек г. Ижевска (Удмуртская Республика), объект рекреации в летний и зимний период, а также одна из притоков рек впадающих в Ижевский пруд, являющийся источником питьевого водоснабжения. В пойме реки расположено несколько гаражных кооперативов, крупные автомагистрали и район активной жилой застройки. В перспективе рядом с ней будет проживать огромное количество людей. В наших интересах проанализировать экологическое состояние реки, чтобы удостовериться в том, что благополучию местных граждан ничего не угрожает.

Цель работы: определить уровень загрязнения реки Чемошурка методом биотестирования донных отложений. Задачи: 1) определить количество органического вещества в донных отложениях на разных участках реки; 2) провести биотестирование грунта с помощью кресс-салата; 3) показать особенности флоры изучаемой территории.

Исследования проводились в июле-сентябре 2016 г. Были взяты 20 образцов донных отложений. Полученные пробы были высушены, перетерты и просеяны через сито. Массу органических веществ определяли, воздействуя на образцы температурой 800°C.

В ходе исследования реки была подтверждена закономерность содержания органических веществ в донных отложениях на протяжении водотока: по мере удаления от истока реки количество органики в грунте увеличивается. Количество органических веществ варьировало от 2% массы пробы в верхнем течении реки до 14% – в устье.

Для биотестирования грунта использовали семена кресс-салата. В 20 отобранных проб донных отложений высаживали по 100 семян в трёх повторностях. Наиболее чувствительным показателем оказалась всхожесть семян, а не линейные характеристики побегов. Было выявлено, что токсичность грунта от истока к устью увеличивается. Наибольшая всхожесть семян 80-90% была характерна для проб взятых в верхнем течении реки, наименьшая – по мере приближения к устью (20-30%).

В местах отбора проб донных отложений отмечался видовой состав растений. В верхнем и среднем течении реки высока роль синантропных видов мезофитов и гигрофитов, в нижнем течении реки – увеличивается роль водных и прибрежно-водных растений. Проведённые исследования показали, что уровень загрязнения малой реки высок в нижнем течении и устье.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ВИДООПРЕДЕЛЕНИЕ РАСТИТЕЛЬНОЯДНЫХ РЫБ, ВЫРАЩЕННЫХ В АКВАКУЛЬТУРЕ

Носова А. Ю.¹, Крук А. Ю.^{1,2}

¹Государственное научное учреждение Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Белоруссия;

²Республиканское унитарное предприятие Институт рыбного хозяйства, Минск, Белоруссия

A.Nosova@igc.by

Растительноядные рыбы – это экологическая группа видов, потребляющих первичную продукцию водоемов (фитопланктон и высшую водную растительность), практически не используемую карпом. К ним относятся белый амур, белый и пёстрый толстолобики, которые являются коренными обитателями рек

Центрального и Южного Китая. По данным ФАО в мировой, производимой в аквакультуре, рыбной продукции растительноядные рыбы занимают 30,2%.

В условиях искусственного воспроизводства рыб большое значение приобретает оценка качества производителей и состояние маточных стад. Кроме того, скрещивание между белым и пёстрым толстолобиками дает фертильное потомство, которое характеризуется улучшенными рыбохозяйственными свойствами с точки зрения темпов роста, устойчивости к болезням и выживаемости в сравнении с родительскими видами. Следует отметить, что наблюдаемые у гибридов F1 повышенные жизнестойкость и усиленный рост полностью нивелируются в последующих поколениях и их производительность оказывается существенно ниже, чем у родительских видов. В связи с широким использованием межвидовой гибридизации белого и пёстрого толстолобиков маточные стада в настоящее время засорены гибридами второго и последующих поколений, внешне трудно отличимыми от исходных видов, но обладающими пониженной плодовитостью. Проведение генетической паспортизации маточных стад позволяет выявить и предотвратить близкородственные скрещивания, приводящие к инбридингу и генетической депрессии, установить видовую принадлежность.

Для достижения поставленных целей ведутся генетические и морфо-физиологические исследования ремонтно-маточных стад и потомства от них на предмет генетической идентификации и родственного происхождения. К настоящему времени, подобраны микросателлитные маркеры *Hmo1*, *Hmo3* и *Hmo11*, оптимизированы состав и условия проведения ПЦР-анализа для определения видовой принадлежности белого и пёстрого толстолобиков. В результате скрининга ДНК банка 89 особей производителей растительноядных рыб показано, что 46 относятся к пёстрому толстолобику, 41 – к белому толстолобику, и две особи, определённые по морфологическим признакам как пёстрые толстолобики, имеют гибридное происхождение.

Генотипирование растительноядных рыб в Беларуси ранее не проводилось. Нами разрабатываются технологии генетической паспортизации белого амура, белого и пёстрого толстолобиков для повышения эффективности племенной работы в аквакультуре. Разработка схем разведения, основанных на изучении генотипов производителей, позволит повысить продуктивность как маточно-ремонтных стад, так и рыбопосадочного материала.

ПРИМЕНЕНИЕ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В БИОМОНИТОРИНГЕ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ.

Павлова А.И.¹

¹Стерлитамакский филиал ГОУ ВПО Башкирский государственный университет, Стерлитамак, Россия
anja.pavlova.ru@yandex.ru

Сохранение чистоты воды – одна из основных глобальных экологических проблем. Антропогенное воздействие приводит к повсеместному возрастанию загрязнения водных ресурсов.

В последние десятилетия широкое распространение для оценки степени генетического риска получили методы цитогенетического мониторинга, позволяющие определить суммарную нагрузку, являющуюся интегральным показателем эффекта сложнейших комбинаций мутагенов и их модификаторов. Данный метод непосредственно изучает хромосомные мутации, которые, могут служить косвенным показателем индукции генных мутаций и их результаты сравнительно легко экстраполируются на человека.

Целью работы было исследование генотоксического влияния качества озерной воды Южной части Башкирского Предуралья с использованием *Allium-test*.

Тест объект *Allium cepa* отличается своей дешевизной, не требует сложного хранения и ухода. Лук репчатый имеет хорошо изученный геном, и структура хромосом подходит для метафазного и анаелофазного анализа. Клеточный цикл в меристематических клетках корешков лука около 20 часов.

В целях учета генотоксического влияния загрязнения изучалась митотическая активность корней лукович. В каждом варианте проб озерной воды и в контроле определялись клетки на разных стадиях клеточного цикла.

По результатам статистического анализа фазных индексов корешков лука, пророщенных в пробах озерной воды и в контрольном варианте видно что: максимальный показатель митотического индекса в водной пробе о.Ташлаир составляет 14,93%, минимальное – О.Ялпой-8,64. Из результатов нашего исследования выявлен достоверно низкий анаелофазный индекс в корешках лука, пророщенных в пробах воды из о.Ялпой по сравнению с контролем ($p < 0,05$), что свидетельствует о митозомоделирующем влиянии качества озерной воды.

При анализе аномалий митоза корешков лукович были обнаружены следующие типы aberrаций: отставания и поломка хромосом, одиночные и двойные хромосомные мосты, нарушение ахроматинного веретена. Согласно литературным данным, частота хромосомных аномалий в митозе при спонтанном мутагенезе составляет около 2%. По результатам нашего исследования доля хромосомных aberrаций в корешках лука, пророщенных пробе озерной воды о.Ялпой составил 0,09% , с о.Ташлаир - 0,06%, с о.Караган -

0,1%, в контрольной выборке - 0,01%. Результаты, полученные в нашем исследовании, соответствуют уровню, отмеченному для спонтанного мутагенеза.

Таким образом, в результате исследования показатели хромосомных aberrаций статистически значимы и не превышает уровень спонтанных мутаций. Последнее свидетельствует о том, что опытные варианты не были подвергнуты действию факторов, имеющих мутагенную природу.

РАЗРАБОТКА СПЕЦИАЛЬНОЙ АНКЕТЫ ДЛЯ ОПИСАНИЯ И ПОДСЧЁТА РЕДКИХ И ЗАНОСНЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ

Пискарев Д. И.¹, Ломсков М. А.¹

¹ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина, Москва, Россия
biology.daniil@gmail.com

Для успешного сохранения редких видов необходимо проводить постоянный учет их численности. Помимо этого необходимо учитывать численность заносных видов растений для данного биоценоза, которые первое время могут активно захватывать его территории. Так как обычно ареалы произрастания растений занимают обширные территории, то требуется большое количество людей для проведения учёта численности растений, людей для охвата всей территории и получения достоверной информации о численности растений не хватает, и сам процесс описания растений занимает много времени. Данная проблема может быть решена двумя способами. Во-первых, это привлечение к подсчётам и сборам материалов непрофессионалов. Во-вторых, это - создание простой и информативной анкеты для учёта растений. Придуманная анкета решает обе проблемы - является простой и информативной и может быть использована как специалистами и любителями.

Цель: Создание простой и информативной анкеты для учёта редких и заносных растений.

Задачи: Создание анкеты, проведение тестовых описаний некоторых видов растений и релиз анкеты.

Анкета

1. Название на русском и на латинском.
2. Фотография растения, в нескольких ракурсах.
3. Место, где найдено растение, с координатами GPS.
4. Экоотоп.
5. Почва.
6. Дата, когда найдено растение.
7. Что известно о нахождении подобного вида растения в окрестностях.
8. Численность растений в популяции.
9. Состояние растения. Заметны ли повреждения?
10. Опылители, вредители и соседи растения из животного мира.
11. Есть ли угроза существованию популяции редкого растения?
12. Контактные данные наблюдателя.

Я уверен, что редкие и инвазивные виды растений можно описывать по одной методике, но также эту анкету можно использовать и для всех растений, ибо она соответствует всем требованиям геоботанических исследований. Для апробирования анкеты было выбрано четыре вида редких растения, находившихся в «Красной книге Калужской области», и три вида заносных растения. Данные семь видов были выбраны, потому что произрастают и в Национальном парке «Угра», и в Государственном природном заповеднике «Калужские засеки». Изучено, что численность заносных растений быстро увеличивается. В Национальном парке «Угра» инвазивных растений больше. Это связано с тем, что его территория более активно подвергается антропогенным воздействиям, и семена заносятся инвазивные виды растений. А поскольку через территорию Национального парка проложено много дорог, это тоже приводит к распространению заносных видов растений.

Данная анкета позволяет изучать экологическую ситуацию и уровень антропогенных взаимодействий на данной территории.

К ЛОКАЛЬНОЙ ФЛОРЕ "ПОРОЗОВО" ШАРКАНСКОГО РАЙОНА УДМУРТСКОЙ РЕСПУБЛИКИ

Савинова А. М.¹

¹ФГБОУ ВО Удмуртский Государственный Университет, Ижевск, Россия
savinova.albina1212@yandex.ru

Одним из районов Удмуртской Республики (УР), завораживающих посетителей красивыми ландшафтами, является Шарканский район. Его сильно расчленённый рельеф несёт на себе следы морфогенеза разных природных обстановок геологического прошлого, что обуславливает большое ландшафтное разнообразие территории, а вместе с этим и растительного покрова.

Цель: изучить локальную флору «Порозово» Шарканского района УР.

Сбор материала проводился методом локальных флор (ЛФ) в течение вегетационных сезонов 2014-2015 гг. На основании изучения гербарных материалов, литературных источников и собственных исследований выявлено 612 видов сосудистых растений, входящих в 85 семейств и 345 родов.

Анализ флоры проводился по различным признакам: таксономический, эколого-биологический, эколого-фитоценотический и географический анализы.

Для сравнительного анализа были выбраны локальная флора «Титово» Шарканского района УР, флора окрестностей д. Заречная Медла Дебесского района УР.

«Лицо» флоры выявляется при рассмотрении 10-15 ведущих семейств. Семейственно-видовой спектр в сравниваемых флорах отличается. Первые три места занимают семейства Asteraceae, Poaceae и Cyperaceae, исключением является в ЛФ «Титово» семейство Cyperaceae (4 место), т.к. анализ показал заниженное число видов этого семейства. Это объясняется тем, что на данной территории ниже разнообразие болот, меньше сырых местообитаний и заболоченных лугов. В спектре локальных флор «Порозово» и «Титово» резко повышена роль термофильного семейства Fabaceae. Усиление позиции этого семейства говорит о большем количестве сорных растений, связанных с хозяйственной деятельностью человека.

По экологической классификации И.Г. Серебрякова основу ЛФ «Порозово» составляют травянистые растения (87,6%). В спектре жизненных форм К. Раункиера значительно преобладают гемикриптофиты (52,6%). Затем следуют терофиты (16,8%) и геофиты (14%). Высокий процент этих групп объясняется близостью исследуемой территории к лесостепной зоне и антропогенной нарушенностью растительного покрова.

На территории исследования обнаружено 7 редких видов сосудистых растений, занесенных в Красную книгу УР: *Paesia anomala*, *Adonis sibirica*, *Cephalanthera rubra* (занесен в КК РФ), *Drosera rotundifolia*, *Carex capillaris*, *Epipactis atrorubens* и *Polystichum braunii*.

СООБЩЕСТВО КЛЕНА АМЕРИКАНСКОГО КАК МЕСТООБИТАНИЕ ЖУКОВ ЖУЖЕЛИЦ (В УСЛОВИЯХ ГОРОДА КАЛУГИ)

Алексанов В. В.¹, Самохина Л. Ю.¹, Хрипанцева Е. С.¹

¹ГБУ ДО КО "Областной эколого-биологический центр", Калуга, Россия
victor_alex@list.ru

Клен американский – заметный инвазионный вид, активно заселяющий поймы рек в Европейской части России и нередко образующий моновидовые заросли. Поэтому важно знать, насколько подходящими местообитаниями служат заросли данного вида деревьев для различных групп животных.

Исследованный участок расположен в пойме реки Оки, почти в центре города Калуги (N54°29'47,23" E36°15'51,95"), рядом с ивняками и усадебной застройкой. Древостой полностью сомкнутый, из деревьев клена американского диаметром ствола около 20 см. Территория мертвопокровная. Учеты проводились в 2015 г. при помощи почвенных ловушек. Статус видов оценивался по полноте демографического спектра в соответствии с методикой К.В. Макарова и А.В. Маталына (2009).

Среди жуужелиц супердоминантами оказались *Platynus assimilis* (Pk.) (28%) и *Pterostichus melanarius* (Ill.) (27%). В число субдоминантов (2-4%) вошли *Pterostichus niger* Schaller, *Patrobus atrorufus* (Stroem), *Carabus cancellatus* Ill., *Asaphidion flavipes* L.

P. assimilis имел полный демографический спектр, включающий все репродуктивные состояния имаго, а также личинок. Ювенильные имаго начали появляться с конца июля. Генеративные жуки встречались весь май и июнь. Таким образом, жизненный цикл типичный для вида – с весенне-летним размножением и зимовкой на стадии имаго. Выборка характеризовалась высокой (31%) долей имаго второго года жизни среди размножающихся особей.

P. melanarius встречался в биотопе с конца мая по сентябрь, ювенильные жуки появляются в июне, репродуктивный период длился с июня по сентябрь, пик активности – 2-я половина июля – 1-я половина

августа. Видимо, жизненный цикл – одногодичный с летне-осенним размножением и зимовкой на стадии имаго. Хотя формально спектр был полным, низкая уловистость ювенильных и иматурных особей позволяет предположить значительный вклад мигрантов из других стадий среди генеративных и постгенеративных имаго. Высока доля особей прашурных генераций (33%).

Жизненный цикл *P. niger* сходен с таковым предыдущего вида, только репродуктивный период короче (июль – август), с более выраженным пиком в первой половине июля, а доля жуков второго года жизни ниже (19%).

C. cancellatus имел репродуктивный период в мае – июне, в середине лета представлен личинками, в сентябре обнаружены имаго новой генерации.

P. atrorufus, *A. flavipes*, *Pterostichus anthracinus* (Ill.), *Loricera pilicornis* (F.) были представлены только генеративными имаго, что указывает на их статус мигрантов.

О ПРИМЕНИМОСТИ РЕГРЕССИОННОГО МЕТОДА ДЛЯ РАЗДЕЛЕНИЯ ДЫХАНИЯ ПОЧВЫ ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ НА КОМПОНЕНТЫ

Сморкалов И.А.¹

¹ФГБУН Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург, Россия
ivan.a.smorkalov@gmail.com

В настоящее время не решена важная методическая задача - разделение дыхания почвы на микробное и корневое. Часто используют регрессионный метод, базирующийся на предположении о существовании тесной связи дыхания с запасом корней (ЗК) в точке измерения. Однако он недостаточно апробирован. Целью работы была оценка применимости регрессионного метода для условий таежных лесов.

Работы проведены в июле-августе 2011 г. в еловых и березовых лесах Среднего и Южного Урала. Измерения проводили на 57 пробных площадях (ПП) 25х25 м (10 участков в ельниках-пихтарниках и 9 – в березняках, по 3 ПП на участок). На каждой ПП случайным образом выбирали 10 точек. В каждой точке определяли общее дыхание почвы (ОД), дыхание подстилки (ДП), мощность подстилки; отбирали пробы (диаметр 10 см) подстилки и верхнего (0-20 см) слоя почвы (7 см). В лабораторных условиях определяли ЗК в пробах почвы и подстилки (с учетом объема пробы). Всего масса корней была определена в 594 пробах подстилки и 580 пробах почвы

Оказалось, что для масштаба ПП (учетная единица - индивидуальное измерение) разделить ОД с помощью регрессионного метода невозможно. Так, для пары "ОД – общий ЗК" из 57 коэффициентов линейной корреляции (каждый базируется на 10-15 измерениях) только 3 оказались значимыми на 5%-ном уровне, для пары "ДПд - ЗК в подстилке" – только 13 (но значимость пяти из них - следствие ложной корреляции из-за нескольких выпадающих точек), для пары "дыхание почвы - ЗК в почве" – только 2. Во всех остальных случаях зависимость дыхания от ЗК отсутствовала (коэффициенты корреляции близки к нулю и, часто, отрицательны). Всего из 171 коэффициента только 18 были значимы. Однако даже эти значимые корреляции могут быть следствием чисто случайных причин: при использовании поправки на множественность сравнений Беньямини-Йекутили не остается ни одного значимого коэффициента. Возможно, отсутствие связи дыхания с ЗК связано со значительной погрешностью измерения массы корней из-за малого физического объема пробы либо с недостаточным для выявления корреляции диапазоном изменчивости массы корней и дыхания в рассматриваемом пространственном масштабе. Не исключено также, что регрессионный метод разделения дыхания не приложим для таежных лесов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных исследований УрО РАН (проект №15-12-4-27).

ВЛИЯНИЕ ПОСТОЯННОГО ОСВЕЩЕНИЯ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ ОСОБЕЙ *DROSOPHILA MELANOGASTER* СО СВЕРХЭКСПРЕССИЕЙ ГЕНОВ- РЕГУЛЯТОРОВ ЦИРКАДНЫХ РИТМОВ В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ И КИШЕЧНИКЕ.

Соловьёв И.А.^{1,2}, Добровольская Е.В.², Москалев А.А.^{1,2,3}

¹ФГБОУ ВО Сыктывкарский государственный университет им. П. Сорокина, Сыктывкар, Россия; ²ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия; ³ФГАОУ ВО Московский физико-технический институт (государственный университет), Московская область, г. Долгопрудный, Россия
ilyasolovev-ksc@yandex.ru

Свет является одним из основных средовых факторов, влияющих на старение организма. Например, известен эффект сокращения продолжительности жизни *Drosophila melanogaster* при постоянном освещении.

Мы поставили задачу уменьшить разрушительное воздействие перманентного освещения через индукцию экспрессии генов циркадных ритмов в нервной системе и в кишечнике дрозофилы. Кондиционная мифепристон-индуцибельная сверхэкспрессия генов циркадных ритмов в центральной нервной системе дрозофил в условиях непрерывного освещения привела к появлению существенных изменений в значениях медиан продолжительности жизни (ПЖ), как, впрочем, и во времени 90%-ой смертности популяций особей обоих полов. Прирост медианной ПЖ составил 11,2 % у самцов линии со сверхэкспрессией гена *cyc* ($p < 0.001$). Увеличение времени 90%-ой смертности отмечалось у самцов, сверхэкспрессирующих ген *per2.4* и составило 24% ($p < 0.0001$). Самки со сверхактивированным *cry12* показали 11,8%-ое удлинение времени 90%-ой смертности ($p < 0.0001$). Самки линии со сверхэкспрессией гена *cry24* имели медианную ПЖ на 33,3% дольше контрольной группы ($p < 0.0001$), 11% составил у них прирост времени 90% смертности ($p < 0.0001$). Увеличение медианной ПЖ на 25% было обнаружено и в случае со сверхактивацией у самок *per2.4* ($p < 0.05$), а так же у линии, сверхэкспрессирующей *per10* на 6,4% соответственно ($p < 0.05$). Следует отметить также эффект 16,4%-ого увеличения 90%-ой смертности у самок линии, сверхэкспрессирующей при кормлении мифепристоном *tim* ($p < 0.0001$), наряду с приростом медианной ПЖ у них же, составляющим 6,25% ($p < 0.001$). Мифепристон-индуцибельная сверхактивация генов *cry24* и *per2.4* в кишечнике самцов *D. melanogaster* в условиях непрерывного освещения привела к увеличению медианной продолжительности жизни на 10,6% ($p < 0.001$) и 8,5% ($p < 0.0001$) соответственно, в случае с самками только сверхэкспрессия *cry24* способствовала приросту медианной ПЖ на 8,3% ($p < 0.0001$). Таким образом индукция экспрессии некоторых генов-детерминант циркадных ритмов в нервной системе и кишечнике способна увеличить продолжительность жизни *D. melanogaster* в условиях постоянного освещения.

Исследование поддержано грантами Президиума УрО РАН №15-4-4-23 и РФФИ N16-34-00734.

300-ЛЕТНЯЯ ИСТОРИЯ ПОЖАРОВ В СОСНОВЫХ ЛЕСАХ ПРЕДГОРНОГО УЧАСТКА ПЕЧОРО-ИЛЫЧСКОГО ЗАПОВЕДНИКА

Спан Т. П.¹, Бобровский М. В.²

¹ФГБОУ ВО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия; ²ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пушкино, Россия
tatyana.crex1995@yandex.ru

Пожары являются ведущим фактором динамики бореальных лесов. Знание истории пожаров необходимо для причин понимания современного экосистемного и видового разнообразия лесов. Одним из основных подходов к реконструкции истории пожаров является дендрохронологический анализ: определение возраста подсушин на стволах деревьев, образование которых является результатов воздействия огня.

А.А. Алейниковым с соавторами (2015) на основе визуального дешифрирования космических снимков и анализа архивных материалов описана история пожаров на предгорном участке Печоро-Илычского заповедника для последних 150 лет. Детальные дендрохронологические исследования на этом участке заповедника не проводили. Цель настоящей работы – реконструкция истории пожаров в лесах бассейна р. Печоры на территории предгорного участка Печоро-Илычского заповедника.

Объектом исследования служили сосняки лишайниково-зеленомошные, бруснично-зеленомошные и чернично-зеленомошные в районе кордона заповедника Собинский (Собинская Заостровка); исследовали пять участков вдоль трансекты 5 км, идущей по левому берегу р. Печора и разделенных малыми реками или ручьями. На основной части территории сосны представлены несколькими поколениями; хорошо различимые визуально пожарные подсушины встречены на большинстве стволов сосен. Поскольку в заповеднике невозможно изучение возрастных колец на спилах, с помощью возрастного бурава отбирали керны. В 2014 г. М.В. Бобровским были отобраны 147 кернов из 72 стволов *Pinis sylvestris* и одного – *Larix sibirica*.

Керны препарировали; возраст определяли по изображению после сканирования с высоким разрешением (до 6400 dpi); хронологию сложных участков уточняли с помощью бинокуляра. Возраст пожаров удалось определить для подсушин на 125 кернах.

Полученные данные позволяют оценить как частоту, так и относительную интенсивность пожаров. Общая длительность построенной хронологии составила 327 лет. Установлены даты более 30 пожаров. Рассчитаны пожарные интервалы как для разных участков (разделенных водотоками), так и для разных временных отрезков. Средний пожарный интервал для всей исследованной территории составил менее 30 лет.

Алейников А.А., Тюрин А.В., Симакин Л.В., Ефименко А.С., Лазников А.А. История пожаров в темных хвойных лесах Печоро-Илычского заповедника со второй половины XIX в. по настоящее время // Сибирский лесной журнал. 2015. № 6. С. 31–42.

МОНИТОРИНГ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В СВЯЖСКОМ ЗАЛИВЕ КУЙБЫШЕВСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

Стукова А.В.¹

¹ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
aleksandra-stukova@rambler.ru

Мониторинг загрязнения тяжелых металлов в системе «вода – донные отложения» в зависимости от температуры может обеспечить большую достоверность эколого-геохимических прогнозов, поскольку в системе может произойти как вторичное загрязнение вод, так и их самоочищение.

Целью работы является оценка зависимости сезонной динамики содержания тяжелых металлов в системе «вода – донные отложения» в зависимости от температуры в Свяжском заливе Куйбышевского водохранилища.

В зависимости от характера содержания и распределения тяжелых металлов между компонентами Свяжского залива можно выделить две основные группы исследуемых металлов: никель-цинк-хром и медь-железо.

В данной работе рассмотрим коэффициент корреляции, который позволяет определить тесноту связи между содержанием тяжелых металлов в водной среде от содержания тяжелых металлов в донных отложениях. Связь концентрации железа в водной среде с концентрацией в донных отложениях выражена обратной зависимостью, исключение составляет медь, теснота связи отсутствует. Содержание хрома, никеля и цинка в водной среде увеличивается с увеличением содержания в донных отложениях и выражено прямой зависимостью.

Использование коэффициента распределения в сезонной динамике для каждого металла, позволяет определить миграционную активность тяжелых металлов из донных отложений в воду. Чем больше значение коэффициента распределения, тем активнее происходит миграция металла из донных отложений в воду и наоборот. Для всех исследуемых показателей осенний сезон характеризуется высокими значениями коэффициентов распределения (никель $IgKp=2,21$; хром $IgKp=2,82$; железо $IgKp=2,29$), что говорит о более активных процессах миграции тяжелых металлов. Исключение составляет цинк и медь, где наиболее интенсивно происходит миграция металлов в летний период (цинк $IgKp=1,67$ и медь $IgKp=1,75$).

В результате исследования были выведены уравнения, описывающие зависимость содержания тяжелых металлов в водной среде от температуры. Отмечено увеличение содержания никеля и железа и уменьшение содержания хрома в водной среде при повышении температуры. Показано отсутствие зависимости концентрации меди и цинка в водной среде от температуры.

В результате анализа качества воды на исследуемом водном объекте выявлено, что весенний и осенний сезон отличается низким значением индекса загрязненности воды (ИЗВ=0,71 и 0,43), что соответствует II классу. Летний период характеризуется повышенным значением ИЗВ (1,36), что соответствует III классу качества воды.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ТКАНЕЙ КОРЫ И ДРЕВЕСИНЫ ОДНОЛЕТНЕГО СТЕБЛЯ *BETULA ERMANII* CHAM. В УСЛОВИЯХ ГАЗОГИДРОТЕРМАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ВУЛКАНОВ ОСТРОВА КУНАШИР (КУРИЛЬСКИЕ ОСТРОВА).

Тальских А. И.¹, Копанина А. В.¹, Власова И. И.¹

¹ФГБУН Институт морской геологии и геофизики ДВО РАН, Южно-Сахалинск, Россия
anastasiya_talsk@mail.ru

Курильские острова – район активной вулканической деятельности, на территории которых 20 действующих вулканов и примерно столько же потухших. Формирование растительности под действием вулканической активностью тесно связано с жизненными стратегиями отдельных видов, направленными на выживание растений в конкретных экологических условиях. У таких видов сформировались различные адаптивные механизмы, обеспечивающие приспособление жизненных процессов к стрессовым условиям обитания.

Целью настоящего исследования является изучение особенностей структурных изменений тканей коры и древесины молодого стебля *Betula ermanii* Cham., произрастающей в условиях ландшафтов вулкана Менделеева и кальдеры вулкана Головкина на о. Кунашир.

Отбор и фиксацию образцов стеблей для анатомического анализа проводили согласно стандартным методическим подходам (Прозина, 1960; Барыкина и др., 2004). Анализ образцов выполнен на лабораторном оборудовании лаборатории экологии растений и геоэкологии ИМГиГ ДВО РАН. Компьютерная обработка изображений микросрезов для измерения биометрических параметров сделана с использованием программного обеспечения AxioVision CarlZeiss40v4.6.3.0 на световом микроскопе Axio Scope.A1, CarlZeiss. Было проанализировано 66 количественных показателей тканей коры и древесины однолетних стеблей. Объем

выборки для каждого параметра составлял 30 измерений. Для каждого параметра рассчитаны выборочное среднее и доверительный интервал для него (для доверительной вероятности 95 %).

Результаты исследования показали, что в однолетних стеблях *B. ertmanii* в условиях газогидротермальной деятельности изменяется мощность структур выполняющих защитную и депонирующую функцию – ширина перидермы и склеренхимных элементов, в паренхиме первичной коры увеличивается число кристаллов. Трансформации подвергаются и проводящие ткани: изменяется соотношение проводящих элементов вторичной флоэмы, аксиальной и лучевой флоэмной паренхимы, уменьшается количество ксилемных лучей, изменяются количественные параметры сосудов и трахеид. Выявлена различная реакция тканей коры и древесины однолетнего стебля *B. ertmanii*, в условия гидротермальной и сольфатарной деятельности, которая обусловлена комплексом факторов: различной водообеспеченностью растений, кислотностью и химическим составом субстратов, температурой окружающей среды и т.д.

Анализ полученных данных, позволяет сделать вывод о формировании сложного разнонаправленного процесса адаптации *B. ertmanii* в условиях газогидротермальной активности.

ИЗУЧЕНИЕ МИКРОБНОГО РАЗНООБРАЗИЯ В ПРОБЕ ПОЧВЫ ЗАПАДНО-КАЗАХСТАНСКИХ ОБЛАСТЕЙ

Тастамбек К. Т.¹, Акимбеков Н. Ш.², Ерназарова А. К.¹, Жубанова А.А.²

¹ НИИ проблем экологии, Алматы, Казахстан; ² Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан

tastambeku@gmail.com

Почва как природный ресурс и банк микробного разнообразия, выполняет ряд глобальных функций в биосфере. В настоящее время в населенных пунктах и сельских округах почва и вода существенно отличается от объектов естественных экосистем. Несомненно, что антропогенное загрязнение природной среды диктует необходимость разработки новых достоверных, краткосрочных и легковоспроизводимых методов оценки токсичности почв и воды - важнейших компонентов окружающей среды.

Данная работа посвящена изучению микробного разнообразия в пробе почвы Атырауской и Мангистауской областей. По результатам экспериментального определения микробного пейзажа в пробах Атырауской и Мангистауской областей установлено, что качественный состав весьма однообразен, а численность микроорганизмов в этих образцах не превышает 10⁴ КОЕ/г. Все это свидетельствует о том, что бактериальный пейзаж в изучаемом регионе относительно беден как по количественному, и качественному составу, что несомненно отрицательно влияет на процессы природного самоочищения почвенных экосистем, поскольку для бактериальных групп в качестве условного критерия количества принята величина не менее 1 млн. клеток на 1 г субстрата, т.е. только при такой численности они могут иметь главное экологическое значение.

Результаты исследований по определению почвенных микроорганизмов свидетельствуют, что во всех исследованиях проб в достоверном количестве были обнаружены жизнеспособные микроорганизмы. Численность различных групп микроорганизмов в почвенных образцах (КОЕ/г почвы). Таксономические группы микроорганизмов: по Мангистаускому региону: бактерии- 2,7x10⁴, грибы-1,3x10², дрожжи-3,5x10⁴; по Атыраускому региону: бактерии- 9,1x10⁴, грибы-6,2x10², дрожжи-5,1x10⁴.

Для бактериальных групп в качестве условного критерия количества принята величина не менее 1 млн. клеток на 1 г субстрата, и только при такой численности они могут иметь главное экологическое значение. Для дрожжей и грибов эта величина составляет 10 тыс. на 1 г. Однако, в исследуемой нами почве численность бактерий не превышала 10⁴ КОЕ/г, что свидетельствует о том, что бактериальный пейзаж в изучаемом регионе относительно беден по своему количественному и качественному составу. Это, может отрицательно влиять на процессы природного самоочищения почвенных экосистем.

Использование микроорганизмов для биомониторинга объектов окружающей среды основано на возможности оценки их ответной реакции на влияние факторов внешней среды в природных и техногенно измененных условиях по изменению количественных и качественных показателей их жизнедеятельности в динамике.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ NaCl И *BACILLUS SUBTILIS* НА РОСТ *CHLORELLA VULGARIS*

Тимофеева З. М.¹, Курамшина З. М.¹

¹Стерлитамакский филиал ГОУ ВПО Башкирский государственный университет, Стерлитамак, Россия
zubi.timofeeva@mail.ru

Засоленность среды является одним из важных факторов, оказывающих влияние на рост и метаболизм зеленых водорослей. Соль-стресс вызывает дисбаланс клеточных ионов, приводит к осмотическому стрессу, что в свою очередь приводит к замедлению роста.

В естественных местообитаниях, большинство бактерий, взаимосвязаны с водорослями и могут оказать полезные или вредные воздействия. Взаимодействие между водорослями и бактериями сложны и включают конкуренцию за ресурсы, производство антимикробных агентов, защиту от стрессов за счет производства внеклеточных полимерных веществ, и переход из металлов или трансформации за счет производства экссудата.

В последние годы использование пробиотиков в защите растений неуклонно растет и начинает заменить химических пестицидов. Сочетание традиционных химических обработок семян, процедура обработки семян на основе штаммов *Bacillus* становится интересной альтернативой.

Целью работы явилось определение совместного влияния хлорида натрия и бактерий *Bacillus subtilis* на *Chlorella vulgaris*.

В качестве тест-объекта была выбрана зеленая водоросль *Chlorella vulgaris*, которую выращивали на среде Бристоль. Перед началом эксперимента определяли исходное число клеток в камере Горяева. Затем методом разведений доводили число клеток до одинаковой (23-25 тысяч/см³) в контрольных и экспериментальных сосудах, содержащих 20 мл среды и вносили бактерии. Банки сверху накрыли акриловой тканью. В экспериментах использовали суспензии клеток культур *B. subtilis* штаммов 26Д, 11ВМ. Разведением в стерильном 0,9%-ном растворе NaCl получали культуры с такой концентрацией, чтобы в сосудах с водорослями число клеток бацилл составляло 10⁶ в 1 см³. Нами использовались следующие концентрации хлорида натрия: 0,01, 0,1, 0,5, 1, 5, 10 мг/л.

В первые сутки роста наблюдалось слабое стимулирование роста водорослей *C. vulgaris* по сравнению с контролем. В присутствии высоких концентраций NaCl рост был медленнее, более гетерогенным, и менее эффективным. Эндофитные штаммы бактерий *B. subtilis* 26Д и 11ВМ ингибировали рост водорослей *C. vulgaris* на 25 -30%. Наличие в среде одновременно ионов исследованных концентраций соли и бактерий *B. subtilis* не приводило к усилению ингибирующего действия на рост водорослей *C. vulgaris*. В условиях хлоридного засоления ингибирующее действие соли увеличивается.

ИССЛЕДОВАНИЕ ФОРМ НАХОЖДЕНИЯ ТЕХНОГЕННЫХ РАДИОНУКЛИДОВ В ВОДЕ МЕТОДОМ КАСКАДНОГО ФРАКЦИОНИРОВАНИЯ

Торопов А.С.¹

¹Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Томск, Россия
torop990@gmail.com

Искусственные радионуклиды в водных объектах радиационно-загрязненных площадок могут представлять потенциальную опасность для экосистем и человека, значительно перемещаясь за пределы участка загрязнения. Актуальность работы определяет недостаточная изученность форм нахождения трансурановых радионуклидов в водных объектах, как на экспериментальном, так и на теоретическом уровне.

Для понимания миграционной способности радионуклидов и их распределения по формам нахождения были поставлены модельные эксперименты с растворами, имитирующими природные воды, а также изучены формы нахождения радионуклидов в отдельных водных объектах Семипалатинского испытательного полигона (СИП) – водотоков штолен 177 и 503 площадки «Дегелен», а также озера «Телкем-2». Модельные растворы готовили с использованием грунта испытательных площадок СИП с содержанием ¹³⁷Cs, ⁹⁰Sr, ²⁴¹Am и ²³⁹⁺²⁴⁰Pu порядка n·(10⁴-10⁶) Бк/кг и дистиллированной воды. Пробы воды и модельных растворов подвергали последовательной каскадной фильтрации через мембраны с размерами пор 10, 1, 0,45, 0,1, 0,007 (100 кДа) и 0,003 мкм (10 кДа), что позволяет выделить взвешенные вещества, псевдоколлоиды и коллоиды различного размера, а также растворенные формы.

Выявлено, что в условиях модельных растворов ¹³⁷Cs находился преимущественно в псевдоколлоидной и растворенной форме (до 80 %), а ⁹⁰Sr – только в растворенной. ²⁴¹Am до 90% задерживался при фильтрации с частицами, имеющими размеры от 0,1 до 0,007 мкм (100 кДа), остальная часть – 0,1 мкм. Доля ²³⁹⁺²⁴⁰Pu, связанного с псевдоколлоидами (фракция 0,1-0,45 мкм) варьировала от 22 до 56 % от суммы форм нахождения, с коллоидными частицами размерами крупнее 100 кДа – от 33 до 72 %.

При изучении форм нахождения радионуклидов в водных объектах СИП было установлено, что порядка 70 % удельной активности ¹³⁷Cs в воде водотока штольни 177 площадки «Дегелен» составляла растворенная

форма, в остальных объектах – ниже предела обнаружения. Преобладающей формой нахождения ^{90}Sr (более 90%) для всех изученных водных объектов СИП была растворенная. Установлено, что $^{239+240}\text{Pu}$ находился как во взвешенной форме, так и в коллоидах и растворенной форме. В воде озера Телкем-2 и штольни 503 площадки «Дегелен» в процессе каскадной фильтрации на мембранах задерживается порядка 90% $^{239+240}\text{Pu}$ с максимумом на мембранах, отсекающих коллоиды (10 и 100 кДа). В воде водотока штольни 177 более 50% $^{239+240}\text{Pu}$ находилось в растворенной форме.

МХИ ПАМЯТНИКА ПРИРОДЫ "ПАРК УСАДЬБЫ ЯНОВСКИХ" (Г. КАЛУГА)

Удовкина Л.С.¹, Сионова М.Н.¹

¹ФГБОУ ВО Калужский государственный университет им. К.Э. Циолковского, Калуга, Россия
rovoran@mail.ru

Памятник природы регионального значения "Парк усадьбы Яновских", расположен в черте г. Калуги на дерново-слабоподзолистых, на суглинистой основе почвах. Изучение мхов этой ООПТ начато в 2016 г. Материал собирался во время маршрутных учетов в октябре-ноябре 2016 года.

Всего на обследованной территории отмечено 12 видов мхов из 8 семейств, относящихся к подклассу Бриевые, или Зеленые мхи (Bryidae): гидроамблистегий разнообразный (*Hygroamblystegium varium* (Hedw.) Mönk.); серполеская тонкая (*Serpoleskea subtilis* (Hedw.) Loeske); плагиомний остроконечный (*Plagiomnium cuspidatum* (Hedw.) T.J. Кор.); ортотрихум прекрасный (*Orthotrichum speciosum* (Hedw.) Nees); ортотрихум тупolistный (*O. obtusifolium* Brid.); лескея многоплодная (*Leskea polycarpa* Hedw.); пилезия многоцветковая (*Pylaisia polyantha* (Hedw.) B. S. G., Bruch et al.); цератодон пурпурный (*Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid.); брахитеций кочерга (*Brachythecium rutabulum* (Hedw.) Bruch et al.); брахитеций неровный (*B. salebrosum* (F. Weber & D. Mohr) Bruch et al.); саниония крючковатая (*Sanionia uncinata* (Hedw.) Loeske); сциурогипнум Штарке (*Sciuro-hypnum starkei* (Brid.) Ignatov & Huttunen). Редкие виды и охраняемые виды мхов отмечены не были. Собранные образцы хранятся в Гербарии Калужского государственного университета им. К.Э. Циолковского.

На территории парка усадьбы Яновских доминируют лесные виды мхов, 2 вида - *Brachythecium salebrosum* и *Ceratodon purpureus* встречаются в разных местообитаниях. Это связано с тем, что более чем на 80% территория памятника природы покрыта древесными насаждениями - сохранившимися фрагментами сада, парка, лесопосадок и природных лесов.

По субстратной приуроченности отмечено значительное видовое богатство эпифитов, что связано с наличием старовозрастных деревьев. Наиболее предпочитаемыми для мхов являются березы (4 вида мхов) и плодовые деревья. На почве найдены 2 вида: *Plagiomnium cuspidatum* и *Ceratodon purpureus*. По отношению к влажности отмеченные виды мхов мезофиты (7 видов) и ксеромезофиты (5 видов).

БИОИНДИКАЦИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ РЕКИ ГАВАРАГЕТ ПО ФИТОПЛАНКТОНУ

Хачикян Т. Г.¹, Степанян Л. Г.¹

¹Институт гидроэкологии и ихтиологии Научного центра зоологии и гидроэкологии, Ереван, Армения
listeus@yahoo.com

В озеро Севан впадают около 30 водотоков. Река Гаварагет одна из крупнейших рек, впадающих в Малый Севан. Длина реки составляет 50 км, площадь бассейна 480 км². Воды реки используются для целей орошения. Река подвергается антропогенному воздействию сельскохозяйственных и коммунально-бытовых стоков, со стороны города Гавар и нескольких крупных сел. Фитопланктон является первичным звеном трофической цепи, и наиболее быстро реагирует на изменение условий среды, а водоросли-индикаторы, являются хорошими показателями экологического состояния водоёмов.

В 2016 г. проводились сезонные исследования фитопланктона р. Гаварагет. Были определены видовой состав и количественные характеристики фитопланктона. На основании результатов, с помощью метода биоиндикации была оценена степень органического загрязнения реки.

В результате исследований выявлено 56 видов водорослей. По видовому разнообразию доминантной группой являлись диатомовые (38), субдоминантными были синезеленые (12) водоросли. У групп зеленых и эвгленовых водорослей наблюдался бедный видовой состав. Общая численность показателей фитопланктона колебалась в пределах 108 000-2 312 000 кл/л, а биомасса 0.32-9.04 г/м³. По количественным показателям, в целом доминировали синезеленые водоросли, составляя 78% и 64% по численности и биомассе соответственно. Наиболее высоких показателей в развитии достигали виды *Aphanothece clathrata*, *Microcystis aeruginosa*, *Phormidium tenue*, *Ph. sp.*, *Oscillatoria limnetica* и *Anabaena flos aquae*. Субдоминантной группой являлись

диатомовые водоросли, которые составили по показателям численности 21 и 31% по биомассе. По своим количественным показателям в группе диатомовых особо отличились виды *Cocconeis placentula*, *Nitzschia acicularis*, *N. palea*, *Achnanthes taeniata*, *Fragilaria capucina*. На различных участках реки индекс сапробности колебался в пределах от 1.3 (верхнее течение)– до 2 (среднее течение), что соответствует степени органического загрязнения от α -о- сапробного до β - мезосапробного уровня. В различные сезоны степень органического загрязнения устья реки соответствовала β -мезосапробному уровню загрязнения (1.7-1.9).

Таким образом, наблюдается увеличение органического загрязнения средней и устьевой части реки Гаварагет, по сравнению с верхним течением, что обусловлено увеличением антропогенного воздействия.

ЛОКАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РОСТА СЕРОГО МОРСКОГО ЕЖА (*STRONGYLOCENTROTUS INTERMEDIUS*) У СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО ПОБЕРЕЖЬЯ ЯПОНСКОГО МОРЯ

Чалиенко М. О.¹

¹ФГБНУ Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр, Владивосток, Россия
yumbo@yandex.ru

Гонады серого морского ежа являются деликатесным продуктом питания и источником многих биологически активных веществ. В водах России одним из основных районов добычи этого вида является северо-западное побережье Японского моря. Для организации рационального промысла *S. intermedius* на обширной акватории данного района необходимо учитывать локальные особенности роста животных. Ранее в водах России изучение возраста ежей по "регистрирующим структурам" практически не проводилось. Таким образом, целью настоящей работы было исследование размерно-возрастного состава и особенностей роста *S. intermedius* на акватории от зал. Опричник до мыса Грозный.

Материал для исследования был собран 24 сентября 2015 г. в прибрежной зоне от уреза воды до глубины 20 м. На каждой станции производили неселективный сбор ежей, у собранных особей измеряли диаметр панциря. Промысловыми считали *S. intermedius* размером более 45 мм. Всего было промерено 135 экз. ежей. Индивидуальный возраст животных определяли путем подсчета концентрических полос роста на пластинках панцирей ежей. Обработка пластинок проводилась по методу Йенсен. Возраст был определен у 93 экз. *S. intermedius*.

В исследуемом скоплении размеры ежей варьировали от 18 до 80 мм, при среднем 48 мм. Соотношение *S. intermedius* промысловых и непромысловых размеров было примерно одинаковым – 56 и 44% соответственно. В размерном составе животных выделялось три модальные группы: 24-27 мм (9 %), 44-45 мм (8 %); 60-65 мм (20%).

Возраст ежей варьировал от 1 до 12 лет, в основном встречались особи в возрасте 4 лет (19%). Однолетние особи имели в среднем диаметр панциря 24 мм, двухлетние – 29 мм, трехлетние – 34 мм, четырехлетние – 44 мм, пятилетние 53 мм, шестилетние – 58 мм, семилетние – 61 мм, восьмилетние – 63 мм, девятилетние – 65, десятилетние – 66 мм. Самый крупный образец размером 80 мм имел возраст 12 лет. Установлено, что максимальный линейный прирост ежей происходит на первом году жизни. Промысловых размеров в исследуемом районе животные достигают в возрасте от 3 до 5 лет. По достижению ежами 5 лет темпы линейного роста значительно снижаются. Прирост молоди на первом году жизни (24 мм), установленный в настоящем исследовании, сходен с данными, полученными в лабораторных условиях, где при постоянном кормлении в течение первого года жизни в аквариумах *S. intermedius* вырастают до 25 мм (Найденко, Дзюба, 1982). На основе приведенных результатов можно заключить, что темпы роста ежей на акватории от зал. Опричник до мыса Грозный достаточно высокие.

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ НОВОГО ШТАММА *BACILLUS SP. FL X-5* С ВЫСОКОЙ ФЛОКУЛИРУЮЩЕЙ СПОСОБНОСТЬЮ ДЛЯ ОЧИСТКИ СТОЧНЫХ ВОД

Чирикова М.С.¹, Петрова Г.М.¹, Алешкевич И.И.¹, Глушень Е.М.¹

¹Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Белоруссия
gem@mbio.bas-net.by

Очистка промышленных сточных вод тесно связана с охраной окружающей среды и является актуальной проблемой современности. На предприятиях пищевой промышленности распространены методы реагентной физико-химической очистки сточных вод. Однако эти способы очистки требуют применения химических флокулянтов и коагулянтов, что может приводить к вторичному загрязнению окружающей среды. В последние годы все больше внимания стало уделяться использованию биофлокулянтов, а также микроорганизмов, обладающих флокулирующей способностью.

Целью нашего исследования явились поиск и изучение микроорганизмов, способных продуцировать биофлокулянты, а также оценка возможности их применения для очистки сточных вод.

Выделение микроорганизмов проводили методом накопительных культур на основе почвы, сточных вод маслосырзавода, мясокомбината, коммунальных очистных сооружений, вод Черного моря, а также слизи рыб, обитающих в Республике Беларусь. Флокулирующую способность определяли через 72 ч культивирования, используя каолиновую суспензию (4 г/л) в качестве тестового объекта. Оптимизацию параметров культивирования проводили в аэробных условиях.

Методом накопительных культур из дерново-подзолистой почвы с добавлением сухой ламинарии был получен штамм FL X-5, проявляющий флокулирующую способность 88,8 %. На основании изучения морфолого-культуральных и физиолого-биохимических свойств штамм предварительно идентифицирован как *Bacillus sp.*

Показана зависимость между ростом культуры и продукцией биофлокулянта. Установлено, что максимальную флокулирующую активность (90,2 %) штамм проявляет через 13 часов с момента начала культивирования (конец экспоненциальной фазы роста).

Оптимизированы условия культивирования штамма (температура, pH, уровень аэрации), позволяющие повысить флокулирующую активность до 95,1 %. Полученный результат соответствует показателям активности мировых аналогов, что подтверждает перспективность использования выделенного штамма *Bacillus sp.* FL X-5 для очистки сточных вод пищевых производств методом флокуляции.

ВЛИЯНИЕ СНЕГОВОЙ ТАЛОЙ ВОДЫ НА РАЗВИТИЕ ПРОРОСТКОВ ОВСА ПОСЕВНОГО

Шкабура П. В.¹, Колоколова Н.Н.¹

¹ФГАОУ ВО Тюменский государственный университет, Тюмень, Россия
minikofini@gmail.com

Снеговой покров является эффективным накопителем органических и неорганических соединений в виде твердых частиц и аэрозольных загрязняющих веществ, в том числе и в виде тяжелых металлов, выпадающих из атмосферного воздуха, содержание которых в районах города Тюмени неидентично и зависит от наличия и влияния антропогенных факторов. Таким образом, снег может рассматриваться в качестве индикатора загрязнения окружающей среды. За комплексный показатель загрязнения снеговых талых вод можно принять фитотоксичность.

Целью нашей работы было изучение влияния снеговой талой воды, взятой из некоторых административных точек г. Тюмени на развитие проростков овса посевного сорта «Тюменский голозёрный» (*Avena sativa* L.) методом биотестирования. Для исследования фитотоксичности талых вод использовался вегетационный метод, основанный на определении показателей морфометрических параметров проростков овса. Подготовленные семена овса высевались в вегетационных сосудах со смачиванием снеговой талой водой, отобранной в каждой из 6 точек г. Тюмени. Контролем служили семена, посеянные в вегетационный сосуд со смачиванием дистиллированной водой. Определение морфометрических параметров было проведено на 10-суточных проростках.

В вегетационных опытах лабораторная всхожесть семян овса значительно снижалась, по сравнению с контролем, в условиях их обработки снеговой талой водой и в среднем изменялась от 47,6 до 69,5%, в контрольных вариантах – от 76,0 до 93,3%. В большинстве вариантов наблюдалось угнетение параметров надземных органов (длина, сырая и сухая масса побега) проростков и стимулирование параметров корневой системы (число, длина, сырая и сухая масса корней). Проведенный корреляционный анализ показал увеличение количества обратных и прямых связей между морфометрическими параметрами в опытных вариантах, по сравнению с контрольным.

Таким образом, проведенное исследование позволило оценить влияние снеговой талой воды на развитие семян овса посевного. Было установлено, что наибольшее ингибирующее воздействие на прорастание семян оказывает талая снеговая вода, отобранная в административных точках г. Тюмени с высокой степенью антропогенной нагрузки, которую подтверждают высокие концентрации свинца и гидрокарбонат-анионов в исследованных фракциях снега.

ПРИМЕНЕНИЕ ИНКАПСУЛИРОВАННОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО КРАСИТЕЛЯ SNARF-1 ДЛЯ ИЗМЕРЕНИЯ pH КРОВИ И МЕЖКЛЕТОЧНОЙ ЖИДКОСТИ МЫШЦ РЫБ *Danio rerio*

**Щапова Е.П.¹, Борвинская Е.В.^{1,2}, Гурков А.Н.¹, Бадурев Б.К.¹, Шатилина Ж.М.¹,
Меглинский И.В.^{1,3}, Тимофеев М.А.¹**

¹НИИ биологии ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия; ²ФГБУН Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия; ³Университет Оулу, Оулу, Финляндия
shchapova.katerina@gmail.com

Использование имплантируемых оптических микросенсоров предоставляет уникальную возможность для проведения динамических измерений различных физиологических параметров в определённых тканях у широкого диапазона организмов самых разных размеров. Одновременное введение оптических микросенсоров в разные органы объекта исследования может обеспечить получение полной картины физиологического состояния организма в реальном времени.

Одним из наиболее перспективных типов, имплантируемых микросенсоров являются инкапсулированные флуоресцентные сенсоры, функциональной частью которых служат флуоресцентные красители. Сейчас существует большое разнообразие флуоресцентных красителей, чей спектр или интенсивность флуоресценции чувствительны к таким показателям как pH, содержание ряда метаболитов и ионов. Инкапсуляция данных красителей в полупроницаемые полимерные оболочки позволяет применять их внутри живого организма и визуализировать с помощью флуоресцентного микроскопа. В рамках данного исследования метод инкапсулированных сенсоров был протестирован для оценки возможности измерения pH *in vivo* в кровотоке жаберных капилляров и в межклеточной жидкости мышц взрослых особей рыб *Danio rerio*.

Микроинкапсулированные сенсоры (МКС), содержащие краситель SNARF-1, со средним размером около 5 мкм были введены в кровеносную систему рыб через инъекции в почку и визуализированы в капиллярах жабр после удаления жаберной крышки. Кроме того, вводили МКС непосредственно в мышцы. Перед инъекциями и измерениями pH, рыба была анестезирована с помощью гвондичного масла. Использованный анестетик вызывает гибель либо переход в кому части особей и был выбран для демонстрации функциональности МКС. Измерения pH проводили по соотношению интенсивностей флуоресценции SNARF-1 на 605 и 640 нм непосредственно после инъекции, через 100 и 200 минут.

В течение всего эксперимента медианный pH крови в капиллярах жабр оставался стабильным в диапазоне 7,4-7,5. Медианный pH в мышцах живых рыб, напротив, демонстрировал повышение с 6,9 сразу после инъекции до 7,5 к окончанию эксперимента. У рыб в состоянии комы и погибших особей наблюдали статистически значимые снижения pH крови по сравнению с группой в нормальном состоянии и остановку повышения pH межклеточной жидкости мышц до уровня pH крови. Таким образом, полученные результаты демонстрируют функциональность МКС для параллельного измерения pH крови и межклеточной жидкости мышц у рыб.

Работа проведена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 15-14-10008.

ОГЛАВЛЕНИЕ:

СЕКЦИЯ «МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ»	3
ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЧВЫ ЧЕРНОЗЕМА ЮЖНОГО ПРИ ПРИМЕНЕНИИ NO-TILL И КОМПЛЕКСА МИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ Абдурашитова Э. Р. ¹ , Абдурашитов С. Ф. ¹	3
СТРУКТУРА МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА В ПОЧВАХ РЕКРЕАЦИОННЫХ ЗОН ГОРОДОВ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ Ажогина Т.Н. ¹ , Илюшкина Л.Н. ¹	3
ОЦЕНКА РАЗНООБРАЗИЯ ГЕНОВ ПОЛИКЕТИДСИНТАЗ И НЕРИБОСОМАЛЬНЫХ СИНТЕТАЗ АКТИНОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ГРУНТОВ ОЗЕРА БАЙКАЛ Аксенов-Грибанов Д.В. ¹ , Войцеховская И.В. ¹ , Тимофеев М.А. ¹	4
НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИЕ (УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИЕ) МИКРООРГАНИЗМЫ РЕКИ ЛИСТВЯНКА Андрианова Е. А. ¹	5
ИЗУЧЕНИЕ СОВМЕСТНЫХ ТРАНСКРИПТОМНЫХ ПРОФИЛЕЙ В СИМБИОТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЕ ГОРОХ ПОСЕВНОЙ(PISUM SATIVUM L.) - RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM Афонин А. М. ¹ , Сулима А. С. ¹ , Жернаков А. И. ¹ , Жуков А. В. ¹ , Борисов А. Ю. ¹ , Тихонович И.А. ¹	5
ИЗУЧЕНИЕ РЕАКЦИИ МХА RHYSCOMITRELLA PATENS НА ЗАРАЖЕНИЕ ФИТОПАТОГЕННЫМИ БАКТЕРИЯМИ Бараева Н.А. ¹ , Егорова Е.Д. ¹ , Виноградова С.В. ¹	6
МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ РЕСВЕРАТРОЛА НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ESCHERICHIA COLI К ЦИПРОФЛОКСАЦИНУ Безматерных К.В. ¹ , Смирнова Г.В. ¹ , Октябрьский О.Н. ¹	7
ИЗУЧЕНИЕ БИОПЛЁНКООБРАЗУЮЩИХ СВОЙСТВ LISTERIA MONOCYTOGENES В АССОЦИАЦИЯХ С БАКТЕРИЯМИ, ВЫДЕЛЕННЫМИ С ПОВЕРХНОСТИ РАСТЕНИЙ Бердасова А. С. ¹	7
ТЕРМОФИЛЬНЫЙ БАКТЕРИОФАГ AERIBACILLUS PALLIDUS AP45: БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА, АНАЛИЗ ГЕНОМА, ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С МИКРООРГАНИЗМОМ-ХОЗЯИНОМ Боковая О.В. ^{1,2} , Морозова В.В. ² , Козлова Ю.Н. ² , Бабкин И.В. ² , Тикунова Н.В. ²	8
ИССЛЕДОВАНИЕ КЛЕТОЧНОЙ ПОВЕРХНОСТИ И СОЦИАЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ БАКТЕРИЙ AZOSPIRILLUM BRASILENSE SP7 И SP245 Буданова А.А. ¹ , Широков А.А. ¹ , Матора Л.Ю. ¹	8
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНОВ GROESL БАКТЕРИЙ–ДЕСТРУКТОРОВ НЕФТИ РОДА RHODOCOCUS Букляревич А.А. ¹ , Чернявская М.И. ¹ , Валентович Л.Н. ² , Титок М.А.	9
ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОСТИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА НАКОПЛЕНИЕ ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТОВ У ШТАММА RHODOCOCUS RUBER П5-8 Бурлуцкая Е. Ю. ² , Максимова Ю. Г. ¹	10
ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ И МОЛЕКУЛЯРНОЙ ЭВОЛЮЦИИ ВИРУСА ГЕМОРАГИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ КРОЛИКОВ В РОССИИ С 2003 ПО 2016 ГГ. Бурмакина Г.С. ¹ , Малоголовкина Н.В. ¹ , Луницин А.В. ¹ , Малоголовкин А.С. ¹	10
ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ ЦИАНОБАКТЕРИАЛЬНОЙ ПРИРОДЫ НА РОСТ И ЛИПИДООБРАЗОВАНИЕ STREPTOMYCES CANOSUS CNMN-AC-02 Бырса М.Н. ¹	11
РАЗНООБРАЗИЕ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ ГОРОХА ПОСЕВНОГО PISUM SATIVUM L. Васильева Е.Н. ^{1,2} , Афонин А.М. ² , Ахтемова Г.А. ² , Жуков В.А. ² , Борисов А.Ю. ² , Тихонович И.А. ²	12
АНТАГОНИЗМ STREPTOMYCES MASSASPOREUS CNMN-06 К ПАТОГЕННЫМ МИКРООРГАНИЗМАМ Васильчук А. В. ¹	12

ИЗУЧЕНИЕ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ БАКТЕРИЙ ЦИКЛА СЕРЫ В ПРИБРЕЖНЫХ ДОННЫХ ОСАДКАХ ЧЕРНОГО МОРЯ Власова М.А. ¹ , Брюханов А.Л. ² , Перевалова А.А. ¹ , Малахова Т.В. ³ , Пименов Н.В. ¹	13
ВЛИЯНИЕ КОСМЕТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ НА РОСТ БИОПЛЕНОК МИКРООРГАНИЗМОВ- ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ МИКРОБИОТЫ КОЖИ Ганнесен А.В. ^{1,2,3} , Боррель В. ³ , Лефёвр Л. ⁴ , Нетрусов А.И. ¹ , Плакунов В.К. ² , Фейоле М.Г.Ж. ³	14
АДГЕЗИЯ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ <i>KLEBSIELLA OXYTOSA</i> И <i>MORGANELLA MORGANII</i> К КЛЕТКАМ КАРЦИНОМЫ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ Т-24 Гилязова А.Г. ¹ , Миннуллина Л.Ф. ¹ , Марданова А.М. ¹	14
ДИНАМИКА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ И ДЫХАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ РОДОКОККОВ ПРИ КОНТАКТЕ С НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННОЙ ВОДОЙ В БИОРЕАКТОРЕ Головина Е.Э. ¹ , Куюкина М.С. ^{1,2} , Ившина И.Б. ^{1,2}	15
ВЛИЯНИЕ 2,4,6-ТРИНИТРОТОЛУОЛА НА ИЗМЕНЕНИЕ СПЕКТРА ЦИТОЗОЛЬНЫХ БЕЛКОВ <i>BACILLUS PUMILUS</i> GA-1 Горбунова А.С. ¹ , Ваньков П.Ю. ¹ , Яковлева Г.Ю. ¹	16
СИДЕРАТЫ КАК ФАКТОР ПОВЫШЕНИЯ ПЛОДОРОДИЯ ПОЧВЫ Гритчин М.В. ¹	16
ПОЛУЧЕНИЕ ШТАММОВ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ С ИЗМЕНЁННОЙ РЕГУЛЯЦИЕЙ ГЕНОВ НИТРОГЕНАЗНОГО КОМПЛЕКСА Гуменко Р.С. ¹ , Владимиров А.А. ¹ , Саргалиева Г.М. ² , Акимова Е.С. ¹ , Баймиев Ан.Х. ¹	17
ЗНАКОМСТВО УЧЕНИКОВ МЛАДШИХ КЛАССОВ С МИРОМ МИКРООРГАНИЗМОВ Демьянова А.В. ¹ , Зверев А.А. ¹ , Казакова С.А. ¹ , Натапов В.А. ¹ , Никонова Д.О. ¹ , Хабибулина Р.Н. ¹	17
ХАРАКТЕРИСТИКА ПОВЕРХНОСТНЫХ ГЛИКОПОЛИМЕРОВ ФЛОКУЛИРУЮЩИХ КУЛЬТУР БАКТЕРИЙ <i>AZOSPIRILLUM BRASILENSE</i> Sp7 И Sp245 Евстигнеева С.С. ¹ , Федоненко Ю.П. ^{1,2} , Коннова С.А. ^{1,2}	18
ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСА МИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА МИКРОБОЦЕНОЗ РИЗОСФЕРЫ ГОРОХА Еговцева А.Ю. ¹ , Мельничук Т.Н. ¹	19
ВЫЖИВАНИЕ НЕСПОРООБРАЗУЮЩИХ АКТИНОБАКТЕРИЙ И ИХ РОЛЬ В ОЧИСТКЕ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ ОТ ТОКСИЧНЫХ ПОЛЛЮТАНТОВ Егозарьян Н.С. ^{1,2} , Борзова О.В. ^{1,3} , Поливцева В.Н. ¹ , Емельянова Е.В. ¹ , ...	19
Сузина Н.Е. ¹ , Головлева Л.А. ¹ , Соляникова И.П. ¹	19
БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЕ <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i> С МОРСКИМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ РОДА <i>PSEUDOMONAS</i> Еськова А. И. ¹ , Богатыренко Е. А. ² , Емельянова Т. И. ²	20
АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ КОЛИФОРМНЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ НЕБОЛЬШИХ ВОДОЕМОВ ГОРОДА РЯЗАНИ Ефремова Е.С. ¹ , Зацаринная Е.А. ¹	21
ДИНАМИКА РОСТА БИНАРНЫХ И МОНОВИДОВЫХ БИОПЛЕНОК НИТРИЛУТИЛИЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ Зорина А. С. ¹ , Максимова Ю. Г. ¹	21
РАСПРОСТРАНЕНИЕ АУКСОТРОФНЫХ ШТАММОВ СРЕДИ ОБЩИХ КОЛИФОРМНЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ Г. РЯЗАНИ. Калчугина В.Д. ¹ , Зацаринная Е.А. ¹	22
<i>ANCYLOBACTER PLANTIPHILUS</i> SP. NOV - НОВЫЙ ВИД АЭРОБНЫХ МЕТИЛОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ, АССОЦИИРОВАННЫХ С РАСТЕНИЯМИ Каратаева Т. А. ^{1,2} , Федоров Д.Н. ¹	22

ИЗУЧЕНИЕ НЕКУЛЬТИВИРУЕМЫХ БАКТЕРИЙ ГЛУБИННОЙ ПОРОДЫ МЕРГЕЛЯ (ВЕРХНЕКАМСКОЕ МЕСТОРОЖДЕНИЕ, ПЕРМСКИЙ КРАЙ) Карташова Ю.А. ¹ , Аликина И.Н. ¹ , Пьянкова А.А. ² , Плотнокова Е.Г. ^{1,2}	23
РАЗЛОЖЕНИЕ ГИДРОКСИ-ХЛОРБИФЕНИЛА ШТАММАМИ-ДЕСТРУКТОРАМИ <i>RHODOCOCCLUS WRATISLAVIENSIS</i> КТ112-7 И <i>RHODOCOCCLUS RUBER</i> P25 Кирьянова Т.Д. ¹ , Егорова Д.О. ²	24
СВОЙСТВА ЧИСТОЙ И НАКОПИТЕЛЬНЫХ КУЛЬТУР РАЗЛИЧНЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЫ Козлов А.В.	24
ИССЛЕДОВАНИЕ СИМБИОТИЧЕСКИХ АССОЦИАЦИЙ МЕЖДУ ПАРАМЕЦИЯМИ И БАКТЕРИЯМИ Коротаев А.В., Бенкен К.А., Сабанеева Е.В.	25
РОЛЬ ГЕНОВ ПОЛИМЕРАЗНОГО КОМПЛЕКСА В ФОРМИРОВАНИИ ФЕНОТИПА РЕАССОРТАНТОВ, ПОДГОТОВЛЕННЫХ НА ОСНОВЕ РЕЗЕРВНОГО ДОНОРА АТТЕНУАЦИИ ГРИППОЗНОЙ ВАКЦИНЫ В/ЛЕНИНГРАД/14/17/55 Крутикова Е. В. ¹ , Федорова Е. А. ¹ , Киселева И. В. ¹ , Большунова Е. А. ²	25
ХАРАКТЕРИСТИКА КРИСТАЛЛОГЕННЫХ ИЗОЛЯТОВ <i>BACILLUS THURINGIENSIS</i> , ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ НАСЕКОМЫХ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ КРЫМА Крыжко А. В., Кузнецова Л. Н.	26
МИКРОБИОМ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ НА ФОНЕ ВК-ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ Куприянова Е.А., Маланин С.Ю. ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия fewrandomletters@gmail.com	27
ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОВИРУСНОЙ АКТИВНОСТИ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПЕПТИДОВ В ОТНОШЕНИИ РЕСПИРАТОРНЫХ ВИРУСОВ. Купцова М. М., Шиловский И. П., Сундукова М. С.	27
БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ АММОНИЕВЫХ СОЛЕЙ ФУНКЦИОНАЛЬНО ЗАМЕЩЕННЫХ α - АМИНОФОСФОНАТОВ Куфелкина А.А. ^{1,2} , Азмуханова.Р.Р. ¹ , Гибадуллина Э.М. ¹ , Бурилов А.Р. ¹ , Кулик Н.В. ¹ , Волошина А.Д. ¹ , Зобов В.В. ^{1,3}	28
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СИСТЕМЫ RTCA XCELLIGENCE ДЛЯ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЦИТОПАТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ Малооголовкин А.С., Бурмакина Г.С.	28
ИЗУЧЕНИЕ БИОДЕСТРУКТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА КОЛЛЕКЦИОННЫХ КУЛЬТУР БАКТЕРИЙ ПОСЛЕ ЛИОФИЛИЗИРОВАННОГО ХРАНЕНИЯ Мамонтова Ю. А., Карасёва Э. В.	29
ВЛИЯНИЕ PH СРЕДЫ НА ОБРАЗОВАНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА БАКТЕРИЯМИ РАЗНЫХ СИСТЕМАТИЧЕСКИХ ГРУПП Марукевич В.В., Чернявская М.И., Новиков А.Г., Гайдук П.И., Титок М.А.	29
ТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО-ЭКСПРЕССИРУЮЩИХСЯ ГЕНОВ ВИРУС- ЗАРАЖЕННЫХ КЛЕТОК <i>BACILLUS ALTIUDINIS</i> . Миндубаева Л.Н., Шах Махмуд Р.З.	30
РАННЯЯ ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА ТИТРА <i>E. COLI</i> И КОЛИ-ФАГОВ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО МИКРОБИОЦЕНОЗА ГУСЯТ Москаленко Е.А. ¹ , Авдиенко В.В. ¹ , Осепчук Д.В. ¹ , Зимин А.А. ² , Скобликов Н.Э. ¹	31
ИССЛЕДОВАНИЕ РЕАКЦИИ МЕТАНОБРАЗУЮЩИХ АРХЕЙ НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС Ошуркова В.И. ¹ , Левко О.В. ² , Щербакова В.А. ¹	31
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ДЕТЕРМИНАНТ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ ДЕГРАДАЦИЮ НЕФТИ БАКТЕРИЯМИ <i>RHODOCOCCLUS PYRIDINIVORANS</i> 5AP Охремчук А.Э. ¹ , Чернявская М.И. ¹ , Дитченко М.В. ¹ , Валентович Л.Н. ² , Титок М.А. ¹	32
ВЛИЯНИЕ ГИПЕРПРОДУКЦИИ ПРОТЕАЗЫ HTRA НА БЕЛКОВЫЙ ПРОФИЛЬ КЛЕТОК БИОПЛЕНКИ <i>BACILLUS SUBTILIS</i> Павлова А. С., Чернова Л. С., Шарафутдинов И. С., Каюмов А. Р.	32

ОСОБЕННОСТИ СОСТАВА ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ <i>AZOSPIRILLUM BRASILENSE</i> SP245, ВЫРАЩЕННЫХ В ПРИСУТСТВИИ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ РАСТЕНИЙ Петрунина А. А. ¹ , Каневский М. В. ^{1, 2} , Коннова С. А. ^{1, 2}	33
СПОСОБНОСТЬ К БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЮ КЛИНИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ БАКТЕРИЙ, АССОЦИИРОВАННЫХ С БАКТЕРИЕМИЕЙ Пиядина А.Ю. ^{1,2,3} , Сухина М.А. ¹ , Блинкова Л.П. ³	34
ШТАММЫ-ДЕСТРУКТОРЫ БИФЕНИЛА РОДА <i>PSEUDOMONAS</i> , ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ ТЕХНОГЕННОЗАГРЯЗНЁННЫХ ПОЧВ Г. ПЕРМИ Плотникова Е.Г. ² , Воронина А.О. ¹	34
НОВЫЕ АСКОМИЦЕТЫ, ПРОДУЦИРУЮЩИЕ АЛКАЛОФИЛЬНЫЕ ЛАККАЗЫ Подъяблонская Е. В. ¹ , Ренфельд Ж. В. ² , Мясоедова Н. М. ¹ , Самойлова А. С. ¹ , Черных А. М. ¹ , Коломыцева М. П. ¹ , Головлева Л. А. ¹	35
ДИНАМИКА ПОСТРАДИАЦИОННОГО ВОССТАНОВЛЕНИЯ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА В СЛОЖНОЙ МНОГОКОМПОНЕНТНОЙ СИСТЕМЕ ПИЩЕВОГО ПРОДУКТА В ПРОЦЕССЕ ХРАНЕНИЯ Полякова И.В. ¹ , Кобялко В.О. ¹ , Козьмин Г.В. ¹ , Лыков И.Н. ²	36
ИССЛЕДОВАНИЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ВИРУСОВ ВИНОГРАДА НА ТЕРРИТОРИИ КРЫМА Поротикова Е.В. ¹ , Дмитренко Ю.Д. ¹ , Рисованная В.И. ² , Волков Я.А. ² , ...	36
Володин В.А. ² , Гориславец С.М. ² , Странишевская Е.П. ² , Камионская А.М. ¹ , Виноградова С.В. ¹	36
ИЗУЧЕНИЕ ЛИТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА <i>LYSOBACTER CAPSICI</i> VKMB-2533 Протас К.Г. ^{1,2} , Кудрякова И.В. ¹ , Васильева Н.В. ¹	37
ПРОТЕОГЕНОМНОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ ШТАММА УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩЕЙ БАКТЕРИИ <i>TSUKAMURELLA TYROSINOSOLVENS</i> PS2 Романова В.А., Григорьева Т.В., Лайков А.В. ¹	38
МОДЕЛИРОВАНИЕ ПОЛИМИКРОБНЫХ БИОПЛЕНОК В УСЛОВИЯХ АНТИБИОТИКОТЕРАПИИ Рыжикова М.Н. ¹ , Тризна Е.Ю. ¹ , Курбангалиева А.Р. ¹ , Каюмов А.Р. ¹	38
СТРУКТУРНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА <i>nodA</i> У ПРИРОДНЫХ ШТАММОВ <i>SINORHIZOBIUM MELILOTI</i> Саксаганская А.С. ¹ , Мунтян В.С. ¹ , Румянцева М.Л. ¹	39
МОДУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ, МЕТАБОЛИЗМА ИОНОВ ЖЕЛЕЗА И ОБЩЕГО СТРЕССОВОГО ОТВЕТА У БАКТЕРИЙ <i>ESCHERICHIA COLI</i> В СОСТАВЕ БИОПЛЕНОК ПРИ ДЕЙСТВИИ ЭКСТРАКТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ Самойлова З.Ю. ¹ , Смирнова Г.В. ¹ , Октябрьский О.Н. ¹	40
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ БЕЛКОВ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ КОНЬЮГАТИВНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ Саргалиева Г.М. ¹ , Владимирова А.А. ² , Гуменко Р.С. ² , Акимова Е.С. ² , Баймиев Ан.Х. ²	40
НОВЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОДЕГРАДАЦИИ БЕЛОГО ФОСФОРА Сахапов И. Ф. ² , Миндубаев А. З. ¹ , Волошина А. Д. ¹ , Валидов Ш. З. ² , Бабынин Э. В. ² , Яхваров Д.Г. ^{1,2}	41
КУЛЬТИВИРУЕМАЯ АЭРОБНАЯ МИКРОБИОТА КИШЕЧНОГО ТРАКТА ГУСЕЙ Синельникова Ю. С. ¹ , Присяжная Н. В. ² , Стародумова И. П. ^{2,3} , Смылова Ю. Д. ³ , Дорофеева Л.В. ²	42
ИЗУЧЕНИЕ РЕВЕРСИИ САЛЬМОНЕЛЛ ИЗ НЕКУЛЬТИВИРУЕМОГО СОСТОЯНИЯ В АКТИВНОЕ	42
Скорлупкина Н.Н. ^{1,2} , Сходова С. А. ¹ , Блинкова Л.П. ¹ , Чистякова Д.А. ¹ , Пахомов Ю.Д. ¹	42
ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ШТАММЫ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИЙ Смирнова И.И. ¹	43

ИЗУЧЕНИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ГЕНОВ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ КОНВЕРСИЮ АРОМАТИЧЕСКИХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ Стариков С.Н. ¹ , Саетова К.У. ² , Дмитриев М.Н. ²	43
ФИЛОГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ АКТИНОБАКТЕРИЙ РОДА <i>RATHAIBACTER</i> Стародумова И. П. ^{1,2} , Тарлачков С. В. ^{1,3} , Присяжная Н. В. ¹ , Дорофеева Л. В. ¹ , Арискина Е. В. ¹ , Василенко О. В. ¹	44
УСИЛЕНИЕ РОСТА БАКТЕРИЙ-НИТРИФИКАТОРОВ В ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ С ПОМОЩЬЮ ПЕРЕГНИВШЕГО РОГОЛИСТНИКА Суханова К.Д. ¹ , Денисенко Т.Е. ¹	45
ВЛИЯНИЕ МОЧЕВИНЫ НА ПОДВИЖНОСТЬ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ <i>MORGANELLA MORGANII</i> Тошева З.С. ¹ , Марданова А.М. ¹	45
САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ НЕКОТОРЫХ МАЛЫХ РЕК ГОРОДА РЯЗАНИ Трунякова А. С. ¹ , Круглова А. П. ¹	46
О ВОЗМОЖНОЙ СВЯЗИ ЭКСПОРТА ГЛУТАТИОНА С ИМПОРТОМ α -КЕТОГЛУТАРАТА В РАСТУЩИХ КУЛЬТУРАХ <i>ESCHERICHIA COLI</i> Тюленев А.В. ¹ , Смирнова Г.В. ¹ , Октябрьский О.Н. ¹	47
ОКИСЛЕНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОГО СУЛЬФИТ-ИОНА У БАКТЕРИЙ <i>ESCHERICHIA COLI</i> , МУТАНТНЫХ ПО КОМПОНЕНТАМ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ Ушаков В.Ю. ^{1,2} , Смирнова Г.В. ² , Октябрьский О.Н. ²	47
ДИАПАЗОН ДЕЙСТВИЯ МИКОЦИНОВ <i>WICKERHAMOMYCES ANOMALUS</i> СРЕДИ АСКОМИЦЕТНЫХ ДРОЖЖЕВЫХ ГРИБОВ Фарофонова В.В. ^{1,2} , Томашевская М.А. ²	48
ИЗУЧЕНИЕ АНТИФУНГАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ПРОБИОТИКА СУБТИЛИС-Ж Франк Я.В. ¹ , Колоколова Н.Н. ¹	48
АНАЛИЗ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ 4-ХЛОР-5-БЕНЗИЛИЗОКСАЗОЛА и 1,1-ДИХЛОРБЕНЗИЛЦИКЛОПРОПАНА. Хабаева З. Г. ¹ , Гаппоева В. С. ¹ , Газзаева Р. А. ¹ , Гаглоева А. Р. ¹ , Тотиков А. А. ¹	49
ВЛИЯНИЕ ВИРУСОВ БАКТЕРИЙ НА ДИНАМИКУ РОСТА КЛЕТОК <i>BACILLUS ALTITUDINIS</i> В БОГАТОЙ СРЕДЕ Хазиева Л. Р. ¹ , Шах Махмуд Р. ¹	50
ПОИСК АЦИДОТОЛЕРАНТНЫХ ШТАММОВ РОДА <i>PROPIONIBACTERIUM</i> ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ АЦИДОЗА РУБЦОВ КОРОВ Центроев З.М. ¹ , Рыжманова Я.В. ² , Автух А.Н. ² , Щербакова В.А. ²	50
СКРИНИНГ МИКРООРГАНИЗМОВ – ПРОДУЦЕНТОВ РОСТОСТИМУЛИРУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ Чайковский В. А. ¹	51
ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ПОЛОЖЕНИЕ И ФИТОСИМБИОТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НОВЫХ ИЗОЛЯТОВ АЭРОБНЫХ МЕТИЛОТРОФОВ ЮЖНОГО ПОБЕРЕЖЬЯ КРЫМА Чемодурова А.А. ¹ , Капарулина Е.Н. ²	51
АНАЛИЗ РАСПРОСТРАНЕНИЯ И СТАБИЛЬНОСТИ ГЕНОМНОГО ОСТРОВА SME19T У ПРИРОДНЫХ ШТАММОВ <i>SINORHIZOBIUM MELILOTI</i> Черкасова М. Е. ¹ , Мунтян В. С. ¹ , Румянцева М. Л. ¹	52
АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЛАКТОБАЦИЛЛ В ОТНОШЕНИИ <i>C.DIFFICILE</i> , ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ КИШЕЧНОГО БИОТОПА Чистякова Д.А. ¹ , Сухина М.А. ² , Блинкова Л.П. ³	53
МОДЕЛИРОВАНИЕ СИСТЕМЫ ВИДОВОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ БАКТЕРИЙ РОДА <i>PECROBACTERIUM</i> МЕТОДОМ ПЦР Шавель М.И., Песнякевич А.Г.	53
ИЗУЧЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ АСКОРБАТА ХИТОЗАНА МЕТОДОМ ПРОСВЕЧИВАЮЩЕЙ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ Швайко В.Ю. ¹ , Альзубейди А.Ф.А. ¹ , Каунова Д.Д. ¹ , Ксенофонтова О.Ю. ¹ , Зудина И.В. ¹	54

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ПРОДУКТОВ ФЕРМЕНТАЦИИ ЦЕЛЛЮЛОЗОСОДЕРЖАЩЕГО СЫРЬЯ ДРОЖЖЕ-БАКТЕРИАЛЬНЫМИ АССОЦИАЦИЯМИ Шокатаева Д.Х. ¹ , Жабакова А.Б. ¹ , Каналбек Г.К. ¹ , Кули Ж.Т. ¹	55
ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДЕСТРУКЦИИ ОРГАНОФОСФОНАТОВ У ПОЧВЕННЫХ БАКТЕРИЙ Эпиктетов Д. О. ¹ , Свиридов А. В. ¹ , Леонтьевский А. А. ¹	55
БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АССОЦИАТИВНЫХ БАКТЕРИЙ С РАСТЕНИЯМИ РИСА Якубовская А.И. ¹	56
СЕКЦИЯ «БИОФИЗИКА И БИОИНФОРМАТИКА»	57
СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ И МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ КРОВИ ПРИ УМЕРЕННОЙ ГИПОТЕРМИИ КРЫС Абдуллаев В.Р., Гаджимамаева А.А. 57	57
СВЯЗЫВАНИЕ НЕКОНКУРЕНТНОГО ИНГИБИТОРА ТИМИДИНФОСФОРИЛАЗ С НУКЛЕОЗИД- СВЯЗЫВАЮЩИМИ САЙТАМИ ТИМИДИНФОСФОРИЛАЗЫ ИЗ <i>SALMONELLA TYPHIMURIUM</i> ПО РЕЗУЛЬТАТАМ КОМПЬЮТЕРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ Балаев В.В.	57
ЭВОЛЮЦИЯ ГЕНОМОВ <i>BURKHOLDERIA SPP</i> Бочкарева О.О., Лопатина Е.В.	58
МОДИФИКАЦИЯ ЛИПИДНОГО БИСЛОЯ МЕМБРАН ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ДЕЙСТВИИ АМИЛОИДНЫХ ФИБРИЛЛ ИЗ ЛИЗОЦИМА Венская Е.И., Скоробогатова А.С.	58
ЕДИНЫЕ ПЕПТИДНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ МОРФОГЕНЕЗА РАСТЕНИЙ И ЖИВОТНЫХ Воробьева У.М. ^{1,2} , Тирас Х.П. ^{1,2} , Новиков К.Н. ³ , Емельяненко В.И. ^{1,2,3}	59
МОДИФИКАЦИЯ АЛЬБУМИНА ПОД ДЕЙСТВИЕМ ИНДУЦИРОВАННОГО ОКИСЛЕНИЯ Горобец М.Г., Бычкова А.В., Вассерман Л.А., Васильева А.Д., Пронкин П.Г., Плащина И.Г., Розенфельд М.А.	59
УЧАСТИЕ ПОРЫ, ИНДУЦИРУЕМОЙ ЖИРНЫМИ КИСЛОТАМИ И $SR^{2+}(CA^{2+})$, В МЕХАНИЗМЕ ОБРАТИМОГО SR^{2+} -ИНДУЦИРОВАННОГО ВЫБРОСА ИОНОВ ИЗ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫСЫ В УСЛОВИЯХ ГИПОТОНИИ Горячева Н.А., Белослудцева Н.В.	60
НЕКОТОРЫЕ ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ Ca^{2+} -ЗАВИСИМОЙ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПЕРМЕАБИЛИЗАЦИИ МИТОХОНДРИЙ, ИНДУЦИРОВАННОЙ ПРОДУКТАМИ ω -ОКИСЛЕНИЯ ЖИРНЫХ КИСЛОТ Дубинин М.В., Теньков К.С., Старинец В.С., Хорошавина Е.И., Самарцев В.Н.	61
МЕМБРАННАЯ АКТИВНОСТЬ БУТЕИНА Ефимова С.С., Щагина Л.В., Малев В.В., Остроумова О.С.	61
ОБРАЗОВАНИЕ ДОЛГОЖИВУЩИХ АКТИВНЫХ ФОРМ БЕЛКОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ Иванов В.Е. ¹ , Усачева А.М. ¹ , Черников А.В. ¹ , Карманова Е.Е. ^{1,2} , Гудков С.В. ^{1,3} , Брусков В.И. ^{1,2}	62
ИССЛЕДОВАНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК МОЧИ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНОГО БИОМАРКЕРА КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ ПРИ ГЕНОТОКСИЧЕСКИХ НАГРУЗКАХ Каменских К.А. ^{1,2} , Минкабиров Г.М. ¹ , Васильева Г.В. ¹ , Абдуллаев С.А. ^{1,2}	62
ВЛИЯНИЕ ГИПОМАГНИТНЫХ УСЛОВИЙ НА СИСТЕМУ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО КАЛЬЦИЙЗАВИСИМОГО ПРОТЕОЛИЗА НЕКОТОРЫХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ И РЫБ Канцерова Н.П. ¹ , Крылов В.В. ² , Лысенко Л.А. ¹ , Немова Н.Н. ¹	63
ИЗУЧЕНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ ЦНС ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ ГАММА-КВАНТАМИ Колесникова И.А. ^{1,2} , Буденная Н.Н. ^{1,2} , Северюхин Ю.С. ^{1,2} , Ляхова К.Н. ^{1,2}	64

ТОНКИЕ СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ИНГИБИТОРОВ ВОДОРОСЛЕВОГО РОСТА: КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ Кондратьев М.С. ¹	64
P2Y РЕЦЕПТОРЫ В МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА Котова П.Д.	65
МСК ГЕНЕРИРУЮТ Ca ²⁺ -ОТВЕТЫ НА АДЕНОЗИН ПО ФОСФОЛИПАЗНОМУ ПУТИ Кочкина Е.Н., Котова П.Д.	65
ПЕРОКСИД ВОДОРОДА КАК ВОЗМОЖНЫЙ ИНДУКТОР ВАРИАБЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА В ПРОРОСТКАХ ГОРОХА Ладейнова М. М., Воденев В. А.	66
MD_UTILS — НАБОР УТИЛИТ ДЛЯ РАСЧЕТА И АНАЛИЗА ИЗМЕНЕНИЯ СВОБОДНОЙ ЭНЕРГИИ СВЯЗЫВАНИЯ В БИОМОЛЕКУЛЯРНЫХ КОМПЛЕКСАХ МЕТОДОМ ЗОНТИЧНОЙ ВЫБОРКИ. Лашков А.А., Михайлов А.М.	66
ИССЛЕДОВАНИЕ ПОДАКТИВАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ В ПРИСУТСТВИИ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ Майоров А.С. ^{1,2} , Свешникова А.Н. ^{1,2,3}	67
ВНУТРЕННЕЕ ТРЕНИЕ МОЖЕТ ИГРАТЬ РЕШАЮЩУЮ РОЛЬ В ТЕРМОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ИОННЫХ КАНАЛОВ Окенов А.О., Москвин А.С., Япаров Б.Я.	67
ПРОМОТОРНЫЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ ФИЗИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ В ГЕНОМАХ БАКТЕРИОФАГОВ Орлов М.А. ¹ , Рясик А.А. ¹ , Зыкова Е.А. ¹ , Ермак Т.В. ² , Джелядин Т.Р. ¹ , Сорокин А.А. ¹	68
ВЛИЯНИЕ ИМИТАЦИИ ГЕОМАГНИТНОЙ БУРИ И ВРЕМЕННОГО СМЕЩЕНИЯ СУТОЧНОЙ ГЕОМАГНИТНОЙ ВАРИАЦИИ НА ЭМБРИОНЫ ПЛОТВЫ RUTILUS RUTILUS L. Осипова Е.А., Панкова Н.А., Крылов В.В.	68
ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО СВЕТОДИОДНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ 400 И 460 НМ НА РАЗВИТИЕ ПЕРЕВИВНОЙ ОПУХОЛИ У БЕЛЫХ НЕЛИНЕЙНЫХ КРЫС С РАЗНЫМ ИСХОДНЫМ УРОВНЕМ ОРИЕНТИРОВОЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ АКТИВНОСТИ Плеханова Е.С. ¹ , Чернигина И.А. ¹ , Чернов В.В. ² , Щербатюк Т.Г. ¹	69
АНАЛИЗ СУБСТРАТНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ ДИОКСИГЕНАЗ – ДЕСТРУКТОРОВ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ НЕФТИ Подпорин Д.А. ^{1,2} , Кондратьев М.С. ²	70
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КАТИОННЫХ НКЖ СТРУКТУРНОГО “μ-S” ТИПА С ФЕРРИ- И ФЕРРОЦИТОХРОМОМ С. Покидова О.В. ¹ , Психа Б.Л. ¹ , Руднева Т.Н. ¹ , Шкондина Н.И. ¹ , Санина Н.А. ¹ , Котельников А.И. ¹	70
ВСПЛЕСКИ УРОВНЯ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЛАБОРАТОРНЫХ ГРУПП ОСОБЕЙ DROSOPHILA MELANOGASTER И ГЕОМАГНИТНЫЕ ВОЗМУЩЕНИЯ Прикоп М.В., Баженов А.А.	71
ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ NGS ДЛЯ АНАЛИЗА КАРИОТИПА КОПЫТНОГО ЛЕММИНГА (DISTOSTONYX TORQUATUS) Прокопов Д. Ю. ^{1,2} , Макунин А. И. ² , Романенко С. А. ^{1,2} , Дружкова А. С. ² , Графодатский А.С. ^{1,2} , Трифионов В. А. ^{1,2}	71
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПРОСТРАНСТВЕННЫХ СТРУКТУР КОМПЛЕКСОВ УРИДИНФОСФОРИЛАЗЫ ХОЛЕРНОГО ВИБРИОНА С УРИДИНОМ И УРАЦИЛОМ. Прокофьев И.И., Лашков А.А., Балаев В.В., Габдулхаков А.Г., Михайлов А.М.	72
ИССЛЕДОВАНИЕ ДИАТОМОВЫХ ВОДОРОСЛЕЙ (BACILLARIOPHYTA) С ПОМОЩЬЮ КОНФОКАЛЬНОЙ РАМАН-МИКРОСКОПИИ Романова Д.Ю. ¹ , Елецкая А.А. ² , Мосунов А.А. ²	72
ПРОАПОПТОТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСА ЦИТОХРОМА С С КАРДИОЛИПИНОМ И ВОЗМОЖНОСТИ ЕЁ ПОДАВЛЕНИЯ АНТИОКСИДАНТАМИ Ромодин Л.А. ¹ , Зарудная Е.Н. ¹ , Владимиров Ю.А. ²	73

ИНТЕГРАЦИЯ И АВТОМАТИЧЕСКОЕ ПОСТРОЕНИЕ МАТЕМАТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ СЕТЕЙ Ермак Т.В. ^{1,2} , Рясик А.А. ² , Орлов М.А. ² , Зыкова Е.А. ² , Дзелядин Т.Р. ² , Сорокин А.А. ²	74
КЛАССИФИКАЦИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ УЧАСТКОВ ГЕНОМА E.COLI НА ОСНОВЕ ФИЗИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ДНК Рясик А.А. ¹ , Орлов М.А. ¹ , Зыкова Е.А. ¹ , Ермак Т.В. ² , Сорокин А.А. ¹	74
РОЛЬ СЕРОТОНИНА И МЕЛАТОНИНА В РЕГУЛЯЦИИ СУТОЧНОЙ МИТОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ У ПЛАНАРИЙ SCHMIDTEA MEDITERRANEA Скавуляк А.Н. ¹ , Ермаков А.М. ^{1,2} , Крещенко Н.Д. ¹	75
О МЕХАНИЗМЕ ГЕМОЛИЗА ЭРИТРОЦИТОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ БИЯДЕРНЫХ ТЕТРАНИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА – ДОНОРОВ ОКСИДА АЗОТА Соколова Е.М., Нешев Н.И., Психа Б.Л., Руднева Т.Н., Сень В.Д., Санина Н.А.	75
ВЫЯВЛЕНИЕ РОЛИ ФАГОМА В РАСПРОСТРАНЕНИИ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГЕНОМНЫХ И МЕТАГЕНОМНЫХ ДАННЫХ Старикова Е.В. ¹ , Rands Ch. ² , Zdobnov E. ² , Тяхт А.В. ¹ , Говорун В.М. ¹	76
ЛАЗЕР-ИНДУЦИРОВАННАЯ ВАЗОДИЛАТАЦИЯ КАК МЕТОД ТЕСТОВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА МИКРОЦИРКУЛЯТОРНУЮ СЕТЬ Стюхина Е.С., Курочкин М.А., Федосов И.В., Постнов Д.Э.	77
МАГНИТНАЯ РЕЛАКСАЦИЯ ВОДЫ В КЛЕТКАХ КОРНЕЙ КУКУРУЗЫ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ ВНЕШНЕГО ДАВЛЕНИЯ Суслов М.А. ¹ , Аль-Хаффаф И. ² , Анисимов А.В. ¹	77
ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ВНЕКЛЕТОЧНОГО КАЛЬЦИЯ В РЕГУЛИРОВАНИИ СТРУКТУРНО- ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА Хотина В.А., Гюппенен М.А., Наквасина М.А.	78
МЕТОДЫ ОБРАБОТКИ ПУЛЬСОВЫХ ВОЛН ДЛЯ МОНИТОРИНГА АКТИВНОСТИ ЦЕНТРАЛЬНЫХ МЕХАНИЗМОВ РЕГУЛЯЦИИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ Цой М.О., Постнов Д.Э., Рогатина К. В.	78
СОЗДАНИЕ КЛЕТОК, СТАБИЛЬНО ДЕТЕКТИРУЮЩИХ НАНОМОЛЯРНЫЕ КОНЦЕНТРАЦИИ СЕРОТОНИНА Черкашин А.П., Быстрова М.Ф., Рогачевская О.А.	79
ВЛИЯНИЕ 3-ГИДРОКСИКИНУРЕНИНА И СИНТЕТИЧЕСКОГО АНТИОКСИДАНТА ДТВА НА ПРОЦЕССЫ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ Черникова Д.А. ¹ , Никитина Е.А. ^{2,1} , Журавлев А.В. ²	79
ПРОИЗВОДНЫЕ СТЕРОИДОВ, МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ПО D-КОЛЬЦУ, КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ИНГИБИТОРЫ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО АНДРОГЕНОВОГО РЕЦЕПТОРА. Щербаков К.А. ¹ , Веселовский А.В. ^{1,2}	80
СРАВНЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ КАРДИО-РЕСПИРАТОРНОЙ СИСТЕМЫ УЧАЩИХСЯ ЮГРЫ Эльман К.А., Срыбник М.А., Глазова О.А.	80
ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ ФОРМИРОВАНИЯ АМИЛОИДНЫХ АГРЕГАТОВ ГЛАДКОМЫШЕЧНОГО ТИПИНА IN VITRO Якупова Э.И. ^{1,2} , Шоно Я.А. ³ , Вихлянцев И.М. ^{1,2} , Бобылёв А.Г. ^{1,2}	81
МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ АТФ И ЛЮМЕНАЛЬНОГО КАЛЬЦИЯ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ РИАНОДИНОВОГО РЕЦЕПТОРА СЕРДЕЧНОЙ КЛЕТКИ Япаров Б.Я. ¹ , Москвин А.С. ¹	82
СЕКЦИЯ «МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ»	83

DEVELOPMENT OF COTTON NAM POPULATION Turayev O.S. ¹ , Makamov A.Kh. ¹ , Darmanov M.M. ¹ , Husenov N.N. ¹ , Kushanov F.N. ¹ , Abdurakhmonov I.Y. ¹	83
ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИЙ БЕЛКА CAS3 CRISPR-CASСИСТЕМЫ ПРОКАРИОТ Титова Д.Г., Климук Е.И., Мушарова О.С., Савицкая Е.Е., Северинов К.В.	83
СВЯЗЬ ТРАНСКРИПЦИИ ГЕНА KLF5 И ЭПИТЕЛИАЛЬНОГО ФЕНОТИПА КЛЕТОК РАКА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ Абжалимов И. Р.1, Копанцев Е. П.1, Зиновьева М. В.1	84
ВЛИЯНИЕ ГЕНОВ TNBS1 И ADAMTS1 НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ РЕПАРАЦИИ ДВУНИТЕВЫХ РАЗРЫВОВ ДНК Агаб А.В. ¹ , Васильев С.А. ^{1,2} , Фишман В.С. ³ , Климова В.С. ² , Серов О.Л. ³ , Лебедев И.Н. ^{1,2}	84
АНАЛИЗ РОЛИ ГЕНА OLI7 В РЕГУЛЯЦИИ ДЛИНЫ ТЕЛОМЕР В ARABIDOPSIS THALIANA Агабекян И.А. ¹ , Нигматуллина Л.Р. ¹ , Частухина И.Б. ¹ , Валеева Л.Р. ¹ , Шарипова М.Р. ¹ , Шакиров Е.В. ¹	85
РОЛЬ ГЕНА HIM1 В РЕГУЛЯЦИИ МУТАЦИОННОГО ПРОЦЕССА У ДРОЖЖЕЙ SACCHAROMYCES CEREVISIAE Алексеева Е.А. ¹ , Федоров Д.В. ¹ , Евстюхина Т.А. ¹ , Кожина Т.Н. ¹ , Пешехонов В.Т. ¹ , Королев В.Г. ¹	85
ИЗМЕРЕНИЕ ИЗГИБНОЙ ЖЁСТКОСТИ ТОНКОГО ФИЛАМЕНТА С РАЗЛИЧНЫМИ ИЗОФОРМАМИ ТРОПОМИОЗИНА МЕТОДОМ ОПТИЧЕСКОЙ ЛОВУШКИ Алимпиева О.П. ¹ , Набиев С.Р. ¹ , Матюшенко А.М. ² , Бершицкий С.Ю. ¹ , Никитина Л.В. ¹	86
СОЗДАНИЕ КОЛЛЕКЦИИ ENV-ПСЕВДОВИРУСОВ НА ОСНОВЕ ИЗОЛЯТОВ ВИЧ-1, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ СИБИРСКОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО ОКРУГА Андреева Н.Б. ¹ , Щербакова Н.С. ¹ , Рудометов А.П. ¹ , Щербаков Д.Н. ¹	87
ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ РЕГУЛЯТОР LGOR ИМЕЕТ ДВА ТИПА МИШЕНЕЙ НА ХРОМОСОМЕ ESCHERICHIA COLI. Бессонова Т.А. ^{1,2} , Шумейко С.А. ³ , Гагаринская Д.И. ^{1,4} , Швырева У.С. ¹ , Тутукина М.Н. ¹ , Озолинь О.Н. ¹	87
РЕКОНСТРУКЦИЯ СТРУКТУРЫ ПРИОННЫХ АГРЕГАТОВ СФОРМИРОВАННЫХ IN VIVO Бондарев С.А. ¹ , Журавлева Г.А. ¹ , Каява А.В. ^{2,3,4}	88
ВЗАИМОСВЯЗЬ УРОВНЯ АДИПОКИНОВ И ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ ПСОРИАЗА Бухмарнова О.А. ¹	88
ЭКСПРЕССИЯ МРНК ГЕНОВ СЕЛЕНОПРОТЕИНОВ МЛЕКОПИТАЮЩИХ SELENON И GRPX6 В РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНАХ И ЛИНИЯХ РАКОВЫХ КЛЕТОК. Варламова Е.Г. ¹	89
ИЗУЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ИЛ-33 У ПАЦИЕНТОВ С ВИРУС-ИНДУЦИРОВАННЫМИ ОСЛОЖНЕНИЯМИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ Ведринская К.К. ¹ , Шиловский И.П. ² , Никонова А.А. ² , Гайсина А.Р. ² , Жернов Ю.В. ² , Курбачева О.М. ³ , Хайтов М.Р. ²	90
БЕЛОК FXR1 RATTUS NORVEGICUS – КАНДИДАТ В ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ АМИЛОИДЫ Велижанина М.Е. ¹ , Сергеева А.В. ¹ , Синюкова В.А. ¹ , Шенфельд А.А. ¹ , Рыжова Т.А. ² , Задорский С.П. ^{1,2} , Сопова Ю.В. ^{1,2} , Галкин А.П. ^{1,2}	90
АНАЛИЗ ОБРАЗОВАНИЯ 30S ИНИЦИАТОРНОГО КОМПЛЕКСА И ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ ТРАНСЛЯЦИОННЫХ ФАКТОРОВ МЕТОДАМИ МИКРОТЕРМОФОРЕЗА И ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ СКЕНИРУЮЩЕЙ ФЛУОРИМЕТРИИ Виноградова Д.С. ^{1,2} , Касацкий П.С. ^{1,2} , Максимова Е.М. ^{1,2} , Pohl Milon ³ , Коневега А.Л. ^{1,2}	91
ВЫЯВЛЕНИЕ ТРАНСЛОКАЦИИ 1BL.1RS В КОЛЛЕКЦИОННОМ МАТЕРИАЛЕ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ Вожжова Н. Н.	91
ПРОВЕРКА НОВЫХ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ РЕГУЛЯТОРОВ ГЕНА DPS Гагаринская Д. И. ^{1,2} , Швырева У. С. ¹ , Тутукина М. Н. ^{1,2} , Озолинь О. Н. ^{1,2}	92

ORB2 ИЗ СЕМЕЙСТВА СРЕВ БЕЛКОВ УЧАСТВУЕТ В РЕГУЛЯЦИИ ПОЛЯРИЗАЦИИ КЛЕТОК ДРОЗОФИЛЫ Гильмутдинов Р.А. ¹ , Козлов Е.Н. ¹ , Шедл П. ^{1,2} , Шидловский Ю.В. ¹	93
ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ PRE-ЭЛЕМЕНТОВ У DROSOPHILA Горбенко Ф.В. ¹ , Ерохин М.М. ¹	93
ФИЛОГЕНИЯ ЧЕТЫРЕХ ВИДОВ СОНЬ (RODENTIA, GLIRIDAE) ВОСТОЧНОЙ ЕВРОПЫ Григорьева О.О. ¹	94
ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ЗАМЕНЯЕМОСТЬ ТРЕТЬЕГО ФАКТОРА ИНИЦИАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ В ДРОЖЖЕВОЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ И БАКТЕРИАЛЬНОЙ СИСТЕМАХ Дербикова К.С. ¹ , Кузьменко А.В. ¹ , Климонтова М.В. ¹ , Каменский П.А. ¹	94
РНК-ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ ГЕНОВ NPF-ПОДОБНЫХ НЕЙРОПЕПТИДОВ У ПЛАНАРИЙ Ермаков А.М. ¹ , Знобищева А.В. ¹ , Бондаренко С.М. ² , Крещенко Н.Д. ³	95
ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ БЕЛКА HUR В СТАБИЛИЗАЦИИ МАТРИЧНЫХ РНК ПРОТООНКОГЕНОВ IN VITRO Жигалова Е. А. ^{1,2} , Миттенберг А.Г. ¹	95
АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ HIF1A, MTHFR И UCP2 У ЛЕГКОАТЛЕТОВ В ОТВЕТ НА ФИЗИЧЕСКУЮ НАГРУЗКУ Жур К.В. ¹ , Кундас Л.А. ¹	96
ПОИСК НОВЫХ АМИЛОИДОГЕННЫХ БЕЛКОВ ЧЕЛОВЕКА Зелинский А.А. ¹ , Романова Н.В. ¹ , Каява А.В. ² , Рубель А.А. ¹ , Чандрамоулишваран П. ³ , Чернов Ю.О. ^{1,3}	97
ВЛИЯНИЕ ГИПЕР-ЭКСПРЕССИИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ БЕЛКА CHD1 НА ТРАНСКРИПЦИЮ У DR. MELANOGASTER Ильина Ю. А. ¹ , Конев А. Ю. ¹	97
ПРЕДВАРИТЕЛЬНАЯ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА Р-II ПОДОБНОГО БЕЛКА GLNK ИЗ LACTOBACILLUS BREVIS SUBS. GRAVESENSIS Исхакова З.И. ¹ , Журавлева Д.Э. ¹ , Каюмов А.Р. ¹	98
ВКЛАД КОНСЕНСУСНОЙ 5'-НЕТРАНСЛИРУЕМОЙ ОБЛАСТИ В ЭФФЕКТИВНОСТИ ТРАНСЛЯЦИИ ГЕТЕРОЛОГИЧНЫХ ГЕНОВ В РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТКАХ Кабардаева К.В. ^{1,2} , Мустафаев О. ³ , Садовская Н.С. ¹ , Фадеев В.С. ¹ , Бердичевец И.Н. ¹ , Тюрин А.А. ^{1,2}	98
МАЛЫЕ ДОЗЫ РАДИАЦИИ (3-10 СГР) ВЫЗЫВАЮТ АДАПТИВНЫЙ ОТВЕТ В МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТКАХ. Кальянов А.А. ¹ , Ершова Е.С. ¹ , Вейко Н.Н. ¹ , Сергеева В.А. ¹ , Малиновская Е.М. ¹ , Каменева Л.В. ¹ , Долгих О.А. ¹ , Конькова М.С. ¹ , Ермаков А.В. ¹ , Костюк С.В. ¹	99
РОЛЬ МЕТИЛИРОВАНИЯ ПРОМОТОРА В РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА СУБЪЕДИНИЦЫ С СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ЩИТКАХ ПРИ ПРОРАСТАНИИ СЕМЯН КУКУРУЗЫ Карабутова Л.А. ¹ , Черкасских М.В. ¹ , Анохина Г.Б. ¹ , Добычина М.А. ¹	99
ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА АНТАГОНИСТА TLR-3 ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ В КЛЕТКАХ СНО Каторкин С.А. ¹ , Каторкина Е.И. ¹ , Мима К.А. ¹ , Титов И.А. ¹ , Малооголовкин А.С. ¹	100
СОЗДАНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО СТРУКТУРНОГО БЕЛКА VP7 ВИРУСА ЭГБО Каторкина Е.И.	101
РОЛЬ ПОЛИМОРФНОГО ВАРИАНТА p.L342V (CYP1B1, rs1056836) В ГЕНЕЗЕ СПОРАДИЧЕСКОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ДЛЯ ПАЦИЕНТОВ ИЗ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ Кипень В.Н. ¹ , Смольник Н.С. ²	101
КЛОНИРОВАНИЕ КДНК-ГЕНОВ α -, β -, γ -СУБЪЕДИНИЦ ФАКТОРА ИНИЦИАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ 2 ARABIDOPSIS THALIANA, ИХ ЭКСПРЕССИЯ В КЛЕТКАХ ESCHERICHIA COLI И ВЫДЕЛЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ ATEIF2 α , ATEIF2 β , ATEIF2 γ Кислицин В.Ю. ¹ , Жигайлов А.В. ¹	102

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕННОГО СЕМЕЙСТВА, КОДИРУЮЩЕГО NCR-ПЕПТИДЫ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (<i>PISUM SATIVUM</i> L.) Клюкова М.С. ¹ , Афонин А.М. ¹ , Жуков В.А. ¹ , Тихонович И.А. ^{1,2}	103
ТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ МЕЗЕНХИМНЫХ СТЕБЕЛЬНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА С МОДУЛЯЦИЕЙ ЭКСПРЕССИИ БЕЛКА ТЕСКАЛЦИНА Колобынина К.Г. ¹ , Соловьева В.В. ¹ , Шагимарданова Е.И. ¹ , Атаи Атуса Касем ¹ , Слепак В.З. ² , Ризванов А.А. ¹	103
ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТИ ДВУДОМЕННЫХ ЛАККАЗ РОДА <i>STREPTOMYCES</i> Коляденко И.А., Костарева О.С., Михайлина А.О., Габдулхаков А.Г., Тищенко С.В.	104
ВЛИЯНИЕ МУТАЦИИ В ГЕНЕ ND6 МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ I КОМПЛЕКСА ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ МИТОХОНДРИЙ ФИБРОБЛАСТОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НА НИХ ОКИСЛЕННОЙ ВКДНК Конькова М.С. ¹ , Цыганкова П.Г. ¹ , Сергеева В.А. ¹ , Ершова Е.С. ¹ , Вейко Н.Н. ¹ , Костюк С.В. ¹	105
ИЗУЧЕНИЕ ПРЕСТАЦИОНАРНОЙ КИНЕТИКИ РЕАКЦИИ ТРАНСЛОКАЦИИ РИБОСОМ <i>ESCHERICHIA COLI</i> , СОДЕРЖАЩИХ БЕЛОК L5 С УКОРОЧЕННОЙ ПЕТЛЕЙ В2-В3 Коробейникова А.В. ¹ , Максимова Е.М. ² , Корепанов А.П. ¹ , Коневега А.Л. ² , Гарбер М.Б. ¹	105
СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЛАККАЗЫ ИЗ <i>STREPTOMYCES</i> <i>GRISEOFLAVUS</i> AC-993 С ЗАМЕНОЙ ГИСТИДИНА В ПОЛОЖЕНИИ 165 НА АЛАНИН Костарева О.С. ¹ , Габдулхаков А.Г. ¹ , Михайлина А.О. ¹ , Лисов А.В. ² , Гарбер М.Б. ¹ , Тищенко С.В. ¹	106
КЛОНИРОВАНИЕ ЛЮЦИФЕРАЗЫ ГРИБА <i>NEONOTHOPANUS NAMBI</i> Котлобай А.А. ¹ , Маркина Н.М. ¹ , Мокрушина Ю.А. ¹ , Ямпольский И.В. ¹	106
ИЕРАРХИЯ УРОВНЕЙ КОМПАКТИЗАЦИИ ХРОМАТИНА В МИТОТИЧЕСКИХ ХРОМОСОМАХ <i>NIGELLA DAMASCENA</i> Кузнецова М.А.	107
ВЛИЯНИЕ rs2619364, rs2583988 ГЕНА АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА (<i>SNCA</i>) НА РИСК РАЗВИТИЯ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА И УРОВЕНЬ АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА В CD45+ КЛЕТКАХ КРОВИ Кулабухова Д.Г. ^{1,2} , Гараева Л.А. ^{1,2} , Улитина А.С. ^{1,2} , Емельянов А.К. ^{1,2} , Пчелина С.Н. ^{1,2}	108
ИДЕНТИФИКАЦИЯ АЛЛЕЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ГЕНА КОРОТКОСТЕБЕЛЬНОСТИ <i>RHT-B1</i> В ОБРАЗЦАХ ОЗИМОЙ ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЫ Купрейшвили Н. Т. ¹	108
ВЛИЯНИЕ ДОФАМИНА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА <i>IN VITRO</i> ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА Лавринова А. О. ¹ , Емельянов А. К. ^{1,2,3} , Литусова Е.М. ¹ , Николаев М. А. ^{1,2,3} , Пчелина С. Н. ^{1,2}	109
ИССЛЕДОВАНИЕ РНК-СВЯЗЫВАЮЩИХ СВОЙСТВ НАТИВНОЙ И МУТАНТНОЙ ФОРМ БЕЛКА <i>SMAR</i> ИЗ АРХЕИ <i>SULFOLOBUS ACIDOCALDARIUS</i> Леконцева Н.В. ¹ , Михайлина А.О. ¹ , Балобанов В.А. ¹ , Никулин А.Д. ¹	110
НОВЫЙ ЭФФЕКТИВНЫЙ И ЭКОНОМИЧНЫЙ МЕТОД ВЫДЕЛЕНИЯ МИКРОРНК ИЗ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ Летова И.А. ¹ , Шах М.Р. ¹	110
ЗАМЕНА АМИНОКИСЛОТ БЕЛКА <i>SUP35</i> В ПОЛОЖЕНИИ 46-47 ВЕДЕТ К ИЗМЕНЕНИЮ МОРФОЛОГИИ АМИЛОИДНЫХ АГРЕГАТОВ Лихолетова Д.В. ¹ , Бондарев С.А. ¹ , Журавлева Г.А. ¹	111
АНАЛИЗ АССОЦИИРОВАННЫХ С GAGA-ФАКТОРОМ БЕЛКОВ <i>D. MELANOGASTER</i> Ломаев Д.В. ¹ , Михайлова А.В. ¹ , Ерохин М.М. ¹ , Шапошников А.В. ¹ , Шидловский Ю.В. ¹ , Георгиев П.Г. ¹ , Шедл П. ^{1,2} , Четверина Д.А. ¹	111
ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНА <i>RPV3</i> В СОРТАХ ВИНОГРАДА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДНК-МАРКЕРОВ Макаркина М. В. ¹ , Ильницкая Е.Т. ¹ , Токмаков С.В. ¹	112

АМИКУМАЦИН А: НЕОБЫЧНЫЙ МЕХАНИЗМ ИНГИБИРОВАНИЯ ТРАНСЛЯЦИИ Максимова Е.М. ^{1,2} , Виноградова Д.С. ^{1,2} , Полесскова Е.В. ¹ , Касацкий П.С. ^{1,2} , Остерман И.А. ³ , Донцова О.А. ³ , Сергиев П.В. ³ , Конева А.Л. ^{1,2}	112
СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РАЙОНА TRNL-TRNF ГЕНОМА ХЛОРОПЛАСТОВ ПРИ ИЗУЧЕНИИ СТЕПЕНИ РОДСТВА ВИДОВ РОДА STIRA (КОВЫЛЬ) Матейкович П.А. ^{1,2} , Носов Н.Н. ² , Пунина Е.О. ²	113
АНАЛИЗ IN VIVO РЕГУЛЯТОРНЫХ СВОЙСТВ РИБОСОМНОГО БЕЛКА L1 В БАКТЕРИЯХ THERMUS THERMOPHILUS И THERMOTOGA MARITIMA Михайлина А.О. ¹ , Костарева О.С. ¹ , Тищенко С.В. ¹ , Гарбер М.Б. ¹	113
ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕЖДУ БЕЛКАМИ SU(HW) И CP190 В РЕКРУТИРОВАНИИ SU(HW)-ЗАВИСИМОГО КОМПЛЕКСА НА ХРОМАТИН Молодина В.В. ¹ , Мельникова Л.С. ¹ , Костюченко М.В. ¹ , Головин А.К. ¹	114
ФЕНОТИПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АГРЕГАЦИИ АМИЛОИДОВ ЧЕЛОВЕКА В ДРОЖЖАХ SACCHAROMYCES CEREVISIAE Нужина Ю. В. ¹ , Качкин Д. В. ¹ , Рубель А. А. ¹ , Чернов Ю. О. ²	114
ЭФФЕКТ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА, ВЫЗЫВАЮЩИХ АПОПТОЗОПОДОБНУЮ ГИБЕЛЬ E. COLI, ЗАВИСИТ ОТ ИХ РАЗМЕРА Орлов Ю.А. ^{1,2} , Соснин И.М. ^{1,3}	115
ОЦЕНКА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ФАГОВЫХ МОДУЛЯТОРОВ АКТИВНОСТИ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ ДЛЯ УВЕЛИЧЕНИЯ ВЫХОДА РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ Пилигримова Э.Г. ^{1,2} , Шадрин А.М. ¹	116
ГУАНОЗИН-5'-МОНОФOSFAT ВЛИЯЕТ НА ЭКСПРЕССИЮ ОСНОВНЫХ ГЕНОВ, ОТВЕЧАЮЩИХ ЗА РЕАЛИЗАЦИЮ КЛЕТОЧНОГО ОТВЕТА НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС, ИНДУЦИРОВАННОГО ИОНИЗИРУЮЩИМ ИЗЛУЧЕНИЕМ IN VITRO Попова Н.Р. ¹ , Попов А.Л. ¹ , Ермаков А.М. ¹	116
БЫЧИЙ ИНТЕРФЕРОН-ТАУ КАК РЕГУЛЯТОР РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ КРС Потапович М.И. ¹ , Прокулевич В.А. ¹	117
ИССЛЕДОВАНИЕ САМООРГАНИЗАЦИИ СЛОЖНЫХ ОЛИГОМЕРНЫХ БЕЛКОВ in vitro: СБОРКА МОЛЕКУЛЯРНОГО ШАПЕРОНА GroEL ИЗ ШАПЕРОННОЙ СИСТЕМЫ GroEL/GroES E.coli Рябова Н.А. ¹ , Селиванова О.М. ¹ , Семисотнов Г.В. ¹	117
ИЗОФЕРМЕНТНЫЙ СОСТАВ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДЕТЕРМИНАЦИЯ ФУМАРАТГИДРАТАЗЫ В СЕМЯДОЛЯХ ПОДСОЛНЕЧНИКА Сазонова О.В. ¹ , Черкасских М.В. ¹ , Сэтре Тиме Л.Й. ¹ , Нгуен Тхань Н.Н. ¹	118
АНАЛИЗ АМИЛОИДНЫХ СВОЙСТВ БЕЛКОВ TON1 И YGP1 ДРОЖЖЕЙ SACCHAROMYCES CEREVISIAE Сергеева А.В. ¹ , Синюкова В.А. ¹ , Рыжова Т.А. ^{1,2} , Задорский С.П. ^{1,2} , Галкин А.П. ^{1,2}	118
НОВОЕ ВОДОРАСТВОРИМОЕ ПРОИЗВОДНОЕ ФУЛЛЕРЕНА C60 ТОКСИЧНО ДЛЯ РАКОВЫХ КЛЕТОК ЛИНИИ MCF-7 Сергеева В.А. ¹ , Ершова Е.С. ¹ , Конькова М.С. ¹ , Чудакова Ю.М. ¹ , Малиновская Е.М. ¹ , Каменева Л.В. ¹ , Вейко Н.Н. ¹ , Костюк С.В. ¹	119
СОПРЯЖЕНИЕ ИНИЦИАЦИИ И ТЕРМИНАЦИИ ЭУКАРИОТИЧЕСКОЙ ТРАНСЛЯЦИИ НЕ ЗАВИСИТ ОТ СПОСОБА ИНИЦИАЦИИ Согорин Е.А. ¹ , Агаларов С.Ч. ¹	119
СОЗДАНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ CD14+ МОНОЦИТОВ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ГЕН ДИСФЕРЛИНА ЧЕЛОВЕКА, КАК ПОТЕНЦИАЛЬНОЕ СРЕДСТВО ТЕРАПИИ ДИСФЕРЛИНОПАТИЙ Старостина И.Г. ¹ , Соловьева В.В. ¹ , Шаймарданова А.А. ¹ , Аглиуллина Д.Р. ¹ , Яковлев И.А. ¹ , Деев Р.В. ² , Ризванов А.А. ¹	120

ПОДАВЛЕНИЕ ТРАНСПОЗОНОВ В КЛЕТКАХ ЗАРОДЫШЕВОЙ ЛИНИИ: ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ рiРНК-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА РiW1 И БЕЛКОВ ГЕТЕРОХРОМАТИНА Столяренко А.Д. ¹ , Лейнсоо Т.А. ¹ , Абрамов Ю.А. ¹ , Кленов М.С. ¹	120
ГЕН ГОРОХА ПОСЕВНОГО SYM31 УПРАВЛЯЕТ ДИФФЕРЕНЦИРОВКОЙ БАКТЕРИЙ ВНУТРИ СИМБИОТИЧЕСКИХ КЛУБЕНЬКОВ. Сулима А.С. ¹ , Афонин А.М. ¹ , Жернаков А.И. ¹ , Жуков В.А. ¹ , Тихонович И.А. ^{1,2}	121
ПОИСК РЕГУЛЯТОРНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ, НЕОБХОДИМЫХ ДЛЯ ТРАНС-СПЛАЙСИНГА У DROSOPHILA MELANOGASTER. Уткина М.В. ¹ , Максименко О.Г. ¹ , Георгиев П.Г. ¹	121
КРИСТАЛЛИЗАЦИЯ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТРУКТУРЫ ФАКТОРА ЗАПУСКА ГИБЕРНАЦИИ РИБОСОМЫ STARHYLOCOCCLUS AUREUS Фатхуллин Б.Ф. ¹ , Габдулхаков А.Г. ^{1,2} , Тищенко С.В. ¹ , Аюпов Р.Х. ² , Хусаинов И.Ш. ³ , Юсупов М.М. ³	122
РОЛЬ микро-РНК В РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА DAPK1 ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ Филиппова Е.А. ¹ , Пронина И.В. ² , Бурденный А.М. ¹ , Логинов В.И. ^{1,2}	122
СОЗДАНИЕ ШТАММА-ПРОДУЦЕНТА ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА NANR, «КЛАССИЧЕСКОГО» РЕГУЛЯТОРА ДЕГРАДАЦИИ НАФТАЛИНА И САЛИЦИЛАТА Фунтикова Т.В. ¹ , Филатова И.Ю. ¹ , Захарова М.В. ¹	123
ВЛИЯНИЕ ГИПЕРПРОДУКЦИИ ПРОТЕИНАЗЫ HtrA НА ОБРАЗОВАНИЕ БИОПЛЕНКИ КЛЕТКАМИ BACILLUS SUBTILIS Чернова Л.С. ¹ , Павлова А.С. ¹ , Шарафутдинов И.С. ¹ , Каюмов А.Р. ¹	124
ФРАГМЕНТЫ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК УСИЛИВАЮТ ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС В ЛИМФОЦИТАХ БОЛЬНЫХ АУТИЗМОМ. Чудакова Ю.М. ¹ , Ершова Е.С. ¹ , Шмарина Г.В. ¹ , Пороховник Л.Н. ¹ , Вейко Н.Н. ¹ , Сергеева В.А. ¹ , Долгих О.А. ¹ , Костюк С.В. ¹	124
СПЛАЙС-ФОРМЫ ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗЫ (GPX) POLYPEDILUM VANDERPLANKI Шайхутдинов Н.М. ¹ , Завгарова А.У. ¹ , Девятяров Р.М. ¹ , Гусев О.А. ¹ , Корнетт Р. ² , Кикавада Т. ² , Несмелов А.А. ¹	125
СЕКЦИЯ «БИОХИМИЯ»	126
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВ КИСЛОРОДА НА АКТИВНОСТЬ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ МЕМБРАН СИНАПТОСОМ МОЗГА КРЫС Алибекова Д.М. ¹ , Юсупова С.А. ¹	126
ПЕРЕДАЧА ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО СИГНАЛА ПРИ ИНДУКЦИИ АПОПТОЗА В КЛЕТКАХ ФЕОХРОМОЦИТОМЫ PC12 N-АЦИЛДОФАМИНАМИ Ашба А.М. ¹ , Акимов М.Г. ¹ , Греция Н.М. ¹ , Безуглов В.В. ¹	126
ПРОТЕОМНЫЙ АНАЛИЗ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СТАБИЛЬНОГО ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНОГО БЕЛКОВОГО КОМПЛЕКСА ПЛАЦЕНТЫ ЧЕЛОВЕКА Буркова Е.Е. ¹	127
СОСТАВЛЕНИЕ ПЕПТИДНЫХ КАРТ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ МОДИФИКАЦИЙ БЕЛКОВ-ФАКТОРОВ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ Васильева А.Д. ¹ , Юрина Л.В. ¹ , Бычкова А.В. ¹ , Бугрова А.Е. ¹ , Индейкина М.И. ¹ , Кононихин А.С. ^{1,2,3} , Николаев Е.Н. ^{1,2,3} , Розенфельд М.А. ¹	127
КИНЕТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ИКРОНОЖНОЙ МЫШЦЫ СУСЛИКОВ ПРИ ЗИМНЕЙ СПЯЧКЕ И В ДИНАМИКЕ ИНДУЦИРОВАННОГО САМОСОГРЕВАНИЯ Гаджимусаева П.Н. ¹ , Халилов Р.А. ¹ , Джафарова А.М. ¹ , Абдуллаев В.Р. ¹	128
ВЛИЯНИЕ СОЛЕВОГО СТРЕССА НА АКТИВНОСТЬ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ И МАЛАТДЕГИДРОГИНАЗЫ В ПРОРОСТКАХ ZEA MAYS L. Гатауллина М.О. ¹ , Карабутова Л.А. ¹ , Анохина Г.Б. ¹ , Селиванова Н.В. ¹ , Степанова А.В. ¹	129

ГЕНЫ И ФЕРМЕНТЫ СЕРИНОВОГО ЦИКЛА У МЕТАНОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ: ФУНКЦИИ, РАСПРОСТРАНЕНИЕ И ФИЛОГЕНИЯ Егорова С.В. ¹ , Бут С.Ю. ²	129
ЮВЕНИЛЬНЫЙ ГОРМОН И ДОФАМИН РЕГУЛИРУЮТ УРОВЕНЬ ТРЕГАЛОЗЫ У DROSOPHILA MELANOGASTER Еремина М.А. ¹ , Карпова Е.К. ¹ , Грунтенко Н.Е. ¹	130
ЗАВИСИМОСТЬ ЗАЩИТНОГО ЭФФЕКТА ИНСУЛИНА ОТ ЕГО КОНЦЕНТРАЦИИ И МОДУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ERK1/2 В НЕЙРОНАХ КОРЫ МОЗГА ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ Зорина И.И. ¹ , Захарова И.О. ¹ , Баюнова Л.В. ¹ , Аврова Н.Ф. ¹	130
КАТАЛИТИЧЕСКАЯ ПОЛИРЕАКТИВНОСТЬ АНТИТЕЛ КРОВИ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ БОЛЬНЫХ Зубкова А. Д. ¹ , Баранова С.В. ²	131
СОЗДАНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ИНТЕРЛЕЙКИНА-36 (IL-36R) СВЯЗАННЫХ С FC-ФРАГМЕНТОМ IGG1 ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ЛИГАНД-РЕЦЕПТОРНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ Калинин Р.С. ^{1,2} , Кондратьева Е.В. ² , Монахова В.С. ² , Колобов А.А. ^{1,2}	132
НАСЛЕДСТВЕННЫЕ МУТАЦИИ УСИЛИВАЮТ ИНГИБИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ БЕТА-АМИЛОИДА НА ПРОТЕОЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ПУТИ "N-КОНЦЕВОГО ПРАВИЛА" Кечко О.И. ^{1,2} , Макаров А.А. ¹	132
КАЛЬЦИЕВАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ПЕПТИДОГЛИКАНГИДРОЛАЗЫ БАКТЕРИОФАГА T5 Коваленко А.О. ^{1,2} , Чернышов С.В. ¹ , Прохоров Д.А. ³ , Молочков Н.В. ³ , Микулинская Г.В. ¹	133
СТРУКТУРА И БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ ОЛИГОСАХАРИДОВ И ЛИПИДОВ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ МОЛОКА ЧЕЛОВЕКА Компанеец И.Ю. ¹	133
ДИНАМИКА ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ У КРЫС ПРИ ОВАРИОЭКТОМИИ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ Корнеева К.О.	134
РАЗРАБОТКА МЕТОДА ИФА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИТЕЛ К ЦВС-2 В СЫВОРОТКЕ СВИНЕЙ Кудин К.В. ¹ , Кудина И.В. ¹ , Полегенькая Н.В. ¹ , Прокулевич В.А. ¹	135
ИЗМЕНЕНИЕ РЕЦЕПТОРНОЙ ФУНКЦИИ NA,K-АТФАЗЫ В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ И ИШЕМИИ Лакунина В.А. ¹ , Бурнышева К.М. ¹ , Митькевич В.А. ¹ , Макаров А.А. ¹ , Петрушанко И.Ю. ¹	135
ОЧИСТКА L-ЛАКТАТ: ЦИТОХРОМ С-ОКСИДОРЕДУКТАЗЫ ИЗ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА PISUM SATIVUM Ларченков В.М. ¹ , Комарова Н.Р. ¹ , Ковалёва Е.В. ¹ , Миткевич А.В. ¹	136
АДСОРБЦИЯ ИММУНОГЛОБУЛИНА G И СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА НА НАНОЧАСТИЦАХ МАГНЕТИТА Бычкова А.В. ¹ , Лопухова М.В. ¹ , Данилова Т.А. ¹ , Милютин А.Н. ¹ , Пронкин П.Г. ¹ , Розенфельд М.А. ¹	136
ВЫДЕЛЕНИЕ И ОЧИСТКА НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОЙ РИБОНУКЛЕАЗЫ BACILLUS LICHENIFORMIS Надырова А.И. ¹ , Сокуренок Ю.В. ¹ , Ульянова В.В. ¹ , Ильинская О.Н. ¹	137
ВЛИЯНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРИНСУЛИНЕМИИ НА ПРОЦЕСС ОБРАЗОВАНИЯ МОЛЕКУЛ СРЕДНЕЙ МАССЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС Никольская В.А. ¹ , Лютослав И.С. ¹	137
ДЕТЕКЦИЯ АНТИТЕЛ, СПЕЦИФИЧНЫХ К ПЕПТИДАМ НУКЛЕОКАПСИДА И ГЛИКОПРОТЕИНОВ ПУУМАЛА ВИРУСА, СОДЕРЖАЩИХСЯ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ, СТРАДАЮЩИХ ЭПИДЕМИЧЕСКОЙ НЕФРОПАТИЕЙ Гаранина Е.Е. ¹ , Мартынова Е.В. ¹ , Иванова В.В. ¹ , Охезин Е.В. ^{1,2} , Шакирова В.Г. ² , Анохин В.А. ³ , Морзунов С.П. ⁴ , Ризванов А. А. ¹ , Хайбуллина С.Ф. ^{1,4}	138

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ГИПЕРГЛИКЕМИИ IN VITRO Пестрякова А.А. ¹ , Грунюшкин И.П. ² , Кленова Н.А. ¹ , Ревин В.В. ² , Садыхова А.В. ¹ , Сюсин И.В. ²	139
БТШ70 СНИЖАЕТ ПРОДУКЦИЮ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА КЛЕТКАМИ МИКРОГЛИИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ РАЗНОЙ СТРУКТУРЫ Погодина Е. И. ^{1,2} , Юринская М. М. ² , Винокуров М. Г. ^{1,2}	139
АКТИВНОСТЬ КЛЮЧЕВЫХ ФЕРМЕНТОВ ЦИКЛА ТРИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ И ГЛИОКСИЛАТНОГО ПУТИ В БАКТЕРИЯХ SPHAEROTILUS NATANS ШТАММ Д-507 И Д-380 ПРИ РАЗНЫХ ТИПАХ ПИТАНИЯ Селиванова Н.В. ¹ , Ахмед А.Х.А. ¹ , Орлова М.В. ¹ , Климова С.Е. ¹ , Епринцев А.Т. ¹	140
ДВУХДОМЕННАЯ ЛАККАЗА ИЗ БАКТЕРИИ STREPTOMYCES ANULATUS AC-728: ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ФЕРМЕНТА Трубицина Л.И. ¹ , Трубицин И.В. ¹ , Лисов А.В. ¹ , Леонтьевский А.А. ¹ ...	140
РЕГУЛЯЦИЯ МРТР НУКЛЕОТИДАМИ СО СТОРОНЫ ЦИТОЗОЛЯ Харечкина Е.С. ¹ , Никифорова А.Б. ¹ , Теплова В.В. ¹ , Круглов А.Г. ¹	141
ИССЛЕДОВАНИЕ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В ГОМОГЕНАТАХ ТКАНЕЙ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ГЛУБОКОЙ ГИПОТЕРМИИ Хизриева С. И. ¹ , Гамадаева З. М. ¹	141
ВЛИЯНИЕ УМЕРЕННОЙ ГИПОТЕРМИИ НА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ И МОРФОЛОГИЮ ЭРИТРОЦИТОВ КРЫС Чалабов Ш.И. ¹ , Шихмирова З.М. ¹	142
ВЕРОЯТНАЯ РОЛЬ ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В ФОРМИРОВАНИИ ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ЛЫЖНИКОВ-ГОНЩИКОВ Чалышева А.А. ^{1,2} , Людинина А.Ю. ² , Кеткина О.А. ²	143
ВЛИЯНИЕ НАТИВНОЙ И ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННОЙ СОИ НА КОЛИЧЕСТВО ПРИПЛОДА И СМЕРНОСТЬ ПЕРВОГО ПОТОМСТВА КРЫС Черная И.В. ¹ , Дроник Г.В. ¹	143
РЕГУЛЯЦИЯ СИГНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК НЕЙРОМЕДИАТОРАМИ Чечехин В.И. ¹ , Иванова А.М. ¹ , Тюрин-Кузьмин П.А. ¹	144
ИЗУЧЕНИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ДЕРМАТОТРОПНЫХ ЭФФЕКТОВ ЭКСТРАКТА КЛЕТОК ИРИСА И ЛАКТОФЕРРИНА В МОДЕЛИ ИНДУЦИРОВАННОГО КОНТАКТНОГО ДЕРМАТИТА Чумаченко М.С.	145
ИДЕНТИФИКАЦИЯ АДДУКТОВ МЕМБРАНСВЯЗАННОЙ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ ЭРИТРОЦИТОВ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА С ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИМИ СОЕДИНЕНИЯМИ МЕТОДАМИ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ И ИММУНОПРЕЦИПИТАЦИИ Чуприна О.И. ¹ , Дубровский Я.А. ¹ , Бабаков В.Н. ¹ , Бельтюков П.П. ¹	145
ОПРЕДЕЛЕНИЕ САЙТОВ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ МОДИФИКАЦИЙ ФИБРИНОГЕНА МЕТОДОМ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ Юрина Л.В. ¹ , Васильева А.Д. ¹ , Бычкова А.В. ¹ , Бугрова А.Е. ¹ , Индейкина М.И. ¹ , Кононихин А.С. ^{1,2,3} , Николаев Е.Н. ^{1,2,3} , Розенфельд М.А. ¹	146
СЕКЦИЯ «ПОЧВОВЕДЕНИЕ И АГРОЭКОЛОГИЯ»	147
МОНИТОРИНГ ГЕОКРИОГЕННОГО СОСТОЯНИЯ ПОЧВ И ГРУНТОВ СЕВЕРА БОЛЬШЕЗЕМЕЛЬСКОЙ ТУНДРЫ В РАЙОНЕ РАЗРАБОТКИ МЕСТОРОЖДЕНИЙ УГЛЕВОДОРОДНОГО СЫРЬЯ Андреева О.А.	147
ИЗМЕНЕНИЕ АГРЕГАТНОГО СОСТАВА РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ ЗАЛЕЖНЫХ ПОЧВ Баева Ю.И.	147

МЕТОДЫ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ ПРИ ЦИФРОВОМ КАРТОГРАФИРОВАНИИ СТРУКТУРЫ ПОЧВЕННОГО ПОКРОВА Бахарев А.А.	148
ЗАВИСИМОСТЬ КАТАЛАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ОТ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ И ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ УРБОСТРАТОЗЕМОВ И КВАЗИЗЕМОВ Г. ПЕРМИ Беломорская Ю.В., Митракова Н.В.	148
ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ ПОЧВ ООПТ «ЧЕРНЯЕВСКИЙ ЛЕС» К ЗАГРЯЗНЕНИЮ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ Бельшева Н.Е., Липин И.Н.	149
ОЦЕНКА ДЛИТЕЛЬНОГО ВНЕСЕНИЯ УДОБРЕНИЙ НА ГРУППЫ МИКРООРГАНИЗМОВ РАЗЛИЧНЫЕ ПО ТИПУ АЗОТНОГО ПИТАНИЯ Бойко А.Н. ^{1,2}	150
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ КИНЕТИКИ ПРОРАСТАНИЯ СЕМЯН ФАСОЛИ СОРТА МОСКОВСКАЯ БЕЛАЯ ЗЕЛЕНОСТРУЧКОВАЯ 556 Воршева А.В.	150
ТРАНСФОРМАЦИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ СУБСТРАТОВ РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ СЕРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВОЙ В МОДЕЛЬНОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ Душанова К.С. ¹ , Хомутова Т.Э. ²	151
МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ПЦР ДЛЯ АНАЛИЗА ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ГЕНОВ (NIFH, AMOA, NIRK И NIRS) В ПОЧВЕ Железова А.Д. ^{1,2} , Тхакахова А.К. ¹ , Кутовая О.В. ¹	151
ПОКАЗАТЕЛИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОВЕДЕНИЯ ПРОЦЕССОВ БИОРЕМЕДИАЦИИ. Заборская О.Ю. ¹ , Крамм Э.А. ^{1,2} , Заборская А.Ю. ²	152
МИКРОБНОЕ СООБЩЕСТВО ЧЕРНОЗЕМА СТРЕЛЕЦКОЙ СТЕПИ Каменев В.С., Свистова И.Д.	152
ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ СОСТОЯНИЯ ПОЧВЕННОГО ПОКРОВА ПРИ СМЕНЕ ТИПА ЗЕМЛЕПОЛЬЗОВАНИЯ Кириленко Н.Г., Дунаева Е.А.	153
РАЗРАБОТКА СИСТЕМЫ ИНДИКАТОРОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЗЕМЕЛЬ Кожевников Н.В.	153
ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ ПОЧВЕННОГО ПОКРОВА ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ Лазарева М.А.	154
ТАКСОНОМИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТЫХ ПОЧВ ЗАЛЕЖИ И ЛЕСОПОЛОСЫ Никитин Д.А. ^{1,2} , Семенов М.В. ¹ , Тхакахова А.К. ¹ , Чернов Т.И. ¹ , Бгажба Н.А. ^{1,2} , Железова А.Д. ^{1,2} , Кутовая О.В. ¹	155
ПОЧВЫ АРХЕОЛОГИЧЕСКИХ ПАМЯТНИКОВ САМАРСКОГО ПОВОЛЖЬЯ Овчинников А.Ю.	155
ПРОБЛЕМЫ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ ПОЧВ ТУЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ Огородников С.С., Мельникова А.А.	156
БЕНЗ(А)ПИРЕН И УСЛОВИЯ ЕГО НАКОПЛЕНИЯ В ПОЧВАХ ТЕХНОГЕННОЙ ЗОНЫ Сушкова С.Н., Дерябкина И.Г., Минкина Т.М., Саламова А.С., Нефедова А.А., Антоненко Е.М.	157
ПРОДУКТИВНОСТЬ РЕЛИКТОВОЙ РАЗНОТРАВНО - КОВЫЛЬНОЙ СТЕПИ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЯКУТИИ Федоряк М.Р., Семенова Н.С., Петрова Т.А.	157
СЕКЦИЯ «БИОТЕХНОЛОГИЯ И ПРИБОРОСТРОЕНИЕ».....	159
ПОЛУЧЕНИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ТРАНСГЕННЫХ ЛИНИЙ РЯСКИ МАЛОЙ (LEMNA MINOR L.), ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ГЕН ГРАНУЛОЦИТАРНОГО КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА (ГКСФ) Аликина О.В. ^{1,2} , Тарасенко И.В. ¹ , Фирсов А.П. ¹ , Митюшкина Т.Ю. ¹ , Долгов С.В. ¹	159

ПОЛУЧЕНИЕ ЛИНИИ ТРАНСГЕННЫХ КРОЛИКОВ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ЛАКТОФЕРРИН ЧЕЛОВЕКА В МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ Белова Н.В., Кутын И.В., Шишиморова М.С., Езерский В.А., Максименко С.В., Трубицына Т.П., Колоскова Е.М., Рябых В.П.....	159
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА МЕТОДОВ КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ БИОМАССЫ FRANCISELLA TULARENSIS ВАКЦИННОГО ШТАММА 15 НИИЭГ С ЦЕЛЬЮ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ПРОИЗВОДСТВЕ ЖИВОЙ ТУЛЯРЕМИЙНОЙ ВАКЦИНЫ Бибииков Д.Н. ¹ , Волох О.А. ¹ , Комиссаров А.В. ¹ , Самохвалова Ю.И. ¹ , Авдеева Н.Г. ¹ , Никифоров А.К. ^{1,2}	160
ЭКСПРЕССИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ЭКТОДОМЕНА ЭФРИНОВОГО РЕЦЕПТОРА ТИПА A5 (ECD EphA5) В E.COLI Богачева А.В., Кудин К.В., Жидецкий А.В.....	161
МОРФОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ЭКСПЛАНТОВ РАСТЕНИЙ РОДА PRUNUS НА ЭТАПЕ ВВЕДЕНИЯ В КУЛЬТУРУ IN VITRO Бриштен И.А. ¹ , Красинская Т.А. ^{1,2}	161
ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ НОВЫХ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ В ТЕХНОЛОГИИ МАЛОЖИРНЫХ ЙОГУРТОВ Вафина А.И. ¹ , Никитина Е.В. ^{1,2} , Ежкова Г.О. ¹ , Каюмов А.Р. ²	162
УЛУЧШЕНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЭНДОГЛЮКАНАЗЫ 2 МИЦЕЛИАЛЬНОГО ГРИБА PENICILLIUM VERRUCULOSUM Вахрушева А.В. ^{1,2,3} , Немашкалов В.А. ³ , Бубнова Т.В. ³ , Рожкова А.М. ⁴ , Зоров И.Н. ⁴ , Сеницын А.П. ⁴ , Габдулхаков А.Г. ²	162
ИЗУЧЕНИЕ МЕЖОРГАННОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ НАНОАЛМАЗОВ МЕТОДОМ ЭПР ПОСЛЕ ВНУТРИВЕННОЙ ИНЪЕКЦИИ ЖИВОТНЫМ Волкова М.Б. ^{1,2,3}	163
КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ПРОДУЦЕНТА КАРОТИНОИДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ LAETIPORUS SULPHUREUS LS 1-06 В УСЛОВИЯХ ИММОБИЛИЗАЦИИ НА МАТРИЦЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ Гаврюшина И.А., Горяева О.В., Мучкинова Е.А.	163
СОХРАНЕНИЕ IN VITRO РЕДКИХ И ИСЧЕЗАЮЩИХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ БЕЛГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ Гайдай П.А., Гуля Н.И., Зыбкина Д.Р., Маслова Е.В.	164
СОЗДАНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ КАРКАСОВ ПИЩЕВОДА НА ОСНОВЕ НАТУРАЛЬНОЙ ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗИРОВАННОЙ ТКАНИ НИЗШИХ ПРИМАТОВ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ Гилязиева З.Е. ¹ , Архипова С.С. ¹ , Журавлева М.Н. ¹ , Карал-Оглы Д.Д. ² , Орлов С.В. ² , Тенчурина Т.Х. ³ , Чвалун С.Н. ³ , Маккиарини П. ¹	165
ИНИЦИАЦИЯ КУЛЬТУРЫ IN VITRO СОРТА ВИНОГРАДА CRYSTALL Дубовик Е.А., Красинская Т.А.	165
ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ЭФРИНА-A5 ИЗ ТЕЛЕЦ ВКЛЮЧЕНИЯ E.COLI Жидецкий А.В., Богачева А.В., Чумаченко М.С.	166
ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ IN VITRO МЕРИСТЕМ РАЗЛИЧНЫХ СОРТОВ МЯТЫ ДЛЯ КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ Загорская М.С., Егорова Н.А.....	166
СЛИТЫЕ РЕКОМБИНАНТНЫЕ БЕЛКИ PSEUDOMONAS AERUGINOSA: ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ ИММУНОГЕННЫХ СВОЙСТВ Зимина Е.М.....	167
СОЗДАНИЕ КОНСТРУКЦИИ ДЛЯ ЭКСПРЕССИИ БЕЛКА ЭРИТРОПОЭТИНА В КЛЕТКАХ ДРОЖЖЕЙ Колковская Е.В., Голенченко С.Г., Прокулевич В.А.	168
БИОСИНТЕЗ ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ ИЗ ОЧИЩЕННОЙ ГЛЮКОЗЫ И ГЛЮКОЗО-СОДЕРЖАЩИХ ОТХОДОВ ДРЕВЕСИНЫ У ДРОЖЖЕЙ YARROWIA LIPOLYTICA Лунина Ю.Н., Камзолова С.В., Моргунов И.Г.	168

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ВВЕДЕНИЯ ЛЕЩИНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (<i>CORYLUS AVELLANA</i> (L.) H. KARST.) В КУЛЬТУРУ IN VITRO Малахова К.В., Зонтиков Д.Н., Марамохин Э.В.....	169
ОСОБЕННОСТИ КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ ЛИМОННИКА КИТАЙСКОГО (<i>SCHISANDRA CHINENSIS</i> (TURCZ.) BAILL.) И ЭЛЕУТЕРОКОККА КОЛЮЧЕГО (<i>ELEUTHEROCOCCLUS SENTICOSUS</i> (RUPR. & MAXIM.) MAXIM.) В КУЛЬТУРЕ IN VITRO Марамохин Э.В., Зонтиков Д.Н., Малахова К.В.....	169
АРХИТЕКТУРА ТЕЛЕМЕДИЦИНСКОЙ СИСТЕМЫ МОНИТОРИРОВАНИЯ ПЛОДА Минаев И.С. ^{1,2} , Минаев Н.С. ^{1,2} , Сенин А.А. ^{1,2} , Казанцев А.П. ^{1,2}	170
ОСНОВЫ АВТОМАТИЧЕСКОЙ СОНОГРАФИИ ПРИ МОНИТОРИНГЕ ПЛОДА. Минаев Н.С. ^{1,2} , Казанцев А.П. ^{1,2}	170
ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТАБОЛИЗАЦИИ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ ГРИБОВ <i>MORTIERELLA ALPINA</i> , ВЫРАЩЕННЫХ НА ГЛИЦЕРИН-СОДЕРЖАЩЕЙ СРЕДЕ С ДОБАВКАМИ РАСТИТЕЛЬНЫХ МАСЕЛ Миронов А.А., Камзолова С.В.....	171
ИНЖЕНЕРИЯ ЭНДОГЛЮКАНАЗЫ 2 МИЦЕЛИАЛЬНОГО ГРИБА <i>PENICILLIUM VERRUCULOSUM</i> Немашкалов В.А. ¹ , Вахрушева А.В. ¹ , Матыс В.Ю. ¹ , Беккаревич А.О. ¹ , Бунова Т.В. ¹ , Дашкевич Е.А. ¹ , Доценко А.С. ² , Рожкова А.М. ² , Сеницын А.П. ²	172
ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНЕРАЦИИ ТОКА БАКТЕРИЯМИ <i>GLUCONOBACTER OXYDANS</i> , ИММОБИЛИЗОВАННЫМИ НА ГРАФИТОВОМ ЭЛЕКТРОДЕ ПРИ ОКИСЛЕНИИ ГЛЮКОЗЫ И ЭТАНОЛА Пташник И.В. ^{1,2} , Китова А.Е. ¹ , Плеханова Ю.В. ¹ , Тарасов С.Е. ¹ , Решетиллов А.Н. ^{1,2}	172
ЭКСПРЕССИЯ И ОЧИСТКА РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА ЧЕЛОВЕКА NY-ESO-1 Пушкова Е.Н. ¹ , Финашутин Ю.П. ² , Мисюрин В.А. ² , Мисюрин А.В. ²	173
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СИСТЕМ ДОСТАВКИ РЕПОРТЕРНОЙ ПЛАЗМИДЫ С ПОМОЩЬЮ ПРОИЗВОДНЫХ ХИТОЗАНА Санков В.А. ^{1,2} , Шагдарова Б.Ц. ³ , Гречихина М.В. ¹ , Свирщевская Е.В. ¹ , Есипов Р.С. ¹	173
ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ФЬЮЖН-БЕЛКА, СОДЕРЖАЩЕГО N-КОНЦЕВОЙ ФРАГМЕНТ АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА ЭСКУЛЕНТИНА-1В Совгир Н.В., Бусленко А.В., Прокулевич В.А.....	174
ПОЛУЧЕНИЕ МИКРОБНЫХ ЛИПИДОВ С ПОВЫШЕННЫМ СОДЕРЖАНИЕМ ПАЛЬМИТОЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ Степанова Н.Н. ^{1,2} , Моргунов И.Г. ^{1,2} , Камзолова С.В. ¹	175
ТЕХНОЛОГИЯ МОНИТОРИРОВАНИЯ ВНУТРИСЕРДЕЧНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ ПЛОДА Казанцев А.П. ¹ , Медведева Д.А. ² , Субботина Л.М. ² , Минаев Н.С. ² , Минаев И.С. ² , Пономарева Ю.Н. ³ , Чацкис Е.М. ⁴ , Сенин А.А. ¹ , Миловидов Г.Д. ² , Байрамов С.С. ²	175
ОЧИСТКА ГИБРИДНОГО БЕЛКА ESC-C/LYSKHS, СОЛЮБИЛИЗИРОВАННОГО ИЗ ТЕЛЕЦ ВКЛЮЧЕНИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГУАНИДИН ГИДРОХЛОРИДА Тарашкевич Ю.С., Совгир Н.В., Жидецкий А.В., Прокулевич В.А.	176
ПОЛУЧЕНИЕ ДРОЖЖЕВЫХ СИСТЕМ ЭКСПРЕССИИ НА ОСНОВЕ ГЕНОВ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ Трошагина Д.С., Баранова Д.С., Валеева Л.Р. Сулейманова А.Д., Шарипова М.Р.	176
СОЗДАНИЕ ЛЕНТИВИРУСНОГО ВЕКТОРА, НЕСУЩЕГО ГЕН КАЛЫЦИЕВОГО СЕНСОРА CASE12 Тутукова С.А., Епифанова Е.А., Борисова Е.В., Гавриш М.С., Бабаев А.А.	177
РАЗРАБОТКА СЕНСОРНОЙ В-КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ С ПОВЕРХНОСТНОЙ ЭКСПРЕССИЕЙ ЗАРОДЫШЕВОЙ ФОРМЫ ВИЧ-СПЕЦИФИЧНОГО ШИРОКО НЕЙТРАЛИЗУЮЩЕГО АНТИТЕЛА 10E8 Черникова Д.С.	178

ВЫДЕЛЕНИЕ ФОСФАТМОБИЛИЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В КАЧЕСТВЕ ПРОДУЦЕНТОВ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ. Шабанова Н.Ю. ^{1,2} , Немойкина А.Л. ^{1,2} , Сюзёва О.А. ¹	178
ОСОБЕННОСТИ СОМАТИЧЕСКОГО ЭМБРИОГЕНЕЗА КЕДРА СИБИРСКОГО В УСЛОВИЯХ IN VITRO Шуклина А.С.	179
ИЗУЧЕНИЕ ЭЛЕКТРОГЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА МИКРОБНЫХ МАТОВ ТЕРМАЛЬНЫХ ИСТОЧНИКОВ И СОДОВО-СОЛЁНЫХ ОЗЁР РЕСПУБЛИКИ БУРЯТИЯ Юрьев Д.А. ¹ , Зайцева С.В. ²	180
ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ ОККЛЮЗИВНОГО И НЕОККЛЮЗИВНОГО ТРОМБООБРАЗОВАНИЯ В АРТЕРИЯХ Якушева А.А. ^{1,2} , Нечипуренко Д.Ю. ^{1,3} , Пантелеев М.А. ^{1,2,3}	180
ВЫЯВЛЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ПЕПТИДА ЭСКУЛЕНТИНА-А(1–1) Янушкевич Д.М., Совгир Н.В., Прокулевич В.А.	181
СЕКЦИЯ «ФИЗИОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ И БИМЕДИЦИНА»	182
ПРОЦЕССЫ ЭНДОЦИТОЗА СИНАПТИЧЕСКИХ ВЕЗИКУЛ В НЕРВНО-МЫШЕЧНОМ СОЕДИНЕНИИ МЫШИ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ АЛЛОКСАНОВОГО И СТРЕПТОЗОЦИНОВОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА. Альбова П.Е., Ярмиев И.З.	182
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ DROSOPHILA MELANOGASTER К СТРЕСС-ФАКТОРАМ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ ДЛЯ ОЦЕНКИ БИОЛОГИЧЕСКОГО ВОЗРАСТА. Белый А.А. ^{1,2} , Алексеев А.А. ³ , Москалев А.А. ^{1,2}	182
КЛЕТОЧНЫЙ СОСТАВ И ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ОЧАГОВ ГЕМОПОЭЗА В ГОЛОВНОЙ ПОЧКЕ И СЕЛЕЗЕНКЕ МОРСКОГО ЕРША Андреева А.Ю., Солдатов А.А., Кухарева Т.А.	183
ВЛИЯНИЕ СТАРЕНИЯ НА МЕХАНИЗМЫ ИШЕМИЧЕСКОЙ ТОЛЕРАНТНОСТИ ПОЧКИ Андрианова Н.В. ¹ , Янкаускас С.С. ² , Плотников Е.Ю. ² , Зоров Д.Б. ²	184
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВРЕМЕНИ ЖИЗНИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ФЛУОРОФОРОВ ЛИПОФУСЦИНОВЫХ ГРАНУЛАХ ИЗ КЛЕТОК РЕТИНАЛЬНОГО ПИГМЕНТНОГО ЭПИТЕЛИЯ КАДАВЕРНЫХ ГЛАЗ ЧЕЛОВЕКА БЕЗ ПРИЗНАКОВ ПАТОЛОГИИ Арбуханова П.М. ¹ , Яковлева М.А. ² , Фельдман Т.Б. ³ , Кузьмин В. А. ² , Борзенко С.А. ¹ , Островский М.А. ^{2,3}	184
ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТЕОМНОГО ПРОФИЛЯ ТКАНИ ТРАВМИРОВАННОГО СПИННОГО МОЗГА Ахметзянова Э.Р., Мухамедшина Я.О., Романова Ю.Р., Салафутдинов И.И., Лайков А.В.	185
ИССЛЕДОВАНИЕ СОСУДИСТЫХ ЭФФЕКТОВ У СПОНТАННО-ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ КРЫС (SHR) В ОТВЕТ НА АКТИВАЦИЮ СИМПАТИЧЕСКИХ НЕРВОВ Бабажанова В.А., Ережепова Г.Д., Матчанов А.Т.	185
РОЛЬ РЕЦЕПТОРОВ, АКТИВИРУЕМЫХ ПРОТЕИНАЗАМИ, В РЕГУЛЯЦИИ СИНАПТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ В МОТОРНЫХ СИНАПСАХ МЫШИ Белоусова Ю.В., Гайдуков А.Е., Балежина О.П.	186
ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА НА МОРФОЛОГИЮ И ПРОЛИФЕРАЦИЮ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТЕВЛОВЫХ КЛЕТОК Кузьменко В.В., Стойнова А.М., Станишевская И.Е., Станищевский Я.М.	187
НЕЙРОМОДУЛЯТОР НИКОТИНОВЫХ АЦЕТИЛХОЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ LYNX1 ЧАСТИЧНО СНИМАЕТ ИНГИБИРУЮЩИЙ ЭФФЕКТ БЕТА-АМИЛОИДНОГО ПЕПТИДА (1-42) НА ДЛИТЕЛЬНУЮ ПОТЕНЦИАЦИЮ В ПОЛЕ CA1 ГИППОКАМПА Васильева Н.А. ^{1,2} , Шулепко М.А. ^{1,3} , Долгих Д.А. ^{1,2} , Балабан П.М. ^{3,2} , Кирпичников М.П. ^{1,2} , Люкманова Е.Н. ^{1,2}	187

ИЗУЧЕНИЕ МОРФОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ПЕЧЕНИ ПТИЦ, ОТЛИЧАЮЩИХСЯ ПО ПРОДУКТИВНЫМ КАЧЕСТВАМ Ведерников А.А., Дубинин М.В., Теньков К.С., Самарцев В.Н.	188
ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ДЕПО-УПРАВЛЯЕМОГО ВХОДА КАЛЬЦИЯ В ПАЦИЕНТ-СПЕЦИФИЧЕСКИХ НЕЙРОНАХ ЧЕЛОВЕКА, МОДЕЛИРУЮЩИХ БОЛЕЗНЬ ХАНТИНГТОНА Вигонт В.А., Казначеева Е.В.	189
АНАЛИЗ УЧАСТИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В СТИМУЛЯЦИИ ПРОЦЕССОВ РЕГЕНЕРАЦИИ ПОВРЕЖДЕННОГО СПИННОГО МОЗГА Галиева Л.Р., Мухамедшина Я.О., Закирова Е.Ю., Костенников А.А.	189
ОСОБЕННОСТИ РАНОЗАЖИВЛЕНИЯ У КРЫС СО СТРЕПТОЗОТОЦИН-ИНДУЦИРОВАННЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ Горбачева А.М., Бердалин А. Б., Гаврилова С. А.	190
ВЫЯВЛЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ ИЗМЕНЕНИЙ ПРОЦЕССОВ ЭНДОЦИТОЗА СИНАПТИЧЕСКИХ ВЕЗИКУЛ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ Горшкова К.А., Альбова П.Е., Ярмиев И.З.	190
ЗАВИСИМОСТЬ «РСА-СИЛА» ВОЛОКОН БЫСТРОЙ И МЕДЛЕННОЙ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ КРОЛИКА Дрёмина Н.В. ^{1,2} , Кочубей П.В. ² , Щепкин Д.В. ² , Копылова Г.В. ² , Бершицкий С.Ю. ²	191
МОНОЦИТАРНО-МАКРОФАГАЛЬНАЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКА КЛЕТОК ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА, ИНДУЦИРОВАННАЯ ГОМОТИПИЧЕСКОЙ МЕЖКЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИЕЙ Евстратова Я.В. ^{1,2} , Кобякова М.И. ^{1,2} , Фадеев Р.С. ^{1,2} , Акатов В.С. ^{1,2}	192
МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ КАСКАД АРАХИДОНОВОЙ КИСЛОТЫ ОПРЕДЕЛЯЕТ ЭКСПРЕССИЮ РОСТОВЫХ И НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В МОДЕЛИ КОНКАНАВАЛИН-ИНДУЦИРОВАННОГО УВЕИТА У КРЫС Ердяков А.К., Лобанова А.Д., Дементьева А.А.	192
ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЖЕЛЕЗО-ОКСИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ НА ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ МЫШЕЙ Петрова И.М., Жданова А.В.	193
ВЛИЯНИЕ СЕРОВОДОРОДА НА РАЗВИТИЕ КРЫСЯТ ПЕРВОГО МЕСЯЦА ЖИЗНИ Зиганшина А. Р., Попова А.В., Яковлева О.В.	193
ОСОБЕННОСТИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ В ПЕРВЫЕ СУТКИ ПОСЛЕ ИНФАРКТА МИОКАРДА В МОДЕЛЯХ НЕОБРАТИМОЙ ИШЕМИИ И ИШЕМИИ/РЕПЕРФУЗИИ МИОКАРДА КРЫСЫ Иванов Е.В., Марков М.А., Бердалин А.Б., Волкова Ю.Л.	194
ПЕПТИД THR-SER-LYS-TYR ВЛИЯЕТ НА РЕЦИПРОКНУЮ РАБОТУ МАУТНЕРОВСКИХ НЕЙРОНОВ ЗОЛОТЫХ РЫБОК Ивличева Н.А. ¹ , Безгина Е.Н. ² , Бобылева Л.Г. ² , Михайлова Г.З. ²	195
ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ КРЫС ФРАГМЕНТОМ ХЕМОКИНА МСР-1 - ПЕПТИДОМ IX (ПХ, 29-40 ак) УЛУЧШАЕТ РАБОТОСПОСОБНОСТЬ СЕРДЦА В ОСТРЫЙ, НО НЕ ХРОНИЧЕСКИЙ ПЕРИОД ПОСЛЕ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ МИОКАРДА Исакова М.Р.	195
МЕТАБОЛИЗМ МЕДИ В КЛЕТКАХ ЖИРОВОЙ ТКАНИ У КРЫС, СОДЕРЖАВШИХСЯ НА НИЗКО- ИЛИ ВЫСОКОКАЛОРИЙНЫХ ДИЕТАХ Канаш Л. А. ¹ , Тимирова З. Р. ¹ , Ильичева Е. Ю. ^{1,2}	196
ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА В МНОГОКЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУРАХ Кобякова М. И. ^{1,2} , Евстратова Я. В. ^{1,2} , Фадеев Р. С. ^{1,2} , Акатов В. С. ^{1,2}	196
ВЛИЯНИЕ УМЕРЕННОЙ ГИПОТЕРМИИ НА ЦИТОКИНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ЭРИТРОЦИТАРНЫЕ ИНДЕКСЫ КРЫС Койсултанова З.К., Шихамирова З.М., Муртазаева А.З.	197

ЭФФЕКТЫ ПЕРОКСИРЕДОКСИНА 6 И ПАРАКРИННЫХ ФАКТОРОВ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА ДИНАМИКУ РЕГЕНЕРАЦИИ КОЖИ ПРИ ХИМИЧЕСКОМ ОЖОГЕ Кочкина А.В. ^{1,2} , Темнов А.А. ¹ , Новосёлов В.И. ¹	197
ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭЭГ В ПРОЦЕССЕ РЕШЕНИЯ КОГНИТИВНЫХ ЗАДАЧ Кундупьян О.Л., Кундупьян Ю.Л., Бибов М.Ю.	198
РЕСПИРАТОРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭРИТРОЦИТОВ БЫЧКА-КРУГЛЯКА В ПРОЦЕССЕ КЛЕТОЧНОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ Кухарева Т.А., Солдатов А.А.	199
МОДЕЛИРОВАНИЕ ФРОНТО-ТЕМПОРАЛЬНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ НА ЛИНИИ МЫШЕЙ С ЭКСПРЕССИЕЙ УКРОЧЕННОЙ ФОРМЫ БЕЛКА FUS ЧЕЛОВЕКА Лысикова Е.А.	199
ВЛИЯНИЕ ВИТАМИННОГО КОМПЛЕКСА МУЛЬТИВИТ ШАТТЛ НА МИКРОЦИРКУЛЯЦИЮ В КОЖЕ ЧЕЛОВЕКА Миронова М.В., Оводова А.И., Коняева Т.Н.	200
ФОРМИРОВАНИЕ СПОНТАННОЙ Ca^{2+} АКТИВНОСТИ КЛЕТОК СА3 ПОЛЯ СРЕЗОВ ГИППОКАМПА КРЫС ПОЗДНЕГО (P21-25) НЕОНАТАЛЬНОГО ПЕРИОДА ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА Митаева Я.И. ¹ , Можеров А.М. ¹ , Мухина И.В. ^{1,2}	200
ХАРАКТЕРИСТИКА МИНЕРАЛЬНОГО ОБМЕНА В РАННИЙ ПЕРИОД ЛАКТАЦИИ У КОРОВ С РАЗНОЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ ЯИЧНИКОВ Митяшова О.С., Соломахин А.А., Смекалова А.А., Лебедева И.Ю.	201
ВЛИЯНИЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ ТРОПОМИОЗИНА НА КАЛЬЦИЕВУЮ РЕГУЛЯЦИЮ АКТО- МИОЗИНОВОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В МИОКАРДЕ Ощепкова В.Ю. ^{1,2} , Щепкин Д.В. ² , Матюшенко А.М. ^{3,4} , Копылова Г.В. ² , Бершицкий С.Ю. ²	202
ГИПЕРАКТИВАЦИЯ КАЛЬПАИНОВ В ПОПЕРЕЧНО-ПОЛОСАТЫХ МЫШЦАХ ДЛИННОХВОСТОГО СУСЛИКА (SPERMOPHILUS UNDULATUS) В ПЕРИОД «ЗИМНЕЙ» АКТИВНОСТИ Попова С.С. ¹ , Вихлянцев И.М. ^{1,2} , Захарова Н.М. ³ , Подлубная З.А. ^{1,2}	202
ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ТИТАНА НА ТКАНИ ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ Романова А.Р., Цайзель В.Ю.	203
ВЛИЯНИЕ МЕТОДА АНЕСТЕЗИИ НА НИЗКОЧАСТОТНЫЕ КОМПОНЕНТЫ В СПЕКТРАХ КОЛЕБАНИЙ КОЖНОГО КРОВОТОКА У МЫШЕЙ Серов Д.А. ¹ , Тихонова И.В. ¹ , Филина Ю.В. ^{2,3} , Васильчикова М.В. ¹ , Асташев М.Е. ¹	203
ЭКСПРЕССИЯ ТЕРМИНАЛЬНЫХ КОНЦОВ ПРЕСЕНИЛИНА-1 ВЛИЯЕТ НА АКТИВНОСТЬ ДЕПО- УПРАВЛЯЕМЫХ КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ Суслова М. А. ^{1,2} , Скобелева К. В. ^{1,2}	204
ИЗУЧЕНИЕ ИННЕРВАЦИИ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ КРЫС В НОРМЕ Сырцова М.А.	205
ВОЗМОЖНЫЕ ПУТИ ЭНДОГЕННОЙ РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ КАЛЬЦИНЕЙРИНА В НЕРВНО- МЫШЕЧНЫХ СИНАПСАХ МЫШИ. Тарасова Е. О. ¹ , Гайдуков А. Е. ¹ , Балежина О. П. ¹	205
РАЗНОНАПРАВЛЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В БЕЛКАХ ТОЛСТЫХ И ТОНКИХ НИТЕЙ В ПОПЕРЕЧНОПОЛОСАТЫХ МЫШЦАХ ГРЫЗУНОВ В УСЛОВИЯХ РЕАЛЬНОЙ МИКРОГРАВИТАЦИИ Уланова А.Д. ^{1,2} , Грицына Ю.В. ¹ , Салмов Н.Н. ¹ , Вихлянцев И.М. ^{1,2}	206
РОЛЬ БЕТА1 И 2 АДРЕНОЦЕПТОРОВ В ЭФФЕКТАХ ИЗОПРОТЕРЕНОЛА НА БАЛАНС ПРОДУКЦИИ АФК-NO В УСЛОВИЯХ ОКИСЛЕНИЯ МЕМБРАННОГО ХОЛЕСТЕРИНА Урсан Р.В. ^{1,2} , Дутка К.М. ¹	206
АНАЛИЗ ЭФФЕКТОВ ПОЛУЧЕННЫХ ПРИ ДЕЙСТВИИ СИНЕГО СВЕТА НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ КЛЕТОК В УСЛОВИЯХ IN VITRO И IN VIVO Фахранурова Л.И.	207

ВЛИЯНИЕ КАРДИОМИОПАТИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ ТРОПОМИОЗИНА НА ИЗГИБНУЮ ЖЕСТКОСТЬ ТОНКИХ ФИЛАМЕНТОВ Филиппова М. Е. ^{1,2} , Набиев С.Р. ² , Никитина Л.В. ² , Матюшенко А.М. ^{3,4} , Копылова Г.В. ² , Щепкин Д.В. ² , Бершицкий С.Ю. ²	208
ВЛИЯНИЕ РЕКОМБИНАНТНОЙ ПЛАЗМИДНОЙ КОНСТРУКЦИИ, КОДИРУЮЩЕЙ ГЕНЫ VEGF-165 И BMP2, НА ОСТЕОГЕНЕЗ И АНГИОГЕНЕЗ IN VITRO Халиуллин М.Р. ¹ , Журавлева М.Н. ¹ , Деев Р.В. ² , Ризванов А.А. ¹	208
ЭКЗОЦИТОЗ СИНАПТИЧЕСКИХ ВЕЗИКУЛ И СЕКРЕЦИЯ МЕДИАТОРА В ДВИГАТЕЛЬНЫХ НЕРВНЫХ ОКОНЧАНИЯХ ПРИ НАРУШЕНИИ ФУНКЦИИ СЕПТИНОВ Хисамиева Г. А.	209
АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ГЕМОКОАГУЛЯЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА, СОЧЕТАННОЙ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА Цепкина А.В., Понасенко А.В., Хуторная М.В., Жидкова И.И., Барбараш О.Л.	209
ГИПОКСИЯ КАК МОДУЛЯТОР ABCB1-БЕЛКА Черных И.В., Шулькин А.В., Якушева Е.Н., Полупанов А.С.	210
АМИЛОИДНЫЕ СВОЙСТВА АГРЕГАТОВ СЕРДЕЧНОГО МИОЗИН-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА С Бобылёва Л.Г. ¹ , Шумейко С.А. ¹ , Вихлянцев И.М. ^{1,2} , Бобылёв А.Г. ^{1,2}	211
ФАКТОРНЫЙ АНАЛИЗ, КАК СПОСОБ ВЫЯВЛЕНИЯ ОСОБЕННОСТЕЙ СТРОЕНИЯ БЕДРЕННОЙ КОСТИ ПАЛЬЦЕХОДЯЩИХ ЖИВОТНЫХ НА ПРИМЕРЕ ПАРЫ КРОЛИК-СОБАКА Яшина И. Н., Иванов А.В.	211
ПОСЛЕДСТВИЯ КОНТАКТА МЛЕКОПИТАЮЩИХ С НАНОЧАСТИЦАМИ СЕРЕБРА (НЧС) Рожкова Н.А. ¹ , Соснин И.М. ^{1,2} , Орлов Ю.А. ^{1,3} , Тимирова З.Р. ¹ , Ильичева Е.Ю. ^{1,4}	212
ТРАНСЭНДОТЕЛИАЛЬНЫЙ ТРАНСПОРТ ЛИПОПРОТЕИНОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ ПОД ВЛИЯНИЕМ ФАКТОРОВ ВОСПАЛЕНИЯ INVITRO Мальцева О.Н.	213
СЕКЦИЯ «БИОМЕДИЦИНА И БИОФАРМАЦЕВТИКА»	214
АНАЛИЗ САМООРГАНИЗАЦИИ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА И КЛЕТОК НЕЙРОБЛАСТОМЫ В КО-КУЛЬТУРЕ Прудников Т. С. ¹ , Китаева К.В. ¹ , Гомзикова М.О. ¹ , Тазетдинова Л.Г. ¹ , Соловьева В.В. ¹ , Ризванов А.А. ¹	214
ШТАММ STREPTOMYCES SP. IB2014A016-38, ВЫДЕЛЕННЫЙ ИЗ БАЙКАЛЬСКИХ ЭНДЕМИЧНЫХ АМФИПОД, – ПРОДУЦЕНТ НОВЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И АКТИФЕНОЛА Аксенов-Грибанов Д. В. ^{1,2} , Войцеховская И. В. ¹ , Протасов Е. С. ¹ , Димова М. Дм. ¹ , Широкова Ю. А. ¹ , Костка Д. В. ¹ , Мадьярова Е. В. ¹	214
АНАЛИЗ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК, ЗАГРУЖЕННЫХ ПРЕПАРАТОМ ЦИСПЛАТИН, В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК НЕЙРОБЛАСТОМЫ IN VITRO Алексеева Е. А. ¹ , Тазетдинова Л. Г. ¹ , Гафиятуллин А. Ш. ¹ , Клетухина С. К. ¹ , Соловьева В. В. ¹ , Ризванов А. А. ¹	215
РАЗРАБОТКА ПОДХОДОВ ДЛЯ ДЕТЕКТИРОВАНИЯ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФУЛЛЕРЕНОВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ МЕТОДОМ СПЕКТРОСКОПИИ ГИГАНТСКОГО КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ СВЕТА Белик А. Ю. ¹ , Рыбкин А. Ю. ¹ , Полетаева Д. А. ¹ , Кукушкин В. И. ² , Горячев Н. С. ¹ , Краевая О. А. ¹ , Михайлов П. А. ^{1,3} , Трошин П. А. ¹ , Котельников А. И. ¹	216
КИНЕТИКА СОВМЕСТНОГО ДЕЙСТВИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СУБСТАНЦИЙ ПРИ РАЗЛИЧНОМ ПОРЯДКЕ ИХ ВВЕДЕНИЯ В МОДЕЛЬНУЮ ЛИПИДНУЮ МЕМБРАНУ Будянская Л.В. ¹ , Ващенко О.В. ¹ , Касян Н.А. ¹	216

IN VIVO И IN VITRO ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ДЕЙСТВИЯ ГИБРИДНЫХ КОНЬЮГАТОВ, СОДЕРЖАЩИХ ТРАНСФЕРРИН И АРТЕСУНАТ Виноградова Е.В. ¹ , Глушкова О.В. ¹ , Шарапов М.Г. ¹ , Колодина А.Ю. ¹	217
ОПЫТ ПОЛУЧЕНИЯ МИКРОКОНТЕЙНЕРОВ НАПРАВЛЕННОГО ДЕЙСТВИЯ ДЛЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ПЕПТИДНОГО КОМПЛЕКСА Волкова Л. В. ¹ , Гришина Т. А. ¹	217
ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ КОНДИЦИОНИРОВАННОЙ СРЕДЫ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК, ЗАГРУЖЕННЫХ ПРЕПАРАТОМ ЦИСПЛАТИН Гафиятуллин А. Ш. ¹ , Тазетдинова Л. Г. ¹ , Алексеева Е. А. ¹ , Прудников Т. С. ¹ , Мартынова Е. В. ¹ , Соловьева В. В. ¹ , Ризванов А. А. ¹	218
ПОЛУЧЕНИЕ ПЛЕНОК БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ, НАСЫЩЕННЫХ ПРЕПАРАТОМ ЛИПОСОМНОГО СИЛИМАРИНА Гудкова О. И. ¹ , Кенда А. М. ¹ , Ходжаева Р. Н. ¹ , Луценко С. В. ¹ , Фельдман Н. Б. ¹	219
ВЛИЯНИЕ ДГЭА И ЕГО НАНОМОДИФИЦИРОВАННОГО АНАЛОГА НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ И КОГНИТИВНЫЕ ФУНКЦИИ СОСТАРИВШИХСЯ МЫШЕЙ Зябрева А. А. ¹ , Сергеева В.А. ¹ , Пухальская Д.А. ¹ , Алешкин В.А. ² , Морозов Ю.Н. ³ , Сергеев Г.Б. ³ , Шмарина Г.В. ^{1,2}	219
КОМПЬЮТЕРНОЕ ПРОГНОЗИРОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 3,7-ДИАЗАБИЦИКЛО[3.3.1]НОН-2-ЕНОВ Иванова Е.В. ¹ , Сурова И.И. ¹ , Никишина М.Б. ¹ , Соколова А.И. ¹ , Стемпинь Н.Д. ¹ , Шахкельдян И.В. ¹ , Атрощенко Ю.М. ¹	220
АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ПРЕПАРАТА «МЕКСИДОЛ» ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ Карманова Е. Е. ^{1,2} , Иванов В. Е. ¹ , Брусков В. И. ^{1,2}	220
ИЗУЧЕНИЕ КОРРЕЛЯЦИИ ВИДОВОГО СОСТАВА ЗУБНОЙ БЛЯШКИ И КЛИНИЧЕСКОЙ КАРТИНЫ У БОЛЬНЫХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПАРОДОНТА Каунова Д.Д. ¹ , Тихомирова Е.А. ² , Верховский Р.А. ¹ , Зудина И.В. ¹	221
ИССЛЕДОВАНИЕ БИОСОВМЕСТИМОСТИ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ, ОБРАБОТАННЫХ ТЕХНОЛОГИЕЙ СВЕРХКРИТИЧЕСКОЙ ФЛЮИДНОЙ ЭКСТРАКЦИИ, В МОДЕЛИ ГЕТЕРОТОПИЧЕСКОЙ ИМПЛАНТАЦИИ КРЫСАМ Фадеева И.С. ^{1,3,4} , Кирсанова П.О. ^{1,4} , Сенотов А.С. ^{1,4} , Фадеев Р.С. ^{1,3,4} , Минайчев В.В. ^{1,3} , Звягина А.И. ^{1,3} , Кузьмин М.В. ^{1,3} , Просвирин А.А. ^{4,5} , Лекишвили М.В. ^{2,4} , Акатов В.С. ^{1,3,4}	222
ИССЛЕДОВАНИЕ САМООРГАНИЗАЦИИ СТРОМАЛЬНЫХ И ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ПРИ ИХ СОВМЕСТНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА ТРЕХМЕРНОМ МАТРИКСЕ МАТРИГЕЛЬ Китаева К.В. ¹ , Прудников Т.С. ¹ , Тазетдинова Л.Г. ¹ , Гомзикова М.О. ¹ , Ризванов А.А. ¹ , Соловьева В.В. ¹	222
РАЗРАБОТКА СБОРНИКА ЗАДАЧ ПО ИНЖЕНЕРНОЙ БИОЛОГИИ ДЛЯ СТУДЕНТОВ ЕСТЕСТВЕННО- НАУЧНЫХ ВУЗОВ Клабуков И.Д. ¹	223
АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ФЛАВОНОИДОВ И ИХ КОНЬЮГАТОВ С КАРБОНИЛЬНЫМИ СОЕДИНЕНИЯМИ Козина В.И. ^{1,2} , Шаталин Ю.В. ¹ , Шубина В.С. ¹	224
ДЕЙСТВИЕ ВОДОРАСТВОРИМОЙ ФОРМЫ ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА НА УРОВЕНЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ И ФОРМАХ ВВЕДЕНИЯ В ОРГАНИЗМ ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЯ Колесник В.В. ^{1,2} , Наумов А.А. ¹ , Поцелуева М.М. ^{1,2}	224
ДИЗАЙН ЛИПОПЛЕКСА С МИРНК ПРОТИВ ВИРУСА ГЕПАТИТА С Колоскова О.О. ^{1,2} , Носова А.С. ² , Буданова У.А. ² , Себякин Ю.Л. ² , Турецкий Е.А. ¹ , Шиловский И.П. ¹ , Смирнов В.В. ¹ , Хаитов М.Р. ¹	225
ПОДАВЛЕНИЕ СИНТЕЗА HSP70 УСИЛИВАЕТ ТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ Колударова Л.В. ^{1,2} , Никотина А.Д. ¹ , Мартова Е.В. ^{1,2} , Суезов Р.В. ¹ , Михайлова Е.Р. ¹ , Гужова И.В. ¹ , Маргулис Б.А. ¹	226

ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ ПАПАИНА, ИММОБИЛИЗОВАННОГО НА МАТРИЦЕ КИСЛОТОРАСТВОРИМОГО ХИТОЗАНА Королева В.А. ¹ , Холявка М.Г. ¹ , Сазыкина С.М. ¹ , Олышанникова С.С. ¹ , Ермолаева В.В. ¹ , Шеломенцева Т.Н. ¹ , Артюхов В.Г. ¹	226
ВЛИЯНИЕ RHODOSCOCCUS-БИОСУРФАКТАНТА НА АНТИТЕЛОГЕНЕЗ И ДИНАМИКУ РЕСПИРАТОРНОГО ВЗРЫВА В СИСТЕМЕ IN VIVO Кочина О.А. ¹ , Гейн С.В. ^{1,2} , Куюкина М.С. ^{1,2} , Ившина И.Б. ^{1,2}	227
ВЛИЯНИЕ ТРОФОБЛАСТИЧЕСКОГО ВЕТА1-ГЛИКОПРОТЕИНА НА ПРОДУКЦИЮ ИЛ-10 ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫМИ КЛЕТКАМИ ЧЕЛОВЕКА Кропанева М. Д. ¹ , Заморина С. А. ^{2,1}	227
ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО HER2-СПЕЦИФИЧНОГО РЕКОМБИНАНТНОГО ИММУНОТОКСИНА НА ОСНОВЕ ДАРПИНА И ЭКЗОТОКСИНА А Кутова О.М. ¹ , Соколова Е.А. ^{1,2} , Гурьев Е.Л. ¹ , Деев С.М. ^{1,2} , Балалаева И.В. ^{1,2}	228
МЕМБРАНОТРОПНЫЕ СВОЙСТВА ФУЛЛЕРЕНСОДЕРЖАЩИХ МАКРОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СТРУКТУР НА ОСНОВЕ АМФИФИЛЬНЫХ СОПОЛИМЕРОВ N_ВИНИЛПИРРОЛИДОНА Ложкин А.Д. ^{1,2} , Солдатова Ю.В. ¹ , Смолина А.В. ¹ , Файнгольд И.И. ¹ , Образцова Н.А. ¹ , Курмаз Н.А. ¹ , Котельникова Р.А. ¹	229
АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ И ТОКСИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ДИАЛКИЛ(ДИФЕНИЛ)-2- ГИДРОКСИФЕНИЛЭТЕНИЛФОСФОНИЕВЫХ СОЛЕЙ Любина А.П. ^{1,2} , Татаринов Д.А. ^{1,2} , Кузнецов Д.М. ^{1,2} , Миронов В.Ф. ^{1,2} , Кулик Н.В. ² , Волошина А.Д. ² , Зобов В.В. ^{1,2}	229
ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НЕКОТОРЫХ ФЛАВОНОИДОВ НА КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЕ РАКА ТОНКОГО КИШЕЧНИКА Мамадрахимов А.А. ¹ , Артыкбаева Г.М. ¹ , Ялалова И.Р. ¹ , Хашимова З.С. ¹	230
СИНТЕЗ И СВОЙСТВА НАНОПАСТ НА ОСНОВЕ ГИДРОКСИАПАТИТА, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫХ ДЛЯ РЕКОНСТРУКТИВНОЙ ХИРУРГИИ КОСТНОЙ ТКАНИ Минайчев В.В. ^{1,2} , Фадеев Р.С. ^{1,3,2} , Фадеева И.С. ^{1,3,2} , Кирсанова П.О. ¹ , Звягина А.И. ^{1,2} , Телешев А.Т. ⁴ , Горшенев В.Н. ⁵ , Яковлева М.А. ⁵ , Фомичев В.А. ⁴ , Лекишвили М.В. ⁶ , Просвирин А.А. ⁷ , Акатов В.С. ^{1,3,2}	231
СИНТЕЗ И СВОЙСТВА НАНОПАСТ НА ОСНОВЕ ГИДРОКСИАПАТИТА, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫХ ДЛЯ РЕКОНСТРУКТИВНОЙ ХИРУРГИИ КОСТНОЙ ТКАНИ Минайчев В.В. ^{1,2} , Фадеев Р.С. ^{1,3,2} , Фадеева И.С. ^{1,3,2} , Кирсанова П.О. ¹ , Звягина А.И. ^{1,2} , Телешев А.Т. ⁴ , Горшенев В.Н. ⁵ , Яковлева М.А. ⁵ , Фомичев В.А. ⁴ , Лекишвили М.В. ⁶ , Просвирин А.А. ⁷ , Акатов В.С. ^{1,3,2}	231
У ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ С ВЫСОКИМ УРОВНЕМ ПОЛИМОРФИЗМА ДНК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ НАБЛЮДАЕТСЯ ВЫСОКИЙ УРОВЕНЬ ПОВРЕЖДЕННОСТИ ДНК ЛЕЙКОЦИТОВ Митрошина И. Ю. ¹ , Кузнецова Е.А. ¹ , Сирота Н. П. ¹	231
ГЕПАТОПРОТЕКТИВНЫЕ СВОЙСТВА ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИМИДИНА Назаров Н.Г. ^{1,2} , Выштакалюк А.Б. ¹ , Зобов В.В. ^{1,2} , Семенов В.Э. ¹	232
КОНЬЮГАТЫ ПОЛИМЕРНЫХ ЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ PLGA С АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИНОМ ДЛЯ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ Никольская Е.Д. ^{1,2} , Жунина О.А. ² , Яббаров Н.Г. ² , Терещенко О.Г. ² , Попов Р.Ю. ¹ , Швеиц В.И. ¹ , Северин Е.С. ²	232
РАЗРАБОТКА МОДЕЛИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ НЕЙТРОФИЛЬНОГО ФЕНОТИПА У МЫШЕЙ Никольский А.А. ¹ , Сундукова М.С. ² , Шиловский И.П.	233
КАРИОПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В БУККАЛЬНОМ ЭПИТЕЛИИ У РАБОТНИЦ ХЛОПКОВЫХ ПЛАНТАЦИЙ НА ЮГЕ УЗБЕКИСТАНА, ПРОФЕССИОНАЛЬНО КОНТАКТИРУЮЩИХ С ИНСЕКТИЦИДАМИ И ГЕРБИЦИДАМИ Нусратуллаев Г.М. ¹	233
ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ СОЛЮБИЛИЗАЦИИ И РЕФОЛДИНГА ОВЕЧЬЕГО РЕКОМБИНАНТНОГО ИНТЕРФЕРОНА-α Острикова К.В. ¹ , Потапович М. И. ¹ , Прокулевич В. А. ¹	234

ПОЛУЧЕНИЕ ХИМЕРНЫХ БЛАСТОЦИСТ ПРИ ПОМОЩИ ОПТИКО-ЛАЗЕРНОГО МАНИПУЛЯТОРА Осыченко А.А. ¹ , Залесский А.Д. ¹ , Рябова А.В. ² , Кривохарченко А.С. ¹ , Надточено В.А. ¹	235
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИМИДИНА – СОКРИСТАЛЛОВ КСИМЕДОНА С п-АМИНОБЕНЗОЙНОЙ, АСКОРБИНОВОЙ И ЯНТАРНОЙ КИСЛОТОЙ Парфенов А.А., Выштакалюк А.Б., Гумарова Л.Ф., Назаров Н.Г., Кондрашина. 235	
АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫХ МИКРОКАПСУЛ НА ПРОЛИФЕРАТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК (МСК) ЧЕЛОВЕКА IN VITRO Попова Н. Р. ¹ , Попов А. Л. ¹ , Иванов В. К. ²	236
ВЛИЯНИЕ ТЕРАПИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ НА ЛПС-ИНДУЦИРОВАННЫЕ ЦИТОКИНОВЫЕ ОТВЕТЫ КЛЕТОК КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ДАННЫМ ЗАБОЛЕВАНИЕМ Радзюкевич Я.В. ¹ , Серов Д.А. ¹ , Косякова Н.И. ² , Прохоренко И.Р. ¹	236
РОЛЬ NF1A-ОПОСРЕДОВАННОЙ АКТИВАЦИИ ПЕНТОЗОФОСФАТНОГО ПУТИ В КОРРЕКЦИИ ПОСТГИПОКСИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС. Сариева К. В. ^{1,2} , Зорина И. И. ^{1,2} , Ветровой О. В. ²	237
АССОЦИИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВОЙ СИСТЕМЫ С ИЗМЕНЕНИЕМ УРОВНЯ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ И МОЧЕВИНЫ В КРОВИ У БОЛЬНЫХ С НОЗОКОМИАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ Смирнова С.В. ¹ , Смелая Т.В. ² , Белопольская О.Б., Сальникова Л.Е. ¹	238
СОЗДАНИЕ СУБМИКРОННЫХ ЧАСТИЦ PLGA ДЛЯ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ СОВМЕСТНОЙ ДОСТАВКИ АБИРАТЕРОНА АЦЕТАТА И ДОЦЕТАКСЕЛА В ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ Сокол М.Б. ¹ , Фаустова М.Р. ¹ , Никольская Е.Д. ² , Жунина О.А. ² , Северин Е.С. ²	238
АНТИДИАБЕТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ПЕНТАМИНОКИСЛОТНЫХ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФУЛЛЕРЕНА C60 Солдатов Ю.В. ¹ , Жиленьков А.В. ¹ , Файнгольд И.И. ¹ , Арешидзе Д.А. ^{1,2} , Трошин П.А. ¹ , Семин И.А. ² , Котельникова Р.А. ¹	239
АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ И ТОКСИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА 1,3-БИС(АЛКИЛ)-6- МЕТИЛУРАЦИЛОВ, СОДЕРЖАЩИХ 1,2,4-ТРИАЗОЛИЕВЫЕ ФРАГМЕНТЫ В АЛКИЛЬНЫХ ЦЕПОЧКАХ Стробыкина А.С. ¹ , Семенов В.Э. ¹ , Крылова Е.С. ¹ , Кулик Н.В. ¹ , Волошина А. Д. ¹	240
КАЛЬЦИЙ-СВЯЗЫВАЮЩИЕ БЕЛКИ ЗАЩИЩАЮТ ГАМКЕРГИЧЕСКИЕ НЕЙРОНЫ ГИППОКАМПА ОТ ПОВРЕЖДЕНИЯ ПРИ ГИПОКСИИ IN VITRO. Туровская М.В. ¹ , Туровский Е.А. ¹	240
ОЖИРЕНИЕ И ДИАБЕТ 2-ГО ТИПА ВЫЗЫВАЮТ НАРУШЕНИЕ КРОСС-СИГНАЛИЗАЦИИ ПЕПТИДНЫХ ГОРМОНОВ В БЕЛЫХ АДИПОЦИТАХ. Туровский Е.А. ¹ , Туровская М.В. ¹	241
ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРЫ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ НА ОСНОВЕ ВОДОРАСТВОРИМЫХ КОНЬЮГАТОВ ПРОИЗВОДНОГО ФУЛЛЕРЕНА С ХЛОРИНОМ Усольцева Л.И. ^{1,2} , Белик А. Ю. ¹ , Рыбкин А. Ю. ¹ , Горячев Н. С. ¹ , Краева О.А. ¹ , Михайлов П. А. ^{1,2} , Пархоменко И.И. ¹ , Филатова Н.В. ¹ , Терентьев А.А. ¹ , Трошин П. А. ¹ , Котельников А. И. ¹	241
6-R-4,8-ДИНИТРО-2,6-ДИАЗАТРИЦИКЛО[6.4.0.04,9]ДОДЕКАН-3,11-ДИОНЫ - ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ПРЕКУРСОРЫ ДЛЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ Устинов И.И. ¹ , Иванова Е.В. ¹ , Сурова И.И. ¹ , Блохин И.В. ¹ , Баландина А.О. ¹ , Шахкельдян И.В. ¹ , Атрощенко Ю.М. ¹	242
ВЛИЯНИЕ НИТРОГЛИЦЕРИНА НА ЦИТОАРХИТЕКТонику ЭРИТРОЦИТОВ ДОНОРОВ Федакова М.А. ¹ , Путинцева О. В. ¹ , Артюхов В.Г. ¹	243
ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА FLIC-AG85B-TB10.4 – КАНДИДАТНОГО ИММУНОГЕНА ПРОТИВ ТУБЕРКУЛЕЗА Федорова Е.А. ¹ , Богомолова Е.Г. ¹ , Добровольская О.А. ¹ , Черняева Е.Н. ¹	243

ВЛИЯНИЕ СОДЕРЖАНИЯ И УСПЕШНОСТИ ВЫПОЛНЕНИЯ АРИФМЕТИЧЕСКИХ ЗАДАЧ НА КОГНИТИВНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕШЕНИЯ Фомина А.С. ¹ , Кочетова С.Г. ¹ , Сенокосов Ю.О. ¹	244
РАЗРАБОТКА ЛИПОСОМНЫХ ФОРМ ТЕСТОСТЕРОНА С ПОВЫШЕННОЙ БИОДОСТУПНОСТЬЮ Ходжаева Р. Н.а ¹ , Гудкова О. И. ¹ , Кенда А. М. ¹ , Горяева О. В.а ¹ , Мучкина Е. А. ¹ , Фельдман Н. Б. ¹ , Луценко С. В. ¹	244
СОЗДАНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ЛЕНТИВИРУСНЫХ КОНСТРУКЦИЙ, КОДИРУЮЩИХ ГЕНЫ ЦИТОКИНОВ С ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТЬЮ Чулпанова Д.С. ¹ , Колобынина К.Г. ¹ , Соловьева В.В. ¹ , Ризванов А.А. ¹	245
ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОГО PRX6 НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МЕЗЕНТЕРАЛЬНЫХ СОСУДОВ ПРИ ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРFUЗИОННОМ ПОРАЖЕНИИ Шарапов М.Г. ¹ , Гончаров Р.Г. ¹ ..	246
БАКТЕРИЦИДНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРОИЗВОДНОГО 2(5Н)-ФУРАНОНА В ОТНОШЕНИИ КЛЕТОК STARHYLOCOCCUS AUREUS Шарафутдинов И. С. ¹ , Павлова А. С. ¹ , Курбангалиева А. Р. ¹ , Макаревич О.. ² , Каюмов А. Р. ¹	246
СПОСОБ ТЕСТИРОВАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ПРИНАДЛЕЖНОСТЬ К СУБСТРАТАМ, ИНДУКТОРАМ И ИНГИБИТОРАМ БЕЛКА-ТРАНСПОРТЕРА ГЛИКОПРОТЕИНА-Р Щулькин А.В. ¹ , Черных И.В. ¹ , Якушева Е.Н. ¹ , Гацаного М.В. ¹ , Попова Н.М. ¹	247
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО СРЕДСТВА ЦИСПЛАТИНА НА TRAIL- ОПОСРЕДОВАННУЮ ГИБЕЛЬ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК. Яголович А.В. ¹ , Гаспарян М.Э. ¹ , Бычков М.Л. ¹ , Долгих Д.А. ¹	247
СЕКЦИЯ «ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ И ФОТОБИОЛОГИЯ»	249
ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ ПИГМЕНТОВ В РАСТЕНИЯХ <i>TRITICUM</i> <i>AESTIVUM</i> L., ИНОКУЛИРОВАННЫХ <i>BACILLUS SUBTILIS</i> , В УСЛОВИЯХ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВЫ ИОНАМИ СВИНЦА Pb ²⁺ Арефьева А.А., Курамшина З.М.	249
СОДЕРЖАНИЕ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ И ГЛУТАТИОНА В КРЕСС-САЛАТЕ ПРИ СОВМЕСТНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ NaCl-ЗАСОЛЕНИЯ И ЩЕЛОЧНОСТИ КОРНЕВОЙ СРЕДЫ Арисова А.К., Еремченко О.З.	249
ВСТРАИВАНИЕ ЭКЗОГЕННЫХ КАРОТИНОИДОВ В ПИГМЕНТ-БЕЛКОВЫЕ КОМПЛЕКСЫ LH2 СЕРНЫХ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ Ашихмин А.А., Большаков М.А., Махнева З.К., Москаленко А.А.	250
ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АЗОТА ТРАНСГЕННЫМИ РАСТЕНИЯМИ БЕРЕЗЫ С ГЕНОМ ГЛУТАМИНСИНТЕТАЗЫ Белова Е.Н. ¹ , Лебедев В.Г. ^{1,2}	250
ВЛИЯНИЕ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР НА СОДЕРЖАНИЕ ПРОДУКТОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ В РАСТЕНИЯХ ЛАВАНДЫ УЗКОЛИСТНОЙ Белова И.В.	251
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТРАНЗИЕНТНОЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ДЛЯ ХАРАКТЕРИСТИКИ СИГНАЛЬНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ И ОЦЕНКИ ЛОКАЛИЗАЦИИ БЕЛКОВ В РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКЕ Берестовой М.А. ^{1,2} , Тюрин А. А. ^{1,2} , Кабардаева К. В. ^{1,2} , Сидорчук Ю.В. ³ , Фоменков А.А. ¹ , Носов А.В. ¹ , Голденкова-Павлова И.В. ¹	252
УЧАСТИЕ ПУЛА ПЛАСТОХИНОНА В РЕАКЦИИ МЕЛЕРА Ветошкина Д.В., Иванов Б.Н., Проскуряков И.И., Борисова-Мубаракшина М.М.	252
ОЦЕНКА ТЕСТИРУЮЩЕЙ ДОЗЫ КАДМИЯ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ВНУТРИВИДОВОГО ПОЛИМОРФИЗМА ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ ПО УСТОЙЧИВОСТИ К ТОКСИЧЕСКОМУ СТРЕССУ Дикарев А.В., Дикарев В.Г., Дикарева Н.С.	253

АНАЛИЗ РОСТОРЕГУЛИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ 1,1-ДИХЛОРБЕНЗИЛЦИКЛОПРОПАНА Дреева И.А., Хабаева З.Г., Гаппоева В.С., Газзаева Р.А., Гаглыева А.Р.	253
ИЗУЧЕНИЕ ИММУННОГО ОТВЕТА МХА <i>PHYSCOMITRELLA PATENS</i> НА ПОРАЖЕНИЕ ФИТОПАТОГЕННЫМИ БАКТЕРИЯМИ Егорова Е.Д., Виноградова С.В.	254
ВЛИЯНИЕ СВЕТА ПРЕИМУЩЕСТВЕННО СИНЕЙ ДЛИНЫ ВОЛНЫ И РАЗНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ГУМАТОВ КАЛИЯ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ <i>TRIFOLIUM PRATENSE</i> L. Жигулева А.А.	255
ИССЛЕДОВАНИЕ УЧАСТИЯ ТИЛАКОИДНОЙ альфа- карбоангидразы4 В ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОМ МЕТАБОЛИЗМЕ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> Журикова Е.М., Игнатова Л.К., Иванов Б.Н.	255
ВЛИЯНИЕ ЭНДОФИТНЫХ ШТАММОВ <i>BACILLUS SUBTILIS</i> И СУПЕРФОСФАТА НА МИКОРИЗАЦИЮ КОРНЕЙ ПШЕНИЦЫ Кинзябаева Э.Р., Курамшина З.М.	256
РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ЭКЗОГЕННЫМ МЕЛАТОНИНОМ В ПРОРОСТКАХ РАПСА <i>BRASSICA NAPUS</i> НА СВЕТУ И В ТЕМНОТЕ Коломейчук Л.В., Мурган О.К., Ефимова М.В.	256
ИЗУЧЕНИЕ ОТВЕТА ПРОРОСТКОВ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> НА НИЗКИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ИОНОВ НАТРИЯ Кропачева Е.В., Глаголева Е.С., Бибикина Т.Н.	257
ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ГОРОХА ПОСЕВНОГО ПРИ ДЕЙСТВИИ ХЛОРИДА КАДМИЯ Кулаева О.А., Жернаков А.И., Афонин А.М., Жуков В.А., Цыганов В.Е., Тихонович И.А.	258
МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ ОТВЕТ ТРЕХСУТОЧНЫХ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ НА ЭКСПОНИРОВАНИЕ ИСХОДНЫХ СЕМЯН В ПРОТОКЕ ОЗОНО-ВОЗДУШНОЙ СМЕСИ Лазукин А.В. ^{1,2} , Сердюков Ю.А. ¹ , Грабельных О.И. ^{3,4} , Корсукова А.В. ^{3,4} , Забанова Н.С. ^{3,4} , Кривов С.А. ²	258
МУТАЦИЯ ГЕНА <i>ARA7/ATRAF2B</i> , ВОВЛЕЧЕННОГО В РЕГУЛЯЦИЮ ВЕЗИКУЛЯРНОГО ТРАНСПОРТА, СТИМУЛИРУЕТ РОСТ И ПОВЫШАЕТ СОЛЕУСТОЙЧИВОСТЬ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> (L.) HEYNH. Майорова О.В. ¹ , Орлова Ю.В. ¹ , Халилова Л.А. ¹ , Мясоедов Н.А. ¹ , Шувалов А.В. ¹ , Карпычев И.В. ¹ , Беляев Д.В. ¹ , Балнокин Ю.В. ^{1,2}	259
ВЛИЯНИЕ <i>BACILLUS SUBTILIS</i> НА АКТИВНОСТЬ КАТАЛАЗЫ РАСТЕНИЙ ГАЗОННОЙ ТРАВЫ В УСЛОВИЯХ НЕДОСТАТОЧНОЙ ОСВЕЩЕННОСТИ Маркина В.О., Курамшина З.М.	260
КЛОНИРОВАНИЕ АТФ-азы Р-ТИПА ИЗ МОРСКОЙ МИКРОВОДОРОСЛИ <i>Dunaliella maritima</i> И ЕЕ ПРЕДПОЛАГАЕМАЯ РОЛЬ В ТРАНСПОРТЕ ИОНОВ Na ⁺ Маталин Д.А. ¹ , Храмов Д.Е. ² , Карпычев И.В. ¹ , Попова Л.Г. ¹ , Шувалов А.В. ¹	260
АНАЛИЗ ПРОДУКТОВ РАСПАДА УГЛЕВОДНЫХ ПОЛИМЕРОВ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ ПРИ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ФИТОПАТОГЕННОЙ БАКТЕРИЕЙ <i>PESTOBACTERIUM ATROSEPTICUM SCRI1043</i> Меликова Д.А., Горшков В.Ю.	261
ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ ФЕРМЕНТА ДАГАТ НА СТАДИЯХ МАКСИМАЛЬНОГО НАКОПЛЕНИЯ НЕОБЫЧНЫХ ТАГ У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА БЕРЕСКЛЕТ Павленко О.С. ^{1,2} , Лиходеевский Г.А. ³ , Садовская Н.С. ¹ , Сидоров Р.А. ¹	261
ВЛИЯНИЕ <i>BACILLUS SUBTILIS</i> НА СОДЕРЖАНИЕ МАЛОНОВОГО ДИАЛЬДЕГИДА В ПОБЕГАХ ПШЕНИЦЫ ПРИ ИМИТАЦИИ ПОЧВЕННОЙ ЗАСУХИ Саттарова Л.Р., Курамшина З.М.	262
КРИОСОХРАНЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИ ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ КОРНЕЙ ШЛЕМНИКА БАЙКАЛЬСКОГО МЕТОДОМ ИНКАПСУЛЯЦИИ-ДЕГИДРАТАЦИИ Соловьева А.И., Степанова А.Ю., Высоцкая О.Н.	263

ИССЛЕДОВАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ РАЗЛИЧНЫХ ОТДЕЛОВ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА ПАМ – ФЛУОРИМЕТРИИ И СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ Степанова В.А., Шаланов В.В.	263
ВЛИЯНИЕ ЦИНКОВЫХ УДОБРЕНИЙ НА УРОЖАЙНОСТЬ ГИБРИДОВ КУКУРУЗЫ РАЗНОЙ ГРУППЫ СПЕЛОСТИ Тафий М.Д., Николайчук В.И., Вакерич М.М., Белчгази В.И., Горват Я.В., Гедзур Т.И.	264
ПОТЕНЦИАЛ ТЕРМОСТАБИЛЬНОЙ ЛИХЕНАЗЫ КАК БЕЛОК-СТАБИЛИЗИРУЮЩЕГО ПАРТНЕРА ДЛЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ И РАСТИТЕЛЬНЫХ СИСТЕМ ЭКСПРЕССИИ Тюрин А.А. ^{1,2} , Павленко О.С. ^{1,2} , Кабардаева К.В. ^{1,2}	264
ОПРЕДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИЦИДНОЙ И ФУНГИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ РАСТЕНИЙ РОДОВ <i>MARANTA</i> И <i>SPATHIPHYLLUM</i> Фофанов М.В., Филя Т.В., Фортыгина П.А., Филиппова Ю.Ю.	265
РОЛЬ СИМБИОТИЧЕСКИХ ГЕНОВ ГОРОХА (<i>PISUM SATIVUM</i> L.) <i>SYM11</i> , <i>SYM14</i> И <i>SYM36</i> В ФОРМИРОВАНИИ ИНФЕКЦИИ ПРИ СИМБИОЗАХ С АРБУСКУЛЯРНО-МИКОРИЗНЫМИ ГРИБАМИ И КЛУБЕНЬКОВЫМИ БАКТЕРИЯМИ Хайруллина М.М. ¹ , Штарк О.Ю. ²	266
ОСОБЕННОСТИ РОСТА И ВТОРИЧНОГО КАРОТИНОГЕНЕЗА У ПРИЧЕРНОМОРСКИХ ИЗОЛЯТОВ ЗЕЛЕННОЙ МИКРОВОДОРОСЛИ <i>HAEMATOCOCCUS PLUVIALIS FLOTOW (VOLVOCALES)</i> Челебиева Э.С. ¹ , Данцюк Н.В. ¹ , Чеканов К.А. ² , Чубчикова И.Н. ¹ , Дробецкая И.В. ¹ , Минюк Г.С. ¹	266
СОДЕРЖАНИЕ ПРОЛИНА В ЛИСТЬЯХ ОВСА ПОСЕВНОГО ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ NaCl-ЗАСОЛЕНИЯ И КИСЛОТНОСТИ КОРНЕВОЙ СРЕДЫ Четина О.А., Акбулякова Г.М., Мурсалимова Г.Р.	267
ОБРАБОТКА ПРОДУКТАМИ ПОВЕРХНОСТНОГО РАЗРЯДА СЕМЯН ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР. Шамова И.В. ¹ , Лазукин А.В. ^{1,2} , Кривов С.А.	268
АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА И ПОВРЕЖДЕНИЯ ЛИПИДОВ И БЕЛКОВ РАСТЕНИЙ В ХОДЕ АНОКСИИ И ПОСЛЕДУЮЩЕГО ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА Шиков А.Е.	268
ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ КАТАЛАЗЫ И ПЕРОКСИДАЗЫ В <i>LEPIDIUM SATIVUM</i> L. ПОД ВЛИЯНИЕМ КИСЛОТНО-ЩЕЛОЧНЫХ СВОЙСТВ КОРНЕВОЙ СРЕДЫ Шиленосова И.С.	269
ПРАЙМИНГ ЗАЩИТНЫХ РЕАКЦИЙ В РАСТЕНИЯХ ТОМАТА ПРИ ФУЗАРИОЗНОМ УВЯДАНИИ Шпилевский С.Н., Кабашникова Л.Ф.	269
ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ФАКТОРОВ НА МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ <i>MELISSA OFFICINALIS</i> ПРИ ВВЕДЕНИИ ЭКСПЛАНТОВ В КУЛЬТУРУ <i>IN VITRO</i> Якимова О.В.	270
СЕКЦИЯ «ЭКОЛОГИЯ»	272
ТАКСАЦИОННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СОСНОВЫХ ДРЕВОСТОЕВ РАЗНОГО ВОЗРАСТА НА СТАРОПАХОТНЫХ ЗЕМЛЯХ Аверина М. В. ¹ , Феклистов П.А. ¹	272
АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ И НАЗИВНОЙ ПОПУЛЯЦИИ <i>HARMOZICA RAVERGIENSIS</i> (MOLLUSCA, GASTROPODA, PULMONATA) НА ТЕРРИТОРИИ ГОРОДА БЕЛГОРОД Адамова В. В. ¹ .	272
ПОИСК ПУТЕЙ СНИЖЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ФОСФАТ-ИОНОВ В НЕДОСТАТОЧНО ОЧИЩЕННЫХ СТОЧНЫХ ВОДАХ Аканьева А. Н. ¹	273
МАКРОМИЦЕТЫ ПАМЯТНИКА ПРИРОДЫ "КОМСОМОЛЬСКАЯ РОЩА" (Г. КАЛУГА) Алексеев А.С. ¹ , Сионова М.Н.	273
ОБОСНОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ БИОТЕСТ-СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР <i>IN VITRO</i> С ЦЕЛЬЮ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ ДЕРЕВЬЕВ <i>PINUS SYLVESTRIS</i> L. Аминев Е.Ю. ¹ , Гуреев А.П. ² , Попов В.Н. ²	274

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИИ РОТАНА В ГОРОДСКИХ ВОДОЕМАХ ГОРОДА КАЗАНИ. Балезина Л. Ю. ¹ , Замалетдинов Р. И. ¹ , Назаров Н. Г. ¹	275
ОЦЕНКА ПОТЕНЦИАЛА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГОРЧИЦЫ БЕЛОЙ (<i>SINAPIS ALBA</i>) И КУКУРУЗЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (<i>ZEА MAYS</i> L.) ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПОЧВОГРУНТОВ ПОЛИГОНА ТБО «САЛАРЬЕВО» Бекк В.В. ¹	275
БИОФИЗИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ СОВРЕМЕННОГО АРЕАЛА ЮЖНОГО ВСЕЛЕНЦА <i>DIAPHANOSOMA</i> <i>ORGHIDANI</i> NEGREA И КЛИМАТИЧЕСКИЕ СЦЕНАРИИ ЕГО РАССЕЛЕНИЯ В ВОДОЕМАХ САМАРСКОГО ПОВОЛЖЬЯ Болотов С. Э. ^{1,2} , Мухортова О. В. ³ , Федоров Р. А. ²	276
МАТЕРИАЛЫ ПО ПАРАЗИТОФАУНЕ СУДАКА <i>SANDER LUCIOPERCA</i> (LINNAEUS, 1758) В 2016 Г. Бортников Е.С. ^{1,2} , Шевкоплясова Н.Н. ¹	276
ВЛИЯНИЕ СЕРНОКИСЛОЙ МЕДИ НА РАЗВИТИЕ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ ПРЕДПОСЕВНОЙ ОБРАБОТКЕ СЕМЯН Вакерич М.М. ¹ , Киш Ю.В. ¹ , Николайчук В.И. ¹	277
ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА ОБМЕНА И СТРЕСС-ОТВЕТА У БАЙКАЛЬСКИХ ЭНДЕМИЧНЫХ И ГОЛАРКТИЧЕСКИХ АМФИПОД В УСЛОВИЯХ ПОСТЕПЕННОЙ ГИПЕРТЕРМИИ Верещагина К.П. ¹ , Бедулина Д.С. ¹ , Тимофеев М.А. ¹	278
ВОЗРАСТ И РОСТ ПРОМЫСЛОВОГО МОЛЛЮСКА <i>MERCENARIA STIMPSONI</i> (BIVALVIA, VENERIDAE) В УСЛОВИЯХ ОТКРЫТОГО МОРСКОГО ПОБЕРЕЖЬЯ ПРИМОРСКОГО КРАЯ (ЯПОНСКОЕ МОРЕ) Власенко Р. В. ¹	278
ГОРОДСКИЕ ЛЕСА КАК МЕСТООБИТАНИЯ НАЗЕМНЫХ МОЛЛЮСКОВ В ГОРОДЕ КАЛУГЕ Галемина И.Е. ¹	279
ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС ОЗЕРА СЕВАН В УСЛОВИЯХ ПОВЫШЕНИЯ УРОВНЯ ВОДЫ. Мамян А. С. ¹ , Гамбарян Л.Р. ²	279
ВЛИЯНИЕ <i>HALIMIONE VERRUCIFERA</i> (M. VIEB.) AELLEN НА <i>SALICORNIA EUROPAEA</i> L. И <i>SUAEDA</i> <i>PROSTRATA</i> PALL. Ганусяк А.П. ¹ , Кузьмина В.С. ¹ , Симагина Н.О. ¹	280
ОЦЕНКА УЩЕРБА ГОРОДСКОМУ ЛЕСОПАРКУ "ЛЕБЯЖЬЕ" (Г.КАЗАНЬ) ОТ ПОТЕРИ ДРЕВЕСНО- КУСТАРНИКОВОЙ РАСТИТЕЛЬНОСТИ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ЛИНИИ ТРАССЫ ВСМ-2 Гимранова Э. А. ¹	281
ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ АВТОТРАНСПОРТА НА АССИМИЛЯЦИЮ ПЛАСТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОВ И НАКОПЛЕНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ОРГАНАХ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО НА ПРИМЕРЕ Г. МОСКВЫ Голубева М.В. ¹ , Кулакова Н.Ю. ² , Баранова Ю.А. ¹	281
ВОЗДЕЙСТВИЕ ИСКУССТВЕННЫХ УСЛОВИЙ СОДЕРЖАНИЯ СТЕРХА НА ПРАВИЛЬНОЕ ФОРМИРОВАНИЕ ЯИЦ. Гречищева Я. С. ¹	282
ИММОБИЛИЗАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ БИОТИЧЕСКОГО БЛОКА ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ ЦЕНТРА ВОСТОЧНО-ЕВРОПЕЙСКОЙ РАВНИНЫ В ОТНОШЕНИИ ЦИНКА И КАДМИЯ Железнова О. С. ¹	283
ОСЕННЯЯ ОРНИТОФАУНА ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ ТЕРРИТОРИЙ ЗОНЫ БЕРЕЗОВЫХ ЛЕСОВ И РЕДКОЛЕСИЙ СЕВЕРО-ЗАПАДА МУРМАНСКОЙ ОБЛАСТИ Зацаринный И. В. ¹ , Собчук И.С. ¹ , Варюхин В.С. ¹	283
ВЗАИМОСВЯЗЬ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ И ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ У ВИДОВ РОДА <i>DROSOPHILA</i> Земская Н. В. ^{1,2} , Москалев А. А. ^{1,2,3,4}	284
ЛИШАЙНИКИ ГОРНОЙ ЧАСТИ ИШИМБАЙСКОГО РАЙОНА РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН Ибрагимов А. И. ¹ , Каюпов Ф. И. ¹	284

ВЛИЯНИЕ АБИОТИЧЕСКОГО СТРЕССА НА ИЗМЕНЕНИЕ СТЕХИОМЕТРИИ C:N и C:P В СИСТЕМЕ ПОЧВА-РАСТЕНИЕ Квиткина А. К. ¹ , Дударева Д.М. ²	285
БИОПРЕПАРАТ ДЛЯ ОЧИСТКИ СТОЧНЫХ ВОД, ОСЛОЖНЕННЫХ ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ АММОНИЙНОГО АЗОТА Кельник Д.И. ¹ , Глушень Е.М. ¹	286
ОСОБЕННОСТИ АЛЬГОФЛОРЫ ТЕХНОГЕННОГО ВОДОЕМА В ПЕРИОД УГАСАНИЯ Кривина Е. С. ¹	286
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ БИОПЛЕНОК ДЛЯ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА Кузнецов А.Л. ¹ , Левачева М.А. ¹ , Панайт А.И. ¹ , Суворов О.А. ¹	287
АФИЛЛОФОРОИДНЫЕ ГРИБЫ СРЕДНЕАХТУБИНСКОГО И СВЕТЛОЯРСКОГО ЛЕСНИЧЕСТВ ВОЛГОГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ Курагина Н. С. ¹	288
ВЛИЯНИЕ ПОСТЕПЕННОГО ПОВЫШЕНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ СРЕДЫ НА ПОКАЗАТЕЛИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РАЗЛИЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ АМФИПОД <i>GMELINOIDES FASCIATUS</i> (STEBB., 1899) Лубяга Ю.А. ² , Трифонова М.С. ¹ , Аксенов-Грибанов Д.В. ^{2,3} , Гурков А.Н. ^{2,3} , Шатилина Ж.М. ^{2,3} , Тимофеев М.А. ³	288
СОХРАНЕНИЕ ГЕНОФОНДА ИСЧЕЗАЮЩИХ СОРТОВ ЯБЛОНИ ЗАКАРПАТСКОЙ ОБЛАСТИ Маргитай В. В. ¹ , Николайчук В. И. ¹ , Вакерич М. М. ¹	289
РАДИОНУКЛИДЫ (²²⁶ Ra, ²³² Th, ⁴⁰ K, ¹³⁷ Cs) В ПОЧВАХ ТОСНЕНСКОГО РАЙОНА ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ РАЗНОГО ВРЕМЕНИ ОТБОРА ОБРАЗЦОВ Мингареева Е.В. ^{1,2}	290
ИЗУЧЕНИЕ ЗАГРЯЗНЕННОСТИ ПОЧВЫ НА СНЕГОСВАЛКЕ ГОРОДА ЧЕБОКСАРЫ МЕТОДОМ БИОИНДИКАЦИИ Михайлова И. Н. ¹ , Алексеева В. А. ²	290
МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ <i>ACONITUM EXCELSUM</i> В РАСТИТЕЛЬНЫХ СООБЩЕСТВАХ ЗАУРАЛЬЯ И ПРЕДУРАЛЬЯ Насырова Р. Р. ¹	291
ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО УЩЕРБА ВОДНЫМ БИОЛОГИЧЕСКИМ РЕСУРСАМ ВОЛЖСКОГО ПЛЕСА КУЙБЫШЕВСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА Нигматуллина Р. Р. ¹	292
СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ГЕЛЬМИНТОФАУНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ БУРОЗУБКИ <i>SOREX ARANEUS</i> Никонорова И. А. ¹ , Бугмырин С.В.	292
ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ МАЛОЙ РЕКИ В УРБАНИЗИРОВАННОЙ СРЕДЕ Ножкина С. С. ¹ , Платунова Г.Р. ¹	293
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ВИДООПРЕДЕЛЕНИЕ РАСТИТЕЛЬНОЯДНЫХ РЫБ, ВЫРАЩЕННЫХ В АКВАКУЛЬТУРЕ Носова А. Ю. ¹ , Крук А. Ю. ^{1,2}	293
ПРИМЕНЕНИЕ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В БИОМОНИТОРИНГЕ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ. Павлова А.И. ¹	294
РАЗРАБОТКА СПЕЦИАЛЬНОЙ АНКЕТЫ ДЛЯ ОПИСАНИЯ И ПОДСЧЁТА РЕДКИХ И ЗАНОСНЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ Пискарев Д. И. ¹ , Ломсков М. А. ¹	295
К ЛОКАЛЬНОЙ ФЛОРЕ "ПОРОЗОВО" ШАРКАНСКОГО РАЙОНА УДМУРТСКОЙ РЕСПУБЛИКИ Савинова А. М. ¹	296
СООБЩЕСТВО КЛЕНА АМЕРИКАНСКОГО КАК МЕСТООБИТАНИЕ ЖУКОВ ЖУЖЕЛИЦ (В УСЛОВИЯХ ГОРОДА КАЛУГИ) Алексанов В. В. ¹ , Самохина Л. Ю. ¹ , Хрипанцева Е. С. ¹	296
О ПРИМЕНИМОСТИ РЕГРЕССИОННОГО МЕТОДА ДЛЯ РАЗДЕЛЕНИЯ ДЫХАНИЯ ПОЧВЫ ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ НА КОМПОНЕНТЫ Сморгалов И.А. ¹	297

ВЛИЯНИЕ ПОСТОЯННОГО ОСВЕЩЕНИЯ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ ОСОБЕЙ <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> СО СВЕРХЭКСПРЕССИЕЙ ГЕНОВ-РЕГУЛЯТОРОВ ЦИРКАДНЫХ РИТМОВ В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ И КИШЕЧНИКЕ. Соловьёв И.А. ^{1,2} , Добровольская Е.В. ² , Москалев А.А. ^{1,2,3}	297
300-ЛЕТНЯЯ ИСТОРИЯ ПОЖАРОВ В СОСНОВЫХ ЛЕСАХ ПРЕДГОРНОГО УЧАСТКА ПЕЧОРО- ИЛЫЧСКОГО ЗАПОВЕДНИКА Спаи Т. П. ¹ , Бобровский М. В. ²	298
МОНИТОРИНГ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В СВЯЖСКОМ ЗАЛИВЕ КУЙБЫШЕВСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА Стукова А.В. ¹	299
КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ТКАНЕЙ КОРЫ И ДРЕВЕСИНЫ ОДНОЛЕТНЕГО СТЕБЛЯ <i>BETULA</i> <i>ERMANNII</i> ШАМ. В УСЛОВИЯХ ГАЗОГИДРОТЕРМАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ВУЛКАНОВ ОСТРОВА КУНАШИР (КУРИЛЬСКИЕ ОСТРОВА). Тальских А. И. ¹ , Копанина А. В. ¹ , Власова И. И. ¹	299
ИЗУЧЕНИЕ МИКРОБНОГО РАЗНООБРАЗИЯ В ПРОБЕ ПОЧВЫ ЗАПАДНО-КАЗАХСТАНСКИХ ОБЛАСТЕЙ Тастамбек К. Т. ¹ , Акимбеков Н. Ш. ² , Ерназарова А. К. ¹ , Жубанова А.А. ²	300
ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ NaCl И <i>BACILLUS SUBTILIS</i> НА РОСТ <i>CHLORELLA</i> <i>VULGARIS</i> Тимофеева З. М. ¹ , Курамшина З. М. ¹	301
ИССЛЕДОВАНИЕ ФОРМ НАХОЖДЕНИЯ ТЕХНОГЕННЫХ РАДИОНУКЛИДОВ В ВОДЕ МЕТОДОМ КАСКАДНОГО ФРАКЦИОНИРОВАНИЯ Торопов А.С. ¹	301
МХИ ПАМЯТНИКА ПРИРОДЫ "ПАРК УСАДЬБЫ ЯНОВСКИХ" (Г. КАЛУГА) Удовкина Л.С. ¹ , Сионова М.Н. ¹	302
БИОИНДИКАЦИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ РЕКИ ГАВАРАГЕТ ПО ФИТОПЛАНКТОНУ Хачикян Т. Г. ¹ , Степанян Л. Г. ¹	302
ЛОКАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РОСТА СЕРОГО МОРСКОГО ЕЖА (<i>STRONGYLOCENTROTUS</i> <i>INTERMEDIUS</i>) У СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО ПОБЕРЕЖЬЯ ЯПОНСКОГО МОРЯ Чалиенко М. О. ¹	303
ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ НОВОГО ШТАММА <i>BACILLUS SP.</i> FL X-5 С ВЫСОКОЙ ФЛОКУЛИРУЮЩЕЙ СПОСОБНОСТЬЮ ДЛЯ ОЧИСТКИ СТОЧНЫХ ВОД Чирикова М.С. ¹ , Петрова Г.М. ¹ , Алешкевич И.И. ¹ , Глушень Е.М. ¹	303
ВЛИЯНИЕ СНЕГОВОЙ ТАЛОЙ ВОДЫ НА РАЗВИТИЕ ПРОРОСТКОВ ОВСА ПОСЕВНОГО Шкабура П. В. ¹ , Колоколова Н.Н. ¹	304
ПРИМЕНЕНИЕ ИНКАПСУЛИРОВАННОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО КРАСИТЕЛЯ SNARF-1 ДЛЯ ИЗМЕРЕНИЯ PH КРОВИ И МЕЖКЛЕТОЧНОЙ ЖИДКОСТИ МЫШЦ РЫБ <i>DANIO RERIO</i> Шапова Е.П. ¹ , Борвинская Е.В. ^{1,2} , Гурков А.Н. ¹ , Бадурев Б.К. ¹ , Шатилина Ж.М. ¹ , Меглинский И.В. ^{1,3} , Тимофеев М.А. ¹	305

Научное издание

БИОЛОГИЯ – НАУКА XXI ВЕКА: 21-я Международная Пущинская школа-конференция молодых ученых (Пущино, 17 - 21 апреля 2017 г.).

Сборник тезисов.

Пущино, 2017.

В оформлении обложки использованы фотографии Уткиной Дарьи,
Никифоровой Анны, Цитриной Александры

ISBN 978-5-9908139-1-5

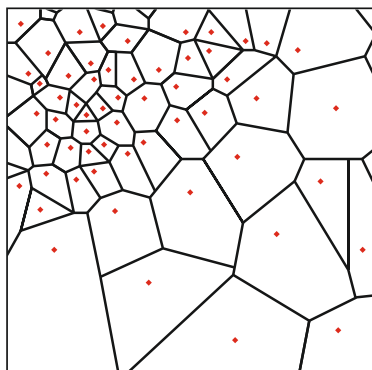


Skoltech

Skolkovo Institute of Science and Technology

BIOCAD

Biotechnology Company



sartorius

Хелснет

Национальная
технологическая
инициатива



ЦДКИ

Центр Доклинических Испытаний



группа компаний

MERCK



ДИА•М
современная лаборатория

www.dia-m.ru
заказ on-line