



БИОЛОГИЯ

Наука XXI века

15

Международная
Пущинская
школа-конференция
молодых ученых



СБОРНИК ТЕЗИСОВ

helicon

Т
Б·А

СИНТЕЗБЫТХИМ

РУСБИ
ЛИНК

OKA
biolab

Пущино
2011

Проведение школы-конференции осуществлено при поддержке
Российского фонда фундаментальных исследований

Мирошников Анатолий Иванович, председатель ПНЦ РАН, председатель оргкомитета,
председатель программного комитета конференции

Программно-научный комитет школы-конференции

Боронин Александр Михайлович, член-корр. РАН, директор ИБФМ РАН
Вайнштейн Михаил Борисович, д.б.н., зам директора ИБФМ РАН, ректор ПушГУ
Дагкесаманский Рустам Давудович, д.ф.-м.н., директор ПРАО АКЦ ФИАН
Иваницкий Генрих Романович, д.б.н., директор ИТЭБ РАН
Кудяров Валерий Николаевич, д.б.н., проф., директор ИФХиБПП РАН
Лахно Виктор Дмитриевич, д.ф.-м.н., директор ИМПБ РАН
Овчинников Лев Павлович, академик, директор ИБ РАН
Пермяков Евгений Анатольевич, д.б.н., проф., директор ИБП РАН
Фесенко Евгений Евгеньевич, член-корр. РАН, директор ИБК РАН
Шувалов Владимир Анатольевич, академик, директор ИФПБ РАН

Оргкомитет школы-конференции:

Хаустов Сергей Анатольевич, к.б.н., зам. председателя ПНЦ РАН, зам. председателя оргкомитета
Петрова Раушания Рашитовна, к.б.н., Администрация г. Пушкино, ИБК РАН, зам. председателя
оргкомитета
Назарова Галина Николаевна, к.б.н., зам. председателя ПНЦ РАН
Буданова Евгения Николаевна, к.б.н., ИБК РАН, секретарь
Мубаракшина Эльвира Кашифовна, к.б.н., ИБК РАН, секретарь
Дурденко Екатерина Владимировна, ИТЭБ РАН, ПНЦ РАН, секретарь
Знобищева Анна Владимировна, ИТЭБ РАН, секретарь
Запрудина Мария Вадимовна, Администрация г. Пушкино, редактор сборника конференции
Шапырина Екатерина Валерьевна, ИБФМ РАН, руководитель секции «Молекулярная биология»,
координатор пленарной секции
Похильченко Марина Александровна, к.б.н., ИБК РАН, руководитель секции «Общая и
функциональная биохимия»
Таланов Евгений Юрьевич, ИТЭБ РАН, помощник руководителя секции «Общая и
функциональная биохимия»
Гудков Сергей Владимирович, к.б.н., ИТЭБ РАН, руководитель секции «Физиология животных и
биомедицина»
Бобылёва Лия Гивиевна, к.б.н., ИТЭБ РАН, помощник руководителя секции «Физиология
животных и биомедицина»
Темралеева Анна Дисенгалиевна, ИФХиБПП РАН, руководитель секции «Теоретическая и
прикладная экология»
Кондратьев Максим Сергеевич, к.ф.-м.н., ИБК РАН, руководитель секции «Биофизика клетки,
органов и систем»
Овчинников Андрей Юрьевич, к.б.н., ИФХиБПП РАН, руководитель секции «Почвоведение и
биогеохимия»
Ковалицкая Юлия Андреевна, к.б.н., ФИБХ РАН, руководитель секции «Прикладная
биотехнология»
Лисов Александр Викторович, к.б.н., ИБФМ РАН, руководитель секции «Биология и экология
микроорганизмов»
Соболев Егор Васильевич, ИМПБ РАН, руководитель секции «Математические проблемы
биологии»
Антонова Ольга Юрьевна, ПушГУ, ИБК РАН, руководитель секции «Приборы и методы для
биологии, биотехнологии и медицины»
Киселев Сергей Сергеевич, ИБК РАН, руководитель секции «Социокультурная ниша биологии»
Леонова Мария Михайловна, ИФПБ РАН, руководитель секции «Фотобиология и физиология
растений»
Хохлова Татьяна Ивановна, ИБП РАН, координатор круглого стола СМУ
Белова Наталья Александровна, д.б.н., ИТЭБ РАН, ПНЦ РАН, координатор образовательных
программ
Попов Антон Леонидович, ПушГУ, ИТЭБ РАН, ПНЦ РАН, отдел информационной поддержки
Михайлов Алексей Владимирович, к.б.н., ИФХиБПП РАН, отдел информационной поддержки

**Пушкинский научный центр Российской академии наук
Администрация города Пушкино
Пушкинский государственный университет**



Пушкино, 2011

УДК 573.4; 574.6; 577.1; 577.2; 577.3; 577.4; 581.5; 591.1; 631.4

БИОЛОГИЯ – НАУКА XXI ВЕКА: 15-я Международная Пушинская школа-конференция молодых ученых (Пушино, 18 - 22 апреля 2011 года). Сборник тезисов.

Международная школа-конференция молодых ученых - ежегодное научное мероприятие, организуемое и проводимое Пушинским научным центром РАН, институтами ПНЦ, Пушинским государственным университетом на базе Пушинского научного центра Российской академии наук.

Целью школы-конференции является ознакомление молодых ученых с перспективами и новейшими достижениями в области физико-химической биологии.

Работа школы-конференции проводится в форме пленарных и секционных заседаний по следующим направлениям: молекулярная биология, общая и функциональная биохимия, биофизика и биомедицина, биология и экология микроорганизмов, почвоведение и биогеохимия, экология животных и растений, математическая биология, прикладная биотехнология.

Пленарные заседания включают в себя лекции ведущих российских ученых, охватывающие перспективные направления физико-химической биологии; молодые исследователи имеют возможность доложить результаты своей работы в форме устных сообщений и стендовых докладов в ходе секционных заседаний.

Помимо научных мероприятий в программу работы школы-конференции входят экскурсии по институтам ПНЦ РАН, выставки научного оборудования, круглые столы-диспуты по актуальным проблемам современной науки, культурная программа. В работе школы-конференции ежегодно принимают участие более 500 молодых исследователей из городов России, стран СНГ и дальнего зарубежья.

СЕКЦИЯ «Молекулярная биология»**ИССЛЕДОВАНИЕ НОВЫХ ГРАНИЦ В ВІТНОРАХ КОМПЛЕКСЕ У
DROSOPHILA MELANOGASTER НА НАЛИЧИЕ ЭНХАНСЕР-БЛОКИРУЮЩЕЙ
СПОСОБНОСТИ****Ивлиева Т.А., Кырчанова О.В., Георгиев П.Г.**

Учреждение Российской академии наук Институт биологии гена РАН, Москва (Россия)

E-mail: *ivlieva.tatiana@gmail.com*

Гены *bithorax* комплекса *Drosophila melanogaster*: *Ultrabithorax (Ubx)*, *abdominal-A (abd-A)* и *Abdominal-B (Abd-B)*, - отвечают за формирование третьего грудного и всех брюшных сегментов мухи. Эти гены регулируются тканеспецифичными энхансерами, расположенными в порядке следования сегментов, которые они контролируют. Энхансеры изолированы друг от друга специальными регуляторными элементами, названными границами. Для трех из них (*Mcp*, *Fab-7* и *Fab-8*) ранее было показано, что они содержат в своем составе инсуляторы. Инсулятор – это регуляторный элемент, который характеризуется способностью блокировать взаимодействие между энхансером и промотором в случае, если располагается между ними, а также защищать промотор гена от распространения репрессивного хроматина. Локализация и свойства остальных границ ранее изучены не были, но предполагается, что они устроены подобно известным *Mcp*, *Fab-7* и *Fab-8*.

Изучение инсулятора в составе *Fab-8* показало, что для проявления его энхансер-блокирующей функции необходим dCTCF, белковый фактор, гомологичный основному инсуляторному белку позвоночных. Сайты связывания dCTCF были также найдены на всех других границах ВХ-С, за исключением *Fab7*. Наличие dCTCF-сайтов в области границ регуляторных доменов позволило предположить существование новых инсуляторных элементов: *Fab-3*, *Fab-4* и *Fab-6*. В настоящей работе была исследована энхансер-блокирующая способность фрагментов границ *Fab-3*, *Fab-4* и *Fab-6*, содержащих сайты связывания dCTCF.

Показано, что несмотря на наличие сайтов связывания dCTCF, исследуемые фрагменты в трансгенной модельной системе на основе генов *yellow* и *white* инсуляторными свойствами не обладают. Кроме того, границы *Fab-4* и *Fab-6* в некоторых местах генома проявляют свойства сайленсеров.

МОДУЛЬНЫЕ ТОКСИНЫ ПАУКОВ**Василевский А.А., Гришин Е.В.**

Учреждение Российской академии наук Институт биоорганической химии им. акад. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Москва (Россия)

E-mail: *avas@ibch.ru*

Яды пауков – природные фармакопеи, состоящие из сотен биологически активных молекул, особое место среди которых занимают пептиды. Наиболее распространенными являются линейные цитолитические пептиды (ЦП), для которых характерно отсутствие остатков цистеина и формирование α -спиральной конформации при контакте с мембранами, а также цистеин-богатые нейротоксины (НТ), стабилизированные инвариантными дисульфидными связями и образующими в пространстве своеобразный цистиновый «узел».

В ходе недавних исследований нами в яде различных европейских и среднеазиатских пауков были обнаружены уникальные полипептидные токсины модульного строения. Модули представляют собой независимые структурные единицы, аналогичные доменам в белках, и соответствуют обычным ЦП и НТ. Комбинация модулей в составе этих токсинов может быть любой: ЦП+ЦП, ЦП+НТ, НТ+НТ. Предполагается, что эволюционно модульные токсины возникли из белков-предшественников сложного типа, созревающих с образованием двух зрелых пептидов, в результате мутации мотивов процессинга. Объединение двух структурных модулей в составе одной молекулы привело к появлению у новых токсинов интересных функциональных особенностей.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ, а также Министерства образования и науки РФ.

ВЛИЯНИЕ АМИНОКИСЛОТНЫХ ЗАМЕН В РАЙОНЕ FORK-LOOP 2 РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ *ESCHERICHIA COLI* НА УЗНАВАНИЕ РЕГУЛЯТОРНЫХ СИГНАЛОВ

Пупов Д.В., Кульбачинский А.В.

Учреждение Российской академии наук Институт молекулярной генетики РАН,
Москва (Россия)

E-mail: *danila@pupov.ru*

В процессе транскрипции РНК-полимеразы (РНКП) способна узнавать разные типы регуляторных последовательностей в составе ДНК-матрицы, в том числе, участки инициации и терминации транскрипции, а также сигналы транскрипционных пауз. Механизмы узнавания подобных сигналов РНКП во многом остаются неизвестными. В данной работе исследована роль района fork-loop 2 (FL2) РНКП *E. coli*, предположительно, контактирующего с нематричной цепью ДНК вблизи от активного центра фермента, в узнавании регуляторных последовательностей ДНК. Нами получены мутантные варианты РНКП *E. coli*, содержащие следующие аминокислотные замены в районе FL2: R451E, D446A, E546A или T539E.

Показано, что некоторые из этих замен снижают стабильность промоторных комплексов, что позволяет предположить, что район FL2 важен для взаимодействий РНКП с промоторами. Показано, что все мутантные РНКП способны эффективно синтезировать полноразмерные РНК и обладают сходными скоростями элонгации.

Для изучения роли района FL2 в образовании транскрипционных пауз была использована последовательность *his*-паузы (*hisP*), при транскрипции через которую формируется РНК-шпилька. Показано, что 3'-концевая часть сигнала *hisP*, следующая за последовательностью шпильки, играет важную роль в узнавании сигнала паузы.

Установлено, что замены в районе FL2 РНКП различным образом влияют на продолжительность паузы. Анализ влияния различных нуклеотидных замен в сигнале *hisP* на его узнавание РНКП с заменами в районе FL2 позволил предположить, что аминокислотный остаток D446 может участвовать в специфическом узнавании нуклеотида в -3 положении в нематричной цепи ДНК в последовательности *hisP*. Полученные данные подтверждают предположение о том, что район FL2 способен контактировать с нематричной цепью ДНК и участвовать в узнавании РНКП различных транскрипционных сигналов.

Работа поддержана Грантом Президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых (МД-618.2011.4).

МЕХАНИЗМЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ *ESCHERICHIA COLI* С ПРИРОДНЫМИ И СИНТЕТИЧЕСКИМИ ДНК-ЛИГАНДАМИ

Есюнина Д.М.^{1,2}, Пупов Д.В.¹, Кульбачинский А.В.¹

¹Учреждение Российской академии наук Институт молекулярной генетики РАН

²Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, биологический факультет, Москва (Россия)

E-mail: *es_dar@inbox.ru*

РНК-полимеразы (РНКП) – центральный фермент транскрипции у всех живых организмов, осуществляющий синтез РНК с использованием двунитевой ДНК в качестве матрицы. Однако, фермент способен взаимодействовать и с другими типами матриц, в том числе, с однонитевыми ДНК и РНК. Исследование взаимодействий РНКП с такими матрицами представляет большой интерес как для понимания тонких механизмов работы РНКП, так и для создания новых искусственных ингибиторов транскрипции. В данной работе проведен анализ ДНК-лигандов на основе оцДНК-аптамеров, отобранных к холоферменту РНКП *E. coli* с помощью метода SELEX.

Показано, что полученные оцДНК-лиганды связываются с РНКП с высокой аффинностью (Кд 1-5 нМ), которая сравнима с аффинностью РНКП к природным промоторам. Предполагаемая вторичная структура аптамеров представляет собой шпильку, содержащую в расплавленном состоянии область, соответствующую -10 элементу бактериального промотора. Данные оцДНК-лиганды напоминают по структуре расплавленный участок промоторов в процессе инициации транскрипции, а также структуру некоторых природных оцДНК, связывающихся с РНКП, например, ориджина репликации фага M13 (oriM13). Оказалось, что РНКП *E. coli* способна инициировать транскрипцию на аптамерных оцДНК-лигандах и использовать их в качестве транскрипционных матриц, причем эффективность связывания РНКП и транскрипции зависит от наличия в их составе промоторных элементов.

Установлено, что узнавание природных оцДНК-лигандов на основе oriM13 также усиливается при наличии в их составе -10-элемента промотора. Показано, что исследуемые оцДНК-лиганды могут ингибировать транскрипционную активность РНКП на природных двунитевых промоторах. Таким образом, оцДНК-лиганды способны специфически связываться с РНКП, служить транскрипционными матрицами, а также подавлять активность РНКП.

Работа поддержана ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы (госконтракт № 02.740.11.0771) и Грантом Президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых (МД-618.2011.4).

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО С-КОНЦЕВОГО ДОМЕНА АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИНА ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ МЕТОТРЕКСАТА

Яббаров Н.Г., Василенко Е.А., Позднякова Н.В.

Московский научно-исследовательский институт медицинской экологии,
Москва (Россия)

E-mail: marvint@rambler.ru

Целью данной работы явилось создание противоопухолевого препарата направленного действия на основе рекомбинантного С-концевого домена альфа-фетопротеина человека и метотрексата.

На основе экспрессионного конструкта С-концевого домена АФП нами был получен высокоэффективный штамм-продуцент. Выделение и очистка белка из телец включения проводилась с использованием металл-хелатной, ионообменной хроматографии и гель-фильтрации. Нами была разработана методика рефолдинга целевого белка. Эффективность рефолдинга составила 70%. Чистота полученного белка превышала 90%. Биологическую активность ФИТЦ-меченого белка, оценивали на клетках линии SKOV3 и лимфоцитах периферической крови методом проточной цитофлуориметрии. Цитотоксичность препаратов определялась с помощью МТТ-теста.

Показана высокая эффективность связывания и эндоцитоза полученного рекомбинантного С-концевого домена АФП в клетках аденокарциномы яичников. Эффективность связывания и эндоцитоз полученного белка в клетках аденокарциномы яичников значительно превышала таковую в лимфоцитах периферической крови. Для осуществления направленной доставки препарата метотрексата был синтезирован его ковалентный конъюгат с полученным нами векторным белком.

Определены значения IC50 для метотрексата и конъюгата С-концевого домена АФП человека с метотрексатом по отношению к клеткам аденокарциномы молочной железы человека линии MCF7 и лимфоцитам периферической крови человека. IC 50 для конъюгата С-концевого домена АФП человека с метотрексатом по отношению к клеткам линии MCF7 составляет 70нМ, для метотрексата 850нМ. IC 50 для конъюгата С-концевого домена АФП человека с метотрексатом по отношению к лимфоцитам не выявлено, для метотрексата 780нМ.

Результаты показали направленную только на опухолевые клетки MCF7 токсичность полученного нами конъюгата и отсутствие токсического действия на лимфоциты, в то время как препарат метотрексата проявляет лишь слабую избирательность в отношении раковых клеток и токсичен для лимфоцитов. Проведенные испытания подтверждают возможность

применения С-концевого домена АФП в качестве векторного компонента для создания препаратов направленного действия.

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ХРОМАТИН-ОРГАНИЗУЮЩИХ БЕЛКОВ В РАБОТЕ ИНСУЛЯТОРНОГО КОМПЛЕКСА

Шаповалов И.С., Головнин А.К.

Учреждение Российской академии наук Институт биологии гена РАН, Москва (Россия)

E-mail: igor.shapovalov.193.5@gmail.com

Инсуляторы - регуляторные элементы ДНК изолирующие ген от воздействий окружающего хроматина. Наиболее изученными у *Drosophila melanogaster* являются Su(Hw)- и dCTCF-зависимые инсуляторы. Одним из основных компонентов этих инсуляторов является белок CP190. Ранее в нашей лаборатории при поиске партнёров CP190 методом двугибридной дрожжевой системе был обнаружен ранее описанный белок Chromator (Chriz), имеющий «хромодомен» на N-конце. Chromator коиммунопреципитируется с белком Z4, участвующим в поддержании структуры бэндов политенных хромосом.

Целью работы являлось изучение роли хроматин-организующих белков Chromator и Z4 в процессе регуляции транскрипции и их участие в работе Su(Hw)-зависимых инсуляторов.

Методом двугибридной дрожжевой системы были определены участки белка Chromator, обеспечивающие взаимодействие с белком Z4 и с инсуляторными белками CP190 и Mod67.2, а также участки, необходимые для димеризации белка; была установлена роль отдельных доменов С-конца белка Chromator во взаимодействии с CP190. Определены домены белков CP190, Mod67.2 и Z4, необходимые для взаимодействия с белком Chromator. Участие белка Chromator в составе комплексов с инсуляторными белками Su(Hw), Mod67.2 и CP190 было подтверждено методом иммунопреципитации белков.

Иммуное окрашивание политенных хромосом показало, что белок Chromator практически полностью колокализуется с белком CP190, однако наблюдается лишь незначительное количество сайтов колокализации Chromator с сайтами Su(Hw)-зависимых инсуляторов, маркером которых является белок Mod67.2. Это говорит о том, что белок Chromator входит в состав различных комплексов, и участвует в работе ограниченного числа Su(Hw)-инсуляторов. Примерно в половине случаев на политенных хромосомах белок Chromator колокализуется с белком dCTCF – основным компонентом dCTCF-зависимых инсуляторов.

В настоящее время исследуется функциональная активность отдельных доменов белка Chromator *in vivo* в модельной системе с использованием трансгенных конструкций.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ БЕЛКОВ TOUTATIS И СТВР НА ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМАХ *DROSOPHILA MELANOGASTER* IN VIVO

Игнатьева М.А.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: ignatieva.mar@yandex.ru

Методами *in vitro* показано, что в клетках *Drosophila melanogaster* белок Toutatis совместно с ко-репрессором CtBP и хроматин-ремодулирующим фактором ISWI формирует стабильный комплекс – ToRC. ToRC является АТФ-зависимым хроматин-собирающим фактором, способным осуществлять сборку протяженных повторов нуклеосом в присутствии гистонового шаперона NAP1. Сборка нуклеосом возможна и с помощью отдельных компонентов комплекса (ISWI, ISWI + Toutatis), но для достижения полной ферментативной активности нужны все три субъединицы. Внимание к комплексу ToRC вызвано тем, что, АТФ-зависимые хроматин-собирающие факторы, к которым он относится, участвуют в таких фундаментальных процессах как дупликация хроматина после репликации ДНК, встраивание гистонов в ходе транскрипции, репарации и рекомбинации, а также в эпигенетической регуляции.

Для изучения взаимодействия белков Toutatis и CtBP *in vivo* был использован метод непрямой иммунофлюоресценции, позволяющий наблюдать распределение интересующих белков по хромосоме.

Была обнаружена обширная колокализация белков Toutatis и CtBP на политенных хромосомах личинок дикого типа *Drosophila melanogaster*. Таким образом, физическое взаимодействие Toutatis и CtBP доказывает образование этими белками комплекса ToRC in vivo, то есть свидетельствует об их функциональном взаимодействии.

Для определения последовательности образования комплекса ToRC были проведены иммуофлюоресцентные окрашивания политенных хромосом гипоморфных мутантов по одному и по другому гену. Оказалось, что у мутантов по гену CtBP связывание Toutatis с хромосомами отсутствует, а у мутантов по гену Toutatis количество сайтов связывания CtBP остается на уровне дикого типа. Из этого следует, что CtBP первым крепится к сайту активности комплекса ToRC и привлекает к себе Toutatis. Функция привлечения факторов сборки и ремоделирования хроматина для CtBP показана впервые.

Выводы: белки Toutatis и CtBP взаимодействуют in vivo, образуя комплекс ToRC; CtBP привлекает Toutatis к сайту активности комплекса ToRC.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ СРЕДЫ НА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА IGF2 В РАННИХ ЭМБРИОНАХ МЫШИ

Климов Е.А., Ростамзаде Д., Головатенко-Абрамов П.К., Платонов Е.С.

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова,
биологический факультет, Москва (Россия)

E-mail: klimov_eugeny@mail.ru

Геномный импринтинг – широко распространенное явление, в результате которого экспрессируется только один из аллелей того или иного гена. В частности, партеногенез у млекопитающих в норме невозможен благодаря этому явлению. Лocus Igf2/H19 является традиционной моделью для изучения феномена геномного импринтинга у млекопитающих. Однако технически исследование экспрессии генов Igf2 и H19 в доимплантационных эмбрионах мыши связано с необходимостью работы *in vitro*. При этом вопрос о влиянии культуральной среды на активность транскрипции генов ранее не поднимался.

Целью данной работы было сравнить уровень экспрессии гена Igf2 в нормальных бластоцистах мыши, развившихся в условиях *in utero* (n=4) в среде Виттена. Анализ экспрессии проводили методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени.

Результат сравнения величин пороговых циклов достоверно (P<0.01) показал, что культивирование бластоцист Igf2, по сравнению с развитием нормальных эмбрионов

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОВ (Lr19, Lr24) УСТОЙЧИВОСТИ К БУРОЙ И СТЕБЛЕВОЙ (Sr24, Sr25) РЖАВЧИНЕ В СОРТАХ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ЮГА

Галаев А.В., Сиволап Ю.М.

Южный биотехнологический центр в растениеводстве, Одесса (Украина)

E-mail: galaev7@rambler.ru

Селекция и культивирование устойчивых сортов пшеницы является эффективным способом борьбы с бурой и стеблевой ржавчиной. Использование молекулярных маркеров облегчает процесс включения и контроля основных генов устойчивости в новых сортах.

Ген устойчивости к листовой ржавчине Lr19, сцепленный с геном устойчивости к стеблевой ржавчине Sr25, транслоцирован в длинное плечо хромосомы 7D и 7A пшеницы. Lr24, сцепленный с Sr24, транслоцирован в длинное плечо хромосомы 3D пшеницы. Все указанные гены являются чужеродными для *Triticum aestivum* и интрогрессированы в геном пшеницы от *Agropyron elongatum*. Sr25 эффективен против новой африканской расы Ug99. Целью работы является выявление транслокаций *A. elongatum*, содержащих гены устойчивости Lr19/Sr25 и Lr24/Sr24, в сортах пшеницы юга Украины.

В качестве контроля использовали сорта-носители генов Lr19/Sr25 Agatha и Lr24/Sr24 Agent. Сорта Agatha и Agent независимо от года выращивания и расы патогена проявляют высокую устойчивость к листовой ржавчине. К растениям несущим гены Sr24 и Sr25 отдельные расы патогена проявляют вирулентность. Объектом исследования служили 83 сорта мягкой

пшеницы юга Украины. Для тестирования сортов мягкой пшеницы были использованы маркеры к генам Lr19/Sr25 – Gb, *Xwmc221* и Lr24/Sr24 – J9.

Транслокации *A. elongatum*, содержащие гены устойчивости Lr19/Sr25 и Lr24/Sr24, не обнаружены в исследуемых сортах с использованием маркеров *Xwmc221* и J9. Показано неспецифичность маркера Gb для детекции генов Lr19/Sr25. Неиспользование в селекционных программах зародышевой плазмы, содержащей гены Lr19/Sr25 и Lr24/Sr24, можно объяснить сцеплением генов устойчивости с нежелательными генами. Так гены Lr19/Sr25 сцеплены с геном Y, который увеличивает желтый пигмент в эндосперме.

Таким образом, с помощью молекулярных маркеров показано отсутствие генов устойчивости Lr19/Sr25 и Lr24/Sr24 в сортах юга Украины.

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ALU- ИНСЕРЦИИ СОПРЯЖЕННОЙ С ГЕНОМ DSCAM НА СТЕПЕНЬ ТЯЖЕСТИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ УМСТВЕННОЙ ОТСТАЛОСТИ

Тахирова З.Р., Исламгулов Д.В., Хуснутдинова Э.К.

Башкирский государственный университет; Учреждение Российской академии наук
Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Уфа (Россия)

E-mail: tahirovazalina@mail.ru

Предполагается, что аллельные варианты генов умственной отсталости (УО), влияющие на интеллектуальное развитие, могут объяснить клиническую гетерогенность в семьях с данным расстройством. Известно, что инсерции *Alu*-элементов в геноме человека вносят некоторый дисбаланс в сопряженные области и являются причиной приблизительно 0,3% всех генетических заболеваний человека. Поэтому, изучение роли таких генных модификаторов, как *Alu*-инсерции в генах УО, помогло бы предсказать тяжесть и исход заболевания. Одним из кандидатных генов УО является DSCAM (Down syndrome cell adhesion molecule) – локализованный на длинном плече хромосомы 21 (21q22.2), патогмоничной для синдрома Дауна.

Для изучения влияния *Alu*-инсерции гена DSCAM на тяжесть развития неспецифической УО был проведен анализ распределения частот генотипов и аллелей Yb8 106 у 205 мальчиков с неспецифической УО в возрасте от 3 до 18 лет с исключенными хромосомными абберациями и частыми мутациями в генах FMR1 и FMR2.

В ходе проведенной работы выявлены статистически значимые различия в распределении часто аллелей данного полиморфного ДНК – локуса в зависимости от степени выраженности умственной отсталости: между больными с легкой и тяжелой степенью УО. Частота аллеля *I была выше у больных с тяжелой УО, чем у пациентов с легкими формами УО и составила 42,96% и 27,38%, соответственно ($\chi^2 = 5,48$, $p = 0,026$). При попарном сравнении частот генотипов гомозиготный генотип *I/*I чаще выявлялся у больных с тяжелой УО (23,94%), нежели среди лиц с легкой УО (9,52%).

Данные проведенного исследования свидетельствуют о возможном влиянии *Alu*-инсерции, сопряженной с геном DSCAM, на степень тяжести развития неспецифической УО у мальчиков.

ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ АНТИСМЫСЛОВЫЕ РНК В ГЕНОМАХ *BACILLUS SUBTILIS* И *CORYNEBACTERIUM GLUTAMICUM*

Киселев С.С., Озолин О.Н.

Институт биофизики клетки РАН, Пущино (Россия)

E-mail: anthyllium@gmail.com

Несмотря на то, что антисмысловые РНК (аРНК) играют важную роль в регуляции генной экспрессии у эукариот, степень их распространенности у бактерий до сих пор остается невыясненной, а имеющиеся оценки противоречивы. В значительной степени это обусловлено сложностью картирования соответствующих генов, т.к. аРНК не имеют явно выраженных структурных особенностей, а места их синтеза могут перекрываться с генами, кодирующими белки и нетранслируемые РНК. Поэтому наиболее надежными маркерами антисмыслового

синтеза в настоящее время принято считать сигналы транскрипции – промоторы и терминаторы.

В настоящей работе осуществлен компьютерный поиск промоторов для антисмысловой транскрипции в геномах *Bacillus subtilis* (NC_000964) и *Corynebacterium glutamicum* (NC_003450).

Для сканирования геномов был использован алгоритм PlatProm, весовые матрицы которого были адаптированы к распознаванию промоторов *B.subtilis* (PlatPromB) и *C.glutamicum* (PlatPromC). Нуклеотидные последовательности геномов и соответствующие генные карты были получены из NCBI GenBank. Для построения весовых матриц использовали координаты экспериментально картированных промоторов *B.subtilis* (базы данных VsubCys и DBTBS) и *C.glutamicum* (оригинальные статьи). Для корректного сопоставления результатов сканирования, обеспечивающего селекцию статистически равнозначимых сигналов в разных геномах был разработан новый метод определения пороговых значений показателей промотор-подобия (скоров). Значимыми считали скоры, превышающие фоновое значение на 4 стандартных отклонения ($p < 0.00004$).

Наряду с ожидаемыми промоторами, расположенными перед генами, в обоих геномах были найдены потенциальные точки инициации синтеза аРНК. Их доля относительно общего числа предсказанных точек старта составила 20,9% (*B.subtilis*) и 18,2% (*C.glutamicum*), причем часть из них находится внутри «промоторных островков». Так как в геноме *E.coli* обнаружен практически такой же процент антисмысловых промоторов (19,3%), полученные данные свидетельствуют о том, что экспрессия ~40% бактериальных генов может регулироваться аРНК.

Работа поддержана грантом РФФИ №10-04-01218.

ВНУТРИКЛЕТОЧНАЯ ЛОКАЛИЗАЦИЯ, ПОИСК БЕЛКОВ-ПАРТНЕРОВ И ЭКСПРЕССИЯ SelV В ПРОЦЕССЕ СПЕРМАТОГЕНЕЗА И ОНТОГЕНЕЗА КРЫСЫ

Варламова Е.Г.

Институт биофизики клетки РАН, Пущино (Россия)

E-mail: 1928lv@mail.ru

Селеновый белок V является одним из 25 известных к настоящему времени селеновых белков млекопитающих. Известно, что локализуется он исключительно в семенниках и состоит из двух доменов.

В данной работе для выяснения локализации исследуемого белка в клетках млекопитающих открытая рамка гена мышиноного SelV и последовательности двух его доменов клонировали в составе вектора pEGFP-N2, полученные конструкции экспрессировали в клетках млекопитающих линии COS-7. Для определения митохондриальной локализации SelV, трансфецированные клетки инкубировали с красителем, селективно проникающим в митохондрии. С помощью конфокальной микроскопии было показано, что данный белок является цитоплазматическим и не локализуется в митохондриях.

Для выяснения функций SelV осуществлен поиск белков-партнеров мышиноного SelV, которые могут взаимодействовать с ним по каталитическому механизму. Методом аффинной хроматографии в тандеме с масс-спектрометрией показано, что потенциальными партнерами SelV могут являться O-ацетилглюкозаминтрансфераза (OGT), взаимодействующая с ним посредством N-концевого тетратрикопептидного домена и белок Asb-17, относящийся к семейству ASB (семейство белков, содержащих анкириновые повторы и SOCS-домен-супрессор сигнализации цитокинов). Однако методом коиммунопреципитации на аффинном матриксе подтверждена лишь специфичность взаимодействия SelV и OGT.

Для определения экспрессии SelV на ключевых этапах сперматогенеза и онтогенеза были получены образцы тотальной РНК, выделенной из семенников крысы в возрасте 7, 14, 18, 23, 25, 31, 36 дней и 2, 4, 15 месяцев, проведена реакция обратной транскрипции. Полученная кДНК использовалась в качестве матрицы при проведении ПЦР с использованием ген-специфичных праймеров. Результаты показали, что SelV экспрессируется на поздних этапах

сперматогенеза (31 и 36 дни), в период полового созревания (2, 4 месяца) и в продолжении репродуктивного периода (15 месяцев).

СВОЙСТВА МУТАНТНЫХ ВАРИАНТОВ БЕЛКОВ FUS И TDP-43

Шелковникова Т.А., Хританкова И.В., Нинкина Н.Н., Бухман В.Л., Бачурин С.О.

Институт физиологически активных веществ РАН, Черноголовка (Россия)

E-mail: sta.ipac@gmail.com

Нарушениям метаболизма и функции белков, обладающих повышенной склонностью к агрегации, отводится важная роль в патогенезе многих нейродегенеративных заболеваний (НДЗ). Приобретение подобными белками aberrантной конформации с последующей агрегацией и формированием гистопатологических белковых включений в нервной системе считается ключевым звеном патогенеза многих НДЗ.

Боковой амиотрофический склероз (БАС) – тяжелое смертельное НДЗ, связанное с селективным поражением мотонейронов. Недавно внимание исследователей БАС было привлечено к ДНК/РНК-связывающим белкам FUS и TDP-43. За последние два года было идентифицировано более 30 БАС-ассоциированных мутаций в каждом из генов, кодирующих эти белки, также эти белки были обнаружены в составе гистопатологических включений в нервной системе пациентов с БАС. Тем не менее, свойства мутантных вариантов этих белков изучены недостаточно.

Мы создали генетические конструкции для экспрессии мутантных вариантов FUS и нормального белка, двух его укороченных форм, а также С-концевого фрагмента белка TDP-43, и получили клеточные линии на основе линии нейробластомы человека, продуцирующие эти варианты белков. В случае FUS было обнаружено, что мутации R524T и R518K не нарушают его нормальную ядерную локализацию, агрегационные способности этих мутантных форм не отличаются от таковых нормального белка, тогда как мутации R522G и P525L, а также полное удаление 13 аминокислот на С-конце молекулы или удаление протяженного С-концевого участка приводят к делокализации белка и образованию агрегатов в цитоплазме.

Было также установлено, что С-концевые фрагменты TDP-43, которые преобладают в составе гистопатологических включений у пациентов с БАС, обладают повышенными агрегационными свойствами и способны образовывать неубиквитинированные агрегаты неамилоидного типа. Также была выявлена корреляция между изменением локализации и агрегационных свойств мутантных вариантов белка FUS и клиническим течением заболевания у пациентов - носителей этих мутаций.

Таким образом, предложенные клеточные модели могут стать полезным инструментом как для дальнейшего изучения свойств этих белков, так и для отбора потенциальных терапевтических средств для лечения некоторых форм БАС.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЦР-ПДРФ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ХОЗЯЙСТВЕННО-ЦЕННЫХ ПРИЗНАКОВ СВИНЕЙ

Бояринцева И.С., Климов Е.А.

Учреждение Российской академии наук Институт общей генетики им. Н.И.Вавилова

РАН; Филиал экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий

ВНИТИБП РАСХН, Москва (Россия)

E-mail: iboyarintseva@mail.ru

В 90-х годах XX века был описан ПЦР-ПДРФ полиморфизм генов свиней, ассоциированных с хозяйственно-ценными признаками. Однако до настоящего времени не была выявлена молекулярная природа полиморфизма ДНК некоторых генов. Целью данной работы было определение нуклеотидных замен, лежащих в основе ПЦР-ПДРФ полиморфизма генов влияющих на плодовитость (*ESR*, *PRLR*) и качество мяса (*H-FABP*, *MYF4*, *MYF5*).

В гене рецептора эстрогена (*ESR*) нами выявлена двойная замена (AcT на GctG) положительно влияющая на воспроизводительную функцию (многоплодие). В гене рецептора

пролактина (*PRLR*) найдена хозяйственно-вредная замена (С на Т). Несущие С аллель свиноматки превосходят имеющих Т аллель по общему числу поросят и числу живых поросят на опорос, а также характеризуются более высокой молочностью. Обнаруженная нами делеция (Т/delТ) в 5'-нетранслируемой области гена *H-FABP* оказывает влияние на содержание в мясе внутримышечного жира, а также на толщину шпика, площадь «мышечного глазка», прирост живой массы. Также нами исследовались гены *MYF4* и *MYF5*, контролирующие закладку и рост мышечных волокон. Для гена *MYF4* была определена одна хозяйственно-ценная замена (А на G), для гена *MYF5* одна хозяйственно-ценная (в первом экзоне двойная замена СА на ТС), и две хозяйственно-вредных (во втором экзоне А на G и в первом интроне G на С).

Таким образом, нами вскрыта природа ПЦР-ПДРФ полиморфизма генов свиней, ассоциированных с хозяйственно-ценными признаками. Полученные нами данные позволят приступить к созданию современных молекулярно-генетических тест-систем.

ВЛИЯНИЕ СВЕРХЭКСПРЕССИИ *pfrI*-ГЕНА НА ПРОДУКЦИЮ ПИОВЕРДИНА

Кулешова Ю.М., Феклистова И.Н.

Белорусский государственный университет, Минск (Беларусь)

E-mail: *Yuliakuleshova@yahoo.co.uk*

Пиовердины являются сидерофорами бактерий рода *Pseudomonas*, проявляющими одновременно антимикробную и антиоксидантную активность. Синтез пиовердина осуществляется нерибосомно, посредством комплекса энзимов, кодируемых более чем 20 генами. Транскрипция данных генов у *P. putida* позитивно контролируется ECF σ^{70} -фактором PfrI. С целью усиления синтеза пиовердина произведено клонирование *pfrI*-гена в составе мультикопийной плазмиды pAUC31 и перенос последней в клетки бактерий *P. putida*. С помощью qRT PCR установлено, что *pfrI*-ген в составе pAUC31*pfrI* способен транскрибироваться, и уровень его экспрессии превышает таковой для бактерий исходных бесплазмидных штаммов в 42,7 раза.

Сравнительный анализ уровня продукции пиовердина (УПП) показал, что штаммы, содержавшие конструкцию pAUC31*pfrI*, характеризовались более высоким (до 35,3%) показателем УПП. Вместе с тем, увеличение уровня продукции пиовердина оказалось значительно ниже, чем увеличение интенсивности экспрессии гена *pfrI*. Данный феномен может быть вызван нескоординированностью увеличения количества интермедиатов пептидной части пигмента, синтез которых находится под прямым контролем PfrI σ -фактора у *P. putida*, и предшественников хромофора молекулы (транскрипция генов происходит без участия PfrI). Также следует отметить, что в процессе клонирования регуляторные области *pfrI*-гена изменены не были, и его активность может негативно регулироваться, по меньшей мере, на 3-х уровнях.

Таким образом, клонирование *pfrI*-гена в составе pAUC31 и внесение полученной конструкции в бактерии *P. putida* позволяет усилить экспрессию данного гена в 42,7 раза, что приводит к увеличению уровня продукции пиовердина до 35%.

ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИДОКСИНА С КАТАЛИТИЧЕСКОЙ ТРИАДОЙ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ

Аюпов Р.Х., Акберова Н.И., Тарасов Д.С.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань (Россия)

E-mail: *aurusta@mail.ru*

Цель исследования: Изучение влияния ингибиторов на ацетилхолинэстеразу (АХЭ) для выяснения механизма ингибирования.

Для разработки ингибиторов АХЭ различной специфичности, что особенно важно для терапии многих заболеваний, необходимо выяснить изменения конформационной динамики ингибитора и изучить образование промежуточных стадий в комплексе ингибитор-фермент. По предварительным данным в опытах *in vivo* на мышях синтезированные в институте им. Бултерова производные пиридоксина ингибируют АХЭ. Был произведен докинг 17 ферментов

со всеми ингибиторами. Для этого использовали программу AutoDock. В результате было показано, что энергия связывания фермент-ингибитор колеблется от 6 до 10 ккал/моль. Эти результаты свидетельствуют о специфичности взаимодействия исследуемых ингибиторов с разными ацетилхолинэстеразами.

Предполагается, что ингибирование АХЭ происходит через ковалентное взаимодействие гидроксильной группы аминокислотного остатка Ser203 каталитической триады с электрофильным центром производных пиридоксина. Для подтверждения этого проведено моделирование, взаимодействия производных пиридоксина с каталитической триадой при их сближении через каждые $\sim 0,2\text{\AA}$. Расчет энергии промежуточных стадий проводился в программе PC GAMESS методом AM1.

Вывод: Результаты докинга свидетельствуют о специфичном взаимодействии производных пиридоксина с АХЭ мыши и человека, что связано с особенностями их строения. Проведенное моделирование показало, что энергетический процесс выгоден, разница в энергиях конечной и первоначальной структур составляет 6,19 ккал/моль, энергетический барьер реакции: 79,99 ккал/моль. Этот барьер слишком велик для того чтобы реакция осуществилась. Результат был ожидаемым, так как вклад в энергию вносит не только каталитическая триада, но и другие части активного центра. В дальнейших расчетах они будут учтены.

ВОЗМОЖНОСТЬ ЭФФЕКТИВНОГО КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ И ОЧИСТКИ РЕКОМБИНАНТНЫХ АЛЬФАВИРУСОВ ДЛЯ ПОСЛЕДУЮЩЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ГЕН

Хуторной В.В., Заякина А.В., Козловская Т.М.

Латвийский центр биомедицинских исследований, Латвийский университет,
Рига (Латвия)

E-mail: vhutornojs@gmail.com

Рекомбинантные альфавирусные частицы, в особенности созданные на базе генома вируса Семлики (*recombinant Semliki Forest Virus, rSFV*), могут быть использованы в качестве эффективного инструмента для доставки генов в области генной терапии.

Предположительно, для обеспечения необходимого уровня экспрессии рекомбинантных протеинов *in vivo* вирусный препарат должен иметь титр $1 \cdot 10^8 - 1 \cdot 10^{10}$ вирусных частиц/мл.

Целью нашего исследования являлось создание надёжной, дешёвой и сравнительно быстровыполнимой процедуры концентрирования и очистки rSFV без потери биологической активности вируса перед его использованием *in vivo*.

Рекомбинантная, синтезированная *in vitro*, *pSFVI/EGFP* РНК, несущая клонированный ген флуоресцентного протеина *EGFP (Enhanced Green Fluorescent Protein)* вместе со вспомогательной РНК (*Helper RNA*) были коэлектрпорированы в клетки *BHK-21 (Baby hamster kidney cells)*.

После 72ч инкубации ($+37^\circ\text{C}$ в атмосфере 5% CO_2) среда, содержащая рекомбинантные вирусные частицы, была собрана, и рекомбинантные *pSFVI/EGFP RNA* вирусные частицы были подвергнуты концентрированию в сахарозном ступенчатом градиенте плотности (20%; 50% сахароза, 1,5ч при 160.000g). Далее, сконцентрированные частицы были фракционированы и очищены от сахарозы в течение 22-часового диализа против TNE буфера. На каждой из стадий процедуры очистки и концентрирования осуществлялся отбор аликвот рекомбинантного вируса. Рекомбинантная РНК, содержащаяся в аликвотах, была использована в качестве матрицы для обратной транскрипции при получении кДНК. Используя соответствующую кДНК, методом *real time ПЦР* (основанном на применении флуоресцирующего красителя SybrGreen) был определён титр *pSFVI/EGFP RNA* вируса. Чтобы подтвердить инфекционность *pSFVI/EGFP RNA* вирусных частиц, подвергшихся концентрированию и очистке, очищенными рекомбинантными частицами инфицировали BHK-21 с последующим анализом *EGFP* флуоресцентной микроскопии. Было установлено, что рекомбинантные *pSFVI/EGFP RNA* альфавирусные частицы удалось сконцентрировать по крайней мере на два порядка ($3 \cdot 10^6$ вирусных частиц/мл в неконцентрированном препарате против $4 \cdot 10^8$ частиц/мл после диализа).

Таким образом, используя такой простой подход, нам удалось разработать методически высокоэффективную процедуру подготовки препарата рекомбинантного альфавируса для использования *in vivo*.

Нами рассматривается также возможность исследования применения сконцентрированного и очищенного данным методом вируса в качестве основы потенциальной вакцины.

Данная работа была выполнена при финансовой поддержке гранта Европейского Социального Фонда 2009/0204/1DP/1.1.1.2.0/09/APIA/VIAA/150.

ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ И РИЗОБИЙ НА СТАДИИ РАЗВИТИЯ СИМБИОТИЧЕСКИХ ОРГАНЕЛЛ

Рычагова Т.С., Борисов А.Ю., Санхуан Х., Тихонович И.А.

Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии РАСХН, Пушкин, Санкт-Петербург (Россия)

Экспериментальная станция Дель Заидин, ИНИС, Гранада (Испания)

E-mail: rytotia@gmail.com

Развитие бобово-ризобиального симбиоза (БРС) между бобовыми растениями и клубеньковыми бактериями возможно благодаря комплексным взаимодействиям между симбионтами на всех этапах, в частности на поздних стадиях дифференцировки бактерий в специализированную симбиотическую форму, бактериоиды. До сих пор остаются неизвестными механизмы взаимодействия растения и бактерий на данном этапе, а также роль обоих симбиотических партнеров в регуляции развития симбиотических структур. Предполагают, что основная регуляционная роль принадлежит растению-хозяину, которое направляет дифференцировку бактерий в бактериоиды.

В работе проводилась идентификация генов клубеньковых бактерий (*Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*), экспрессия которых контролируется за счет функциональной активности симбиотического гена гороха (*Pisum sativum* L.) PsSym31, необходимого для нормального развития и функционирования бактериоидов на поздних этапах симбиоза.

В результате анализа дифференциальной экспрессии группы генов ризобий были обнаружены отличия экспрессии при взаимодействии с линией гороха «дикого типа» Sprint-2 и мутантной линией гороха Sprint-2 Fix- (Pssym31). На основе полученных данных были выбраны гены-кандидаты ризобий, продукты которых, вероятно, участвуют в регуляции и поддержании взаимодействий между симбиотическими партнерами на стадии дифференцировки бактериоидов: RL1877, pRL90308, *dkxA*, *prkA*, предположительно кодирующие сериновую периплазматическую протеазу, негативный и положительный регуляторы транскрипции и сериновую протеинкиназу, соответственно. Для определения значимости генов для БРС и участия во взаимодействии с растением гены-кандидаты ризобий были охарактеризованы при помощи сайт-специфического мутагеза, сверхэкспрессии и анализа экспрессии в различных гистологических зонах клубенька.

Результаты работы послужат базой для дальнейших исследований механизмов интеграции симбиотических партнеров на поздних этапах бобово-ризобиального симбиоза.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки (Государственные контракты № 02.740.11.0276, 16.512.11.2155 и П1304), грантов Президента РФ для поддержки ведущих научных школ (НШ-3440.2010.4), РФФИ (09-04-91293-ИНИС_а, 10-04-00961-а, 10-04-01146-а).

RECOMBINANT ALPHAVIRUSES COULD BE EFFICIENTLY CONCENTRATED AND PURIFIED FOR USE IN GENE THERAPY

Hutornojs V., Zajakina A., Kozlovska T.

Latvian Study and Research Centre, University of Latvia, Riga (Latvia)

E-mail: vhutornojs@gmail.com

Alphaviral replicons, especially based on recombinant Semliki Forest Virus (rSFV) genome, can be highly efficient as a powerful tool for a therapeutic gene delivery.

It has been hypothesized, that to obtain the necessary degree of concentration for dependable in vivo expression of recombinant proteins the viral preparation must have titre which corresponds to $1 \cdot 10^8$ - $1 \cdot 10^{10}$ viral particles/ml.

The main purpose of this study was to establish reliable, cheap and relatively fast procedure for concentration and purification of the rSFV to high titres without losing its biological activity before in vivo usage.

Recombinant pSFV1/EGFP RNA, comprising cloned Enhanced Green Fluorescent Protein (EGFP) gene, together with helper RNA, retaining SFV structural proteins, were co-electroporated into Baby hamster kidney cells (BHK-21) to induce intracellular rSFV RNA synthesis and recombinant pSFV1/EGFP RNA virus formation. After 72h incubation at $+37^\circ\text{C}$ in 5% CO_2 atmosphere recombinant pSFV1/EGFP RNA virus particles were collected and further concentrated by sucrose (20%; 50% sucrose) density step gradient ultracentrifugation (1,5h x 160.000g), fractionated and clarified from sucrose traces during 22h dialysis against TNE buffer. On all stages of concentration and purification procedure aliquots of recombinant virus were taken, then rSFV RNA templates from aliquots were extracted, reversely transcribed to cDNA, and the titres of pSFV1/EGFP virus were determined in quantitative SybrGreen based real time PCR (RT-PCR). In addition, the infectivity of pSFV1/EGFP RNA virus after each treatment step was confirmed by infecting BHK-21 with EGFP fluorescence microscopy inspection after it. Consequently recombinant alphavirus was concentrated for at least two orders – from $3 \cdot 10^6$ viral particles/ml of unconcentrated virus to $4 \cdot 10^8$ particles/ml after dialysis.

Using such a simple approach, we have developed a highly efficient method for recombinant alphavirus preparation for in vivo exploitation. Administration of concentrated and purified this way rSFV viruses as vaccine candidates also is planned to be elucidated in future.

This work has been supported by the European Social Fund grant 2009/0204/1DP/1.1.1.2.0/09/APIA/VIAA/150.

ПОЛУЧЕНИЕ, АФФИННАЯ ОЧИСТКА И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗЫ 6 (GPx6) МЫШИ

Соловьев Е.А., Варламова Е.Г.

Институт биофизики клетки РАН, Пущино (Россия)

E-mail: uarufish@mail.ru

В настоящее время известно, что селенопротеом млекопитающих представлен 25 белками, исключение составляют мышинный и крысиный селенопротеомы, в которых глутатионпероксидаза 6 является цистеиновым гомологом человеческой селеноцистеиновой GPx6.

Ранее было показано, что глутатионпероксидаза 6 преимущественно локализуется в обонятельном эпителии, поэтому для получения рекомбинантного белка тотальная РНК была выделена именно из этого органа. После проведения реакции обратной транскрипции полученную кДНК использовали в качестве матрицы при амплификации открытой рамки считывания гена GPx6 с помощью ген-специфичных праймеров, несущих сайты рестрикции.

Для выделения и аффинной очистки исследуемого белка субклонировали открытую рамку считывания гена GPx6, не содержащую терминирующего кодона, в составе вектора pET23b (Novagen) по сайтам рестрикции EcoRI и XhoI. Полученной конструкцией трансформировали клетки E. coli, Rosetta (DE3) (Novagen). При анализе экспрессии гена глутатион пероксидазы 6 нами было показано, что данный белок формирует тельца включения. Поэтому для получения GPx6 в растворимом виде мы использовали мощный денатурирующий агент (8 М мочевины), затем, белок был очищен на колонке с помощью аффинной хроматографии с Ni-NTA агарозой.

Для определения внутриклеточной локализации GPx6, субклонировали открытую рамку считывания его гена, не содержащую стоп-кодона в вектор pEGFP-N2 (Clontech) по сайтам рестрикции EcoRI и ApaI. Полученную конструкцию экспрессировали в клетках млекопитающих линии COS-7. В результате был получен рекомбинантный белок, несущий на C-конце зеленый флуоресцентный белок (GFP). Дополнительно, для установления митохондриальной локализации GPx6, клетки, содержащие рекомбинантный белок,

инкубировали с красителем митохондрий MitoTracker Deep Red 633 (Molecular Probe, USA). Локализацию GRx6 внутри клетки определяли с помощью конфокальной микроскопии, по результатам которой заключили, что исследуемый белок является цитоплазматическим и не локализуется в митохондриях.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧИСЛЕННОСТИ ПОЧВЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ НА РАДИОАКТИВНО ЗАГРЯЗНЕННЫХ ТЕРРИТОРИЯХ

Павлова Н.Н., Казаченко М.В., Кулиш Ю.В.

Обнинский институт атомной энергетики Национального исследовательского ядерного университета «МИФИ», Обнинск (Россия)

E-mail: mm_pavlov@rn-inform.ru

Один из простых в исполнении и информативных способов оценки загрязненных почв – это учет численности микроорганизмов методом посева на твердые питательные среды, который отражает микробиологическую активность почвы, скорость разложения органических веществ и круговорота минеральных элементов. В последнее время, этот метод все чаще применяется для оценки радиоактивного загрязнения почв. Важным показателем биологического состояния почвы служит численность бактерий рода *Azotobacter*. Они учитываются методом комочков обрастания.

Целью работы являлся учет численности почвенных микроорганизмов в районе размещения старого хранилища радиоактивных отходов (РАО) г. Обнинска и на территории заповедника «Калужские засеки», загрязненной в результате аварии на Чернобыльской АЭС (ЧАЭС).

Объектами исследования служили 16 образцов почв, отобранных на территории старого хранилища радиоактивных отходов и вокруг него, а также 9 почвенных образцов, привезенных из заповедника «Калужской области». Определение численности почвенных микроорганизмов проводили методом подсчета КОЕ (колониеобразующих единиц) и методом комочков обрастания. Результаты определения численности микроорганизмов методом комочков обрастания показали, что в 35% точек пробоотбора в районе хранилища РАО бактерий рода *Azotobacter* не обнаружено. В 32% точек пробоотбора количество бактерий рода *Azotobacter* на 37% ниже, чем в контроле. Результаты расчета КОЕ в почвенных образцах, отобранных на территории хранилища РАО, выявили, что в 90% точек пробоотбора КОЕ на 80% ниже, чем в контроле. Расчет КОЕ в почвенных образцах, отобранных на территории заповедника «Калужские засеки» показал, что лишь в 25% точек пробоотбора КОЕ на 80% ниже, чем в контроле, в остальных точках пробоотбора – на 50%.

БИОДИАГНОСТИКА ПОЧВ В РАЙОНЕ РАЗМЕЩЕНИЯ РАДИОАКТИВНО ОПАСНЫХ ОТХОДОВ

Павлова Н.Н., Дмитриева Н.В., Кулиш Ю.Д.

Обнинский институт атомной энергетики Национального исследовательского ядерного университета «МИФИ», Обнинск (Россия)

E-mail: nadpavl@yandex.ru

При биологической диагностике почв важное значение имеет такой показатель, как ферментативная активность. Анализируя влияние ионизирующего излучения на ферменты, прежде всего, отмечают изменение их каталитической активности, субстратной специфичности, чувствительности к соответствующим активаторам и ингибиторам. Изучение состояния сообщества почвенных микроорганизмов в районах, подвергшихся радиоактивному загрязнению, становится все более актуальным в настоящее время.

В связи с этим целью работы являлась оценка ферментативной активности почв в районе старого хранилища радиоактивных отходов (РАО) г. Обнинска. Объектами исследования служили 16 образцов почв, отобранных в районе старого хранилища радиоактивных отходов г. Обнинска. Пробоотбор осуществлялся стандартным методом конверта на глубине до 10 см в конце июня 2010 г. Определение ферментативной активности почв в исследуемых образцах

проводилось по четырем показателям: каталазной, инвертазной, уреазной и дегидрогеназной активностям.

Сравнивая полученные результаты измерений ферментативной активности почв в районе хранилища РАО со шкалой обогащения почв ферментами, было выявлено, что по степени обогащенности дегидрогеназой исследуемые почвы можно отнести к средним, причем активность данного фермента в зоне наблюдения на 75% ниже, чем в контроле. По степени обогащенности инвертазой рассматриваемые почвы являются бедными, а активность фермента на исследуемой территории ниже, чем в контроле на 25%. По степени обогащенности уреазой почвы в районе хранилища РАО можно отнести к бедным, активность фермента на 85% ниже, чем в контроле. Каталазная активность в почвенных образцах на 95% ниже, чем в контроле и по степени обогащенности почв этим ферментом их следует отнести к очень бедным.

ВНУТРЕННЯЯ НЕУПОРЯДОЧЕННОСТЬ В БЕЛКАХ СЕМЕЙСТВА S100

Исмаилов Р.Г., Vin Xue, Денесюк А.И., Уверский В.Н., Пермяков С.Е.

Институт биологического приборостроения с опытным производством РАН,
Пушино (Россия)

Center for Computational Biology and Bioinformatics, Department of Biochemistry and
Molecular Biology, Indiana University School of Medicine, Indianapolis (USA)

Institute for Intrinsically Disordered Protein Research, Indiana University School of
Medicine, Indianapolis (USA)

Department of Molecular Medicine, University of South Florida, Tampa, Florida (USA)

Department of Biochemistry and Pharmacy, Abo Akademi University, Turku (Finland)

Пушинский государственный университет, Пушино (Россия)

E-mail: *ismaiлов_ramis@mail.ru*

Белки семейства S100 - это малые кальцийсвязывающие белки суперсемейства «EF-руки». Являясь эволюционно молодым семейством, белки S100 выполняют широкий спектр биологических функций. Белки S100 ассоциируют с развитием рака, кардиомиопатий, нейродегенеративных, воспалительных и прочих заболеваний. Многофункциональность белков S100 объясняется их способностью различать свыше полусотни белков-мишеней. Такое свойство достаточно неожиданно для структурно консервативных белков S100, и является отличительной особенностью внутренне неупорядоченных (ВН) белков, т.е. белков с частичным или полным отсутствием жесткой третичной структуры. Структурная лабильность ВН белков позволяет им взаимодействовать со множеством мишеней. Тем не менее, ни один из представителей семейства S100 до сих пор не был отнесен к ВН белкам.

Для выяснения роли неупорядоченности в функционировании белков S100, локальная и глобальная неупорядоченность были предсказаны для 81 белка S100 из базы данных Swiss-Prot, используя алгоритмы PONDR® VSL2 и CDF&CH-plot, соответственно. Неупорядоченность предсказана, по меньшей мере, одним из предсказателей для 62% белков S100. 31% изученных белков соответствует компактным денатурированным формам типа «расплавленной глобулы», 15% - сильно развернутым состояниям. Сопоставление расположения ВН участков с локализацией сайтов взаимодействия с мишенями и димеризации, а также сайтов посттрансляционных модификаций, показывает важность ВН участков белков S100 для узнавания мишеней, димеризации и посттрансляционных модификаций. В целом, внутренняя неупорядоченность присуща многим белкам S100, важна для обеспечения белок-белковых взаимодействий и функционального разнообразия белков S100.

Работа выполнена при поддержке программы Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».

МИКРОСАТЕЛЛИНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ КЕТЫ (*ONCORHYNCHUS KETA* W.) РЕК ЧУКОТКИ

Шитова М.В., Хохлов Ю.Н.

Учреждение Российской академии наук Институт общей генетики

им. Н.И.Вавилова РАН, Москва (Россия)
Чукотский филиал ФГУП «ТИНРО-Центр», Анадырь (Россия)

E-mail: *shitova-m@rambler.ru*

В работе было исследовано генетическое разнообразие и популяционно-генетическая структура 10 выборок кеты (общим объемом 386 образцов) из рек Чукотки по 10 микросателлитным локусам.

Генетическое разнообразие Чукотских выборок сравнимо с разнообразием других выборок северной части ареала (Магадан, Камчатка).

Среднее число аллелей во всех регионах примерно равно 8, а средняя ожидаемая гетерозиготность варьирует около цифры 66%. Различия в средних ожидаемых гетерозиготностях между регионами Камчатка – Магадан – Чукотка, не достоверны, что говорит о примерно одинаковом уровне генетического разнообразия в популяциях этого района ареала кеты.

Степень генетической дифференциации Чукотских выборок в среднем равна 0.05% (бутстрэпп-интервал в зависимости от выбранных наборов локусов может варьировать от - 0.25% до 0.34%), отрицательное значение нижней границы бутстрэпп-интервала говорит о недостоверности этого значения. Данная ситуация может свидетельствовать о слабой гетерогенности популяций Чукотки и недостаточной разрешающей способности набора из 10-и микросателлитных локусов для выявления таких маленьких значений дифференциации.

Чукотские выборки отличаются от Магаданских выборок – степень дифференциации между Чукотскими и Магаданскими популяциями 1% [бутстрэпп-интервал от 0,37% до 1,6% - значение достоверно].

Также, они отличаются от камчатских популяций – степень дифференциации 1,15% [бутстрэпп-интервал от 0,7% до 1,6% - значение достоверно].

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта «Биоразнообразие» (Подпрограмма «Разнообразие генофондов»).

ВЫЯВЛЕНИЕ ВИРУСНОГО ЗАРАЖЕНИЯ МЕДОНОСНОЙ ПЧЕЛЫ *APIS MELLIFERA* РНК-СОДЕРЖАЩИМИ ВИРУСАМИ

Калашников А.Е.¹, Малькова С.А.², Кривцов Н.И.³, Удина И.Г.¹

¹Учреждение Российской академии наук Институт общей генетики
им. Н.И.Вавилова РАН, Москва (Россия)

²Майкопский опорный пункт пчеловодства, Майкоп (Россия)

³Государственное научное учреждение Научно-исследовательский институт
пчеловодства РАСХН, Рыбное (Россия)

E-mail: *aeikalashnikov@yandex.ru*

Медоносная пчела, как объект промышленного разведения, подвержена различным заболеваниям. В последние годы получили широкое распространение вирусные инфекции пчел в связи с высоким уровнем заражения пчел клещом *V. destructor*, который является переносчиком вирусных инфекций пчел (Bowen-Walker et al., 1999, Chen et al., 2006). При клещевой инфекции у пчел также отмечена иммунная супрессия (Yang, Cox-Foster, 2005). В настоящее время вирусные инфекции пчел представляют серьезную угрозу выживаемости пчел (Tencheva et al., 2004). Исследования с помощью RT-PCR выявили высокий уровень инфицированности, в одной семье могут быть одновременно распространены несколько вирусов пчел (Bowen-Walker et al., 1999).

Мы проанализировали больных пчел с пасеки в Майкопском районе республике Адыгея, Московской области, Тульской области и Абхазии на предмет присутствия шести широко распространенных вирусов пчел. В результате исследований в Майкопском районе впервые был обнаружен вирус деформации крыла (DWV – deformed wing virus), а дополнительно выявлены вирусы мешотчатого расплода (SBV - sacbrood virus) и черных маточников (BQCV – black queen cell virus).

В изученных образцах пчел, которые были взяты из инфицированных ульев, наиболее частым был вирус деформации крыла, на втором месте по распространенности вирус

мешотчатого расплода, наиболее редкий – вирус черных маточников. Три вируса – вирус острого паралича, вирус хронического паралича и кашмирский вирус не выявлены (Удина и др., 2010). Проведенный анализ нуклеотидной последовательности фрагмента VP2-VP1 вируса DWV (GenBank - GQ422786), изученной нами в Московской области, методом молекулярной филогении соответствует гипотезе об относительно недавней экспансии этого вируса в популяциях пчел в России.

Работа поддержана грантом РФФИ 08-04-13740-офи_ц.

РОЛЬ CHD1 ВО ВКЛЮЧЕНИИ ВАРИАНТНОГО ГИСТОНА H3.3 В ХРОМАТИН ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ *D. MELANOGASTER*

Метельская Д.Н., Конев А.Ю.

Петербургский институт ядерной физики им. Б.П.Константинова РАН,
Гатчина (Россия)

E-mail: *daria.metelskaya@gmail.com*

Исследования эпигенетических регуляций является одним из наиболее значимых направлений современной биологии. Вариантный гистон H3.3 рассматривается в качестве эпигенетического маркера активной транскрипции. Предыдущие исследования показали, что консервативный хроматин-ремоделирующий белок CHD1 необходим для происходящего на уровне всего генома независимого от репликации включения вариантного гистона H3.3 в отцовский пронуклеус в процессе реорганизации хроматина спермия у дрозофилы. CHD1 связывается с регионами активной транскрипции – пуфами и междисками в политенных хромосомах и колокализуется с элонгирующей формой РНК полимеразы II. Целью данной работы было исследование возможной роли белка CHD1 во включении вариантного гистона H3.3 в хроматин политенных хромосом.

Используя метод непрямой иммунофлуоресценции обнаружено, что локализация CHD1 полностью совпадает с укороченной формой гистона H3.3, которая встраивается в хроматин исключительно в процессе независимой от репликации ассоциированной с транскрипцией сборки хроматина, и частично совпадает, преимущественно в пуфах и междисках, с нативной формой H3.3, способной встраиваться в хроматин также и в ходе репликации.

Показано, что экспрессия CHD1 имеет сильную материнскую компоненту. У нуль-мутантов по *chd1*, происходящих от гетерозиготных родителей, был обнаружен материнский продукт экспрессии *chd1*. Было определено, что экспрессия доминант-негативной формы CHD1 приводит к образованию очень сильно деконденсированного хроматина, либо, возможно, к полному отсутствию нуклеосомной структуры в сайтах связывания доминант-негативной формы белка CHD1. Иммунокрашивание антителами на элонгирующую форму РНК полимеразы II выявило очень яркое окрашивание во всех сайтах связывания доминант-негативной формы белка CHD1. CHD1 и его доминант-негативная форма детектировались в ядрышке, где происходит активный обмен гистона H3.3 и транскрипция осуществляется РНК-полимеразой I. Наши данные позволяют предположить, что CHD1 вовлечен *in vivo* в сборку содержащего гистон H3.3 хроматина в процессе транскрипции.

АМИЛОИДООБРАЗОВАНИЕ ГИБРИДНЫМ БЕЛКОМ ТИОРЕДОКСИН-АЛЬБЕБЕТИН

Егорова А.Г.¹, Балобанов В.А.¹, Ильина Н.Б.¹, Черткова Р.В.², Долгих Д.А.², Бычкова В.Е.¹

¹Учреждение Российской академии наук Институт белка РАН, Пушкино (Россия)

²Учреждение Российской академии наук Институт биоорганической химии им. акад. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Москва (Россия)

E-mail: *angelok_585@mail.ru*

Получение и применение искусственных белковых конструкций имеет большое значение для исследования белков. Наиболее распространенным является создание гибридных

конструкций, в которых целевой белок связан полипептидным линкером с белком носителем. Часто целью применения такой конструкции является повышение растворимости белка и снижение склонности к агрегации. Однако взаимное влияние частей такого гибрида может достаточно сильно изменять их свойства.

В нашей работе был изучен гибридный белок, составленный из тиоредоксина и альбумина. Для определения стабильности структуры было изучено равновесное разворачивание тиоредоксина и альбумина как по отдельности, так и в составе гибридного белка. Основное внимание было уделено изучению способности такой конструкции образовывать амилоидные агрегаты. Исследование было проведено с использованием методов кругового дихроизма в дальней УФ области, триптофановой флуоресценции и флуоресценции специфического красителя тиофлавина Т.

Было показано, что гибридный белок способен образовывать амилоидные агрегаты при температуре 37°C. В отличие от процесса амилоидообразования белком альбумином процесс амилоидообразования гибридной системой идёт значительно быстрее и без наблюдаемой лаг-фазы. При этом образование агрегатов происходит за счёт альбумина, а тиоредоксин сохраняет свою нативную структуру. На основании полученных результатов можно сделать вывод о том, что присоединение тиоредоксина к альбумину не препятствует образованию амилоидных агрегатов. Полученный вывод является значимым как для использования гибридных систем при выделении белков, так и для понимания процесса амилоидной агрегации.

Работа поддержана программой МКБ РАН, грантами РФФИ(09-04-01348) и ФАНИ(02.770.11.0295).

КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ГЛЮКОАМИЛАЗ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ПРОДУЦЕНТОВ

**Холявка М.Г., Макарова Е.Л., Ковалева Т.А., Артюхов В.Г., Кожокина О.М.,
Битюцкая Л.А.**

Воронежский государственный университет; Воронежская государственная
медицинская академия им. Н.Н. Бурденко, Воронеж (Россия)

E-mail: holyavka@rambler.ru

Проведено сравнение пространственных структур глюкоамилаз из *Aspergillus awamori* и *Saccharomycopsis fibuligera*. Построены модели белковых глобул с указанием положения функционально-значимых групп в полости активного центра.

Путем компьютерного моделирования показано, что для глюкоамилазы из *Aspergillus awamori* характерна плотная упаковка ядра в виде 13 спиралей, 11 β -тяжей и 19 неупорядоченных участков. Обнаружено, что молекула глюкоамилазы из *Saccharomycopsis fibuligera* включает 13 спиралей, 13 β -тяжей и 23 аморфных участка.

С помощью программы MolScript на основе данных рентгеноструктурного анализа получена объемная модель макромолекулы глюкоамилазы из *Aspergillus awamori*. Показано, что активный центр фермента расположен в сквозной полости (~1.5 нм), ограниченной следующими аминокислотными остатками: Leu58, Leu130, Leu177, Leu319, Trp178, Trp417, Phe187. С одной стороны активного центра глюкоамилазы сосредоточены Asp55 и Glu179, а с противоположной – Glu400, карбоксильные группы которых осуществляют гидролиз α -1,4-гликозидных связей крахмала. В состав активного центра фермента из *Saccharomycopsis fibuligera* входит остаток Glu456, являющийся аналогом Glu400 в молекуле глюкоамилазы из *Aspergillus awamori*. Микроокружение активного центра, вероятно, образуют Gly467, Gly353, Ala468, Tyr63.

Изучение пространственных моделей молекул глюкоамилазы из *Aspergillus awamori* и *Saccharomycopsis fibuligera* позволило выявить следующие черты сходства в структуре этих ферментов: плотную упаковку гидрофобного ядра; положение активного центра в полости, наличие в ней молекул воды; участие в каталитическом акте карбоксильной группы Glu. Подобные результаты могут свидетельствовать о сходстве в механизмах катализа реакции гидролиза крахмала, осуществляемой изучаемыми ферментами.

Таким образом, компьютерное моделирование структуры ферментов в сочетании с методами ИК-спектроскопии и энзиматическими методами анализа позволяет дать более корректную трактовку результатов экспериментальных исследований и способствует выявлению молекулярных механизмов реакции гидролиза полимерных субстратов.

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ГЕНОВ, ВОВЛЕЧЕННЫХ В МЕТАБОЛИЗМ ЦИТОКИНИНОВ, В ОПУХОЛЕОБРАЗОВАНИИ У РЕДИСА

Васильев Р.В., Осипова М.А., Лутова Л.А.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: bioroma.spb@gmail.com

Опухолообразующие линии из генетической коллекции кафедры генетики и селекции СПбГУ являются уникальной моделью для изучения факторов, вовлеченных в пролиферацию и дифференцировку клеток растений. В ходе исследований, проведенных в лаборатории генной и клеточной инженерии растений, с помощью различных подходов была показано участие цитокинина в опухолообразовании у редиса. В частности, было выявлено увеличение уровня активных форм цитокининов в опухолевых тканях редиса. Повышение уровня активных форм цитокинина при опухолообразовании может быть обусловлено различными причинами – как активацией биосинтеза цитокинина, так и образованием активных форм из конъюгатов.

Ферменты, кодируемые генным семейством IPT, катализируют первый этап пути биосинтеза цитокининов. Продукты генного семейства LOG – ферменты, контролирующие образование активных форм цитокининов из конъюгатов.

Целью нашего исследования является изучение роли генов IPT и LOG в формировании опухолей у редиса. Задачи исследования включают идентификацию генов семейств IPT и LOG у редиса и анализ экспрессии генов семейств IPT и LOG при опухолообразовании у редиса.

В настоящее время мы осуществляем идентификацию генов семейств IPT (IPT1, IPT3, IPT5, IPT7) и LOG (LOG3, LOG4, LOG5, LOG7, LOG8) у редиса на основании известных последовательностей для *Arabidopsis thaliana* и *Brassica rapa* в случае семейства IPT, *A. thaliana* и *Oryza sativa* в случае семейства LOG. В дальнейшем будет проведен сравнительный количественный анализ экспрессии генов IPT и LOG у опухолевой и безопухолевой линий редиса в тканях корнеплода и побега на различных стадиях развития.

Результаты нашего исследования позволят понять причину накопления активных форм цитокининов при развитии опухолей и расширят представление о регуляции метаболизма этого гормона в целом.

МИКРОРНК-ОПОСРЕДОВАННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ МРНК ШАПЕРОНА МЕДИ CCS1 И CU/ZN СОД CSD1,2 В РАСТЕНИЯХ *THELLUNGIELLA SALSUGINEA*

Пашковский П.П.

Учреждение Российской академии наук Институт физиологии растений им.

К.А.Тимирязева РАН, Москва (Россия)

E-mail: pashkovskiy.pavel@gmail.com

МикроРНК (миРНК) - класс регуляторных РНК, состоящих из ~21 нуклеотида. В комплексе с функциональными белками эти РНК регулируют дифференциальную экспрессию генома на посттранскрипционном уровне с помощью прямой сегментации, либо ингибирования трансляции. МикроРНК выступают в качестве посредников в процессе деградации мРНК, определяя точки приложения активности РНК-индуцированного комплекса ингибирования (RISC) в отношении мРНК-мишеней.

Было установлено, что у растений *Thellungiella salsuginea* мишенью консервативной миРНК miR398 является мРНК цитозольной и хлоропластной Cu/Zn СОД (CSD1,2). Нами было высказано предположение, что одной из возможных мишеней miR398 может быть мРНК шаперона меди CCS1, доставляющего ионы меди к апопротеинам CSD1 и CSD2 в различные компарменты клетки. Полученные нами данные свидетельствуют о наличии связи между интенсивностью экспрессии данных генов на уровне мРНК и кодируемых этими мРНК белков с

уровнем экспрессии miR398, который, по всей видимости, зависит от количества ионов меди в среде.

Полученные нами результаты позволяют заключить, что механизм микроРНК-опосредованной регуляции экспрессии CSD1,2 и CCS1 характерен для растений *T. salsuginea*. Его функционирование не является органоспецифичным, но зависит от количества меди в питательной среде. Уровни miR398 в корнях и листьях имеет реципрокный характер, что свидетельствует о ее способности к межорганному транспорту. Результаты экспериментов на каллусах и суспензионных культурах клеток *T. salsuginea* указывают на то, что miR398 могут быть вовлечены не только в регуляцию генов СОД и CCS, но также и в передачу сигнала от одного органа к другому. Все это свидетельствует о важной биологической роли miR398-опосредованной регуляции экспрессии генов при стрессе, а также о возможном существовании в растительных клетках множества мишеней у уже открытых в настоящее время микроРНК.

УЗНАЮЩИЕ И ДНК-СВЯЗЫВАЮЩИЕ СВОЙСТВА ЭНДОНУКЛЕАЗЫ F-TfII ФАГА T5

Якунина М.В., Ксензенко В.Н., Крутилина А.И.

Учреждение Российской академии наук Институт белка РАН, Пущино (Россия)

E-mail: yakuninam@gmail.com

В нашей лаборатории проводится детальное изучение трех гомологичных «никирующих» эндонуклеаз (F-TfII, F-TfIII и F-TfIII), кодируемых T5-подобными бактериофагами. Биоинформатический анализ исследуемых эндонуклеаз показал, что в их аминокислотных последовательностях присутствует одинаковый набор мотивов: узнающие N-концевой NUMOD4 и C-концевой НТН-мотивы, каталитический ННН-мотив, и мотив цинковых пальцев. Ранее был охарактеризован сайт узнавания эндонуклеазы F-TfIII (30 н.п.). Было показано, что существенными для узнавания являются две нуклеотидные последовательности длиной 7 н.п., расположенные на самых концах сайта. В данной работе с помощью мутационного анализа установлено, что сайт узнавания эндонуклеазы F-TfII значительно короче (19 н.п.), однако существенные для узнавания последовательности схожи с таковыми эндонуклеазы F-TfIII и также расположены на концах сайта. Эти результаты свидетельствуют о том, что процессы узнавания ДНК эндонуклеазами F-TfII и F-TfIII могут существенно различаться.

Показано, что энзиматическая активность эндонуклеаз F-TfII и F-TfIII достигает оптимального уровня при экстремальных значениях рН (9,0 — 10,0). В связи с этим возникал вопрос о биологическом смысле этого явления. Для ответа на него нами были определены равновесные константы диссоциации (K_D) комплекса эндонуклеазы F-TfII с ДНК-субстратом при оптимальном значении рН (9,0) и при физиологическом значении рН (7,0). Значения K_D различались более, чем в 20 раз (соответственно $0,4 \pm 0,05$ нМ и 18 ± 2 пМ). Кроме того, нами была изучена кинетика гидролиза ДНК-субстратов эндонуклеазой F-TfII при указанных выше значениях рН. Показано, что при рН 7,0 фермент работает практически без оборачиваемости, быстро образуя комплекс с субстратом и оставаясь связанными с продуктом реакции после акта гидролиза, тогда как при рН 9,0 фермент работает с нормальной оборачиваемостью.

Полученные результаты позволили предложить модель, объясняющую принципы работы «никирующих» эндонуклеаз в процессе инициации рекомбинационных процессов.

ОСОБЕННОСТИ БИОСИНТЕЗА ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ПРОТЕИНАЗ *SERRATIA GRIMESII*

Бондырева Н.М., Долгова Е.В., Марданова А.М.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань (Россия)

E-mail: nelya-zamalutdinova@rambler.ru

При исследовании свойств актина был обнаружен, выделен и частично охарактеризован новый фермент, бактериальная металлопротеиназа ЕСР 32 (ЕС 3.4.24), специфически расщепляющая актин. Бактериальный штамм А2, продуцент протеазы ЕСР32, ранее определенный как *E. coli*, сходен или идентичен *Serratia grimesii*. В референтном штамме

Serratia grimesii 30062 обнаружена новая металлопротеаза гримелизин. Гримелизин и ECP32 сходны по молекулярному весу, N-концевой последовательности, способности ограниченно расщеплять актин между Гли42-Вал43 и чувствительности к действию хелаторов. Поскольку прокариоты не содержат актина, функция протеазы в бактериях остается неясной, и выяснение этой функции актуально в свете широко развивающихся сегодня исследований внутриклеточной инвазии бактериальных патогенов.

Целью данной работы являлось установление особенностей биосинтеза внутриклеточных протеиназ *Serratia grimesii*. Культуру *Serratia grimesii* выращивали на среде LB с аэрацией. Клетки разрушали методом замораживания-оттаивания. Было установлено, что культура выходит на стационарную фазу роста на 16 час культивирования. Клеточный экстракт, полученный из клеток на 4-м часе культивирования, осуществляет ограниченный протеолиз актина с образованием фрагмента 36 кДа. Показано, что внутриклеточная актинолитическая активность сохраняется на всех стадиях роста культуры. Ингибиторный анализ показал, что основную внутриклеточную протеолитическую активность составляют металлопротеазы (80%), на долю сериновых протеаз приходится 20% от общей протеолитической активности. Клеточный экстракт *Serratia grimesii* не расщепляет казеин, азоказеин и специфические хромогенные субстраты Z-Glu-pNa и Z-Ala-Ala-Leu-pNa для глутамилэндопептидазы и субтилизиноподобных протеиназ соответственно. При культивировании культуры на среде LB в присутствии 1,5% глюкозы изменения внутриклеточной актинолитической активности не происходит. Также было установлено, что в клетках, выращенных на синтетической среде M9, актинолитическая активность отсутствует.

ФАКТОР [PIN⁺] ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* ВЛИЯЕТ НА ФЕНОТИПИЧЕСКОЕ ПРОЯВЛЕНИЕ ДЕТЕРМИНАНТА [NSI⁺]

Нижников А.А., Лада А.Г., Сайфитдинова А.Ф., Инге-Вечтомов С.Г., Галкин А.П.
Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики РАН; Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: Ant.nizhnikov@gmail.com

Прионы представляют собой доминантные конформационные изоформы нормальных клеточных белков, обладающие инфекционными свойствами. У дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* известен ряд прионов, среди которых одним из наиболее изученных является [PIN⁺] – прионная изоформа белка Rnq1.

Ранее в нашей лаборатории был обнаружен прионоподобный детерминант [NSI⁺], вызывающий оннипотентную нонсенс-супрессию, а также репрессию метаболизма галактозы и глицерина на фоне делеции последовательности, кодирующей N-терминальный домен белка Sup35. Первоначально [NSI⁺] был выявлен в штамме [PIN⁺]. Мы показали, что делеция гена RNQ1 приводит к снижению нонсенс-супрессии, вызываемой [NSI⁺]. Также, сильная нонсенс-супрессия, наблюдаемая в штаммах [NSI⁺][PIN⁺], снижается в штаммах [NSI⁺][pin⁻]. На основании этого можно утверждать, что детерминант [PIN⁺] усиливает нонсенс-супрессию, вызываемую [NSI⁺]. По современным представлениям [PIN⁺] функционирует в качестве белкового «праймера», индуцирующего прионизацию других белков. Можно предположить, что присутствие в дрожжевой клетке [PIN⁺] меняет свойства [NSI⁺], способствуя формированию относительно большего количества агрегатов [NSI⁺]. Этот процесс, вероятно, может приводить к инактивации значительного количества структурного белка [NSI⁺] в составе агрегатов и, как следствие, к усилению нонсенс-супрессии в штаммах [NSI⁺][PIN⁺] в сравнении со штаммами [NSI⁺][pin⁻].

Таким образом, нами впервые показано собственное фенотипическое проявление для дрожжевого прионного детерминанта [PIN⁺].

Работа выполнена при поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы (Госконтракт №П1354). Работа выполнена за счет средств тематического плана НИР СПбГУ.

ФЕНОТИПИЧЕСКОЕ ПРОЯВЛЕНИЕ ДЕТЕРМИНАНТА [NSI⁺] ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* ОПОСРЕДОВАНО ГЕНАМИ SUP35 и SUP45

Нижников А.А., Магомедова З.М., Рубель А.А., Инге-Вечтомов С.Г., Галкин А.П.
Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики РАН; Санкт-Петербургский
государственный университет, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: Ant.nizhnikov@gmail.com

Нами описан новый детерминант дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, названный [NSI⁺], который обладает всеми основными свойствами дрожжевого приона и не является ни одним из ранее идентифицированных прионов. [NSI⁺] имеет плеiotропное фенотипическое проявление, вызывая онipotентную нонсенс-супрессию и репрессию метаболизма галактозы и глицерина.

С целью выявления генов, контролирующего фенотипическое проявление [NSI⁺] мы провели геномный скрининг многокопийной библиотекой дрожжевых генов. В результате скрининга установлено, что сверхэкспрессия генов SUP45 и SUP35, кодирующих факторы терминации трансляции, приводит к подавлению проявления, но не к элиминации [NSI⁺]. Дальнейший анализ показал, что [NSI⁺] обладает фенотипическим проявлением только на фоне делеции последовательности, кодирующей N-терминальный домен белка Sup35. Следует отметить, что N-терминальный домен Sup35 содержит сайты связывания с белком Sup45. Таким образом, на фоне делеции SUP35N может происходить частичное нарушение взаимодействия Sup35 и Sup45, что, по-видимому, и способствует проявлению [NSI⁺]. При сверхэкспрессии SUP45 происходит частичная компенсация нарушения взаимодействия Sup35 и Sup45 за счет увеличения количества белка Sup45, которая ведет к маскировке [NSI⁺]. Секвенирование последовательности SUP45 из штамма [NSI⁺] показало, что она не содержит мутаций, а вестерн-блот гибридизация позволила установить, что уровень продукции Sup45 в штаммах [NSI⁺] и [nsi⁻] не отличается.

Таким образом, фенотипическое проявление прионоподобного детерминанта [NSI⁺] зависит от дозы генов SUP35 и SUP45, а также от последовательности, кодирующей N-терминальный домен Sup35.

Работа выполнена при поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы (Госконтракт №П1354). Работа выполнена за счет средств тематического плана НИР СПбГУ.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕПОРТОРНОЙ КОНСТРУКЦИИ GFP-SUP35МС ДЛЯ АНАЛИЗА АГРЕГАЦИИ БЕЛКОВ

Антонец К.С., Коржова В.В., Галкин А.П., Рубель А.А.

Санкт-Петербургский государственный университет; Санкт-Петербургский филиал
Института общей генетики им. Н.И.Вавилова РАН, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: kir_ant@mail.ru

В настоящее время все большее значение приобретает поиск средств для лечения нейродегенеративных заболеваний. В основе многих заболеваний лежит изменение состояния белков, продуцируемых в центральной нервной системе, что приводит к их агрегации. В случае болезни Альцгеймера это пептид амилоид-бета, продукт протеолиза белка APP, а в случае прионных заболеваний, являющихся инфекционными, это белок PrP. Сходное явление наблюдается у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Ряд дрожжевых белков также способен формировать агрегаты, при этом агрегация в большинстве случаев имеет фенотипическое проявление, выражаемое в росте или его отсутствии в определенных условиях. К таким белкам относится фактор терминации трансляции Sup35. У этого белка области, ответственные за агрегацию и фенотипическое проявление, располагаются в разных доменах. Генно-инженерные конструкции с замещенным агрегирующим доменом позволяют оценить способность слитых белков к агрегации. В ряде работ было показано, что при продукции в дрожжах агрегирующие белки млекопитающих обладают свойствами, аналогичными свойствам белков, продуцируемых у млекопитающих.

Для фенотипического анализа агрегации мы использовали репортерную последовательность GFP-Sup35МС. Последовательность зеленого флуоресцирующего белка

(GFP) позволяет наблюдать распределение слитого белка в живых клетках, методом флуоресцентной микроскопии, последовательность доменов М и С фактора терминации трансляции Sup35, позволяет исследовать его влияние на точность терминации трансляции на фоне делеции гена SUP3. Также экспрессия химерного белка на низком уровне супрессирует проявление нонсенс-мутации в гене ADE1, что может быть обусловлено агрегацией белка и его неспособностью участвовать в терминации трансляции. Благодаря этому последовательность GFP-Sup35MC можно использовать для анализа агрегации слитых с ней белков.

Работа выполнена при поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы (Госконтракт П1067).

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ АЦЕТИЛИРОВАННОГО ГИСТОНА H3 И МЕТИЛИРОВАННОЙ ДНК СЕГМЕНТ- И СТАДИОСПЕЦИФИЧНО НА МЕТАФАЗНЫХ ХРОМОСОМАХ

**Лежнина Ю.Г.¹, Тихонов А.В.¹, Галембо И.А.¹, Ефимова О.А.², Пендина А.А.²,
Чиряева О.Г.², Петрова Л.И.², Садик Н.А.², Дудкина В.С.², Кузнецова Т.В.²,
Баранов В.С.²**

¹Санкт-Петербургский государственный университет; ²НИИ акушерства
и гинекологии им. Д.О.Отта СЗО РАМН, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: Avesfly@mail.ru

В ходе настоящей работы был проанализирован характер распределения ацетилованного по лизину в 9-м положении гистона H3 (AcH3K9) на метафазных хромосомах из лимфоцитов периферической крови 5 взрослых индивидов и пуповинной крови 3 плодов человека 20-24 недель развития. Полученные препараты окрашивали иммунофлуоресцентным методом с помощью моноклональных антител к AcH3K9. Проанализировано 60 метафазных пластинок от взрослых индивидов и 79 метафазных пластинок от плодов.

Показано, что районы расположения иммунофлуоресцентного сигнала совпадают с RG сегментами, выявленных с помощью окрашивания DAPI. В соответствии с интенсивностью флуоресцентного сигнала выделены 32 R-сегмента, наиболее обогащенных ацетилованным гистоном H3, и 86 R-сегментов со средним и слабым уровнем ацетилования. Все G-сегменты характеризовались слабым уровнем ацетилования. В гетерохроматиновых блоках хромосом 1, 9, 16 и Y иммунофлуоресцентного сигнала не выявлено, что свидетельствует об отсутствии в данных участках изучаемой модификации.

С использованием полученных ранее данных проведен анализ характера метилирования ДНК в сегментах с различным статусом ацетилования на хромосомах из лимфоцитов взрослых индивидов. Неацетилованные участки гетерохроматина характеризовались гиперметилованным состоянием. В гиперацетилованных сегментах уровень метилирования ДНК варьировал от высокого в 17 и среднего в 12 до низкого в 3 сегментах - 1p13, 2q31, 2q33, что, вероятно, свидетельствует о функциональной значимости последних в лимфоцитах.

В лимфоцитах плодов сегменты 1p13 и 2q33 гиперметилованы и гиперацетилованы, а сегмент 2q31 характеризуется средним уровнем ацетилования и гипометилованным состоянием ДНК.

Таким образом, хроматин, обогащенный ацетилованным гистоном H3 и метилированной ДНК распределен сегмент-специфичным образом на метафазных хромосомах из лимфоцитов взрослых индивидов и плодов человека. Выявленные особенности метилирования и ацетилования отдельных сегментов свидетельствуют об их различном структурно-функциональном статусе в пре- и постнатальном развитии человека.

ИЗУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАЦИОННЫХ ХАРАКТЕРИСТИК БЕЛКА RAD51 ИЗ PICHIA ANGUSTA МЕТОДАМИ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

Шалгуев В.И.

Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова РАН,

Гатчина (Россия)

E-mail: shalghev@omrb.pnpi.spb.ru

Семейство рекомбиназ RecA/RadA/Rad51 составляют белки, образующие нуклеопротеиновые филаменты со сходной структурой, стехиометрией и ДНК-специфичностью. Эти белки отличаются количественными характеристиками АТФ-зависимых и рекомбинационных функций, что позволяет подразделить их на два субсемейства: RecA и Rad51/RadA. Белки субсемейства Rad51/RadA обладают низкой каталитической эффективностью в гидролизе АТФ и не имеют ярко выраженной АТФ-индуцируемой кооперативности, наблюдаемой для RecA. Ранее нами был клонирован ген RAD51 из термотолерантного штамма дрожжей *P. angusta*, и исследованы основные рекомбинационные характеристики соответствующего ему белка Rad51Pa.

Мы показали, что белок Rad51Pa является ДНК-зависимой АТФазой, и ему присущи типичные свойства семейства белков Rad51. Нами также была показана способность высокоочищенного белка Rad51Pa эффективно катализировать направленную синаптическую реакцию взаимодействия *in vitro* однонитевой ДНК и гомологичной ей нити двунитевой ДНК фага фХ174. Для анализа рекомбинационных характеристик белков RecA из *E.coli* и Rad51 из *P. angusta* мы применили методы флуоресцентной спектроскопии, обладающие высокой чувствительностью и позволяющие измерять кинетические параметры реакции обмена нитей ДНК в режиме реального времени. Система регистрации реакции замещения нити ДНК методом флуоресцентной спектроскопии, используемая в наших экспериментах, позволила существенно увеличить соотношение сигнал/шум для модельной реакции с белком RecA из *E.coli*. Проведенный методом гель-электрофореза анализ продуктов реакции замещения нити ДНК, катализируемой белком RecA или белком Rad51Pa, показал отсутствие нуклеазных, лигазных и геликазных примесей в полученных препаратах RecA и Rad51Pa. Методами флуоресцентной спектроскопии мы показали, что белок Rad51Pa способен катализировать без участия АТФ реакцию замещения нити ДНК с короткими олигонуклеотидами (длиной 20-100 нуклеотидов).

СПЕЦИФИЧНОСТЬ ЛОКАЛИЗАЦИИ СКАР ДНК В ГЕНОМНЫХ ИЗОХОРАХ ЦЫПЛЕНКА

Сизова Т.В., Карпова О.И., Богданов Ю.Ф.

Учреждение Российской академии наук Институт общей генетики им.

Н.И.Вавилова РАН, Москва (Россия)

E-mail: olonare@mail.ru

В профазе I мейоза формируется субъядерная структура - синаптонемный комплекс (СК). Клонированы и секвенированы последовательности ДНК, прочно ассоциированные с СК золотистого хомячка (СКАР ДНК). Показано, что семейство СКАР ДНК обладает эволюционной консервативностью. В композиционных фракциях генома цыпленка с помощью дот-гибридизации на фильтрах была выявлена локализация последовательностей, сходных по первичной структуре с клонами СКАР ДНК. Композиционные фракции - результат препаративного разделения геномной ДНК цыпленка на изохорные семейства, то есть в соответствии с содержанием в ней GC-пар. Изохоры - гомогенные по уровню GC последовательности ДНК, различающиеся по ряду основных биологических свойств, таких, как генетическая экспрессия, уровень рекомбинации и время репликации. При гибридизации были получены следующие результаты: последовательности, сходные со СКАР ДНК, дисперсно, но с разной плотностью, распределены в геномных изохорах цыпленка. Последовательности, сходные со СКАР ДНК и содержащие уникальные последовательности, менее широко распространены в геноме цыпленка, чем последовательности, сходные с клонами СКАР ДНК и содержащие повторы.

Из 92 выявленных сигналов 56 (или 60,9%) зарегистрированы при гибридизации СКАР-ДНК с GC-бедными изохорными семействами (L1, L2 и H1), а 36 сигналов (или 39,1%) - при гибридизации с GC-богатыми изохорными семействами H1 и H2.

Полученные результаты свидетельствуют о наличии специфичности последовательностей СКАР ДНК на уровне изохор. Композиционная локализация СКАР ДНК согласуется с гипотезой об участии синаптонемного комплекса и СКАР ДНК в реорганизации структуры хроматина в профазе I мейоза, в результате которой петли хроматина прикрепляются к латеральным элементам СК по всей длине хромосом.

ВЫБОР РЕФЕРЕНТНЫХ ГЕНОВ КУКУРУЗЫ (*ZEA MAYS*)

Сафина А.Ф., Горшков В.Ю., Топоркова Я.Ю., Ю.В. Гоголев Ю.В.

Казанский (Приволжский) федеральный университет; Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань (Россия)

E-mail: anita-safina@mail.ru

Исследование особенностей экспрессии генов в последние годы занимает одно из ведущих мест в фундаментальных и прикладных областях биологии. На сегодняшний день наиболее точный способ определения экспрессии генов заключается в сравнительном количественном анализе транскриптов целевого гена и стабильно экспрессирующегося гена «домашнего хозяйства» (housekeeping gene). При этом уровень экспрессии последнего принимается за константную величину. Универсального референтного гена, который всегда бы проявлял один и тот же уровень экспрессии в различных условиях, при различных воздействиях и на разных стадиях онтогенеза не существует. Поэтому отправной точкой в любых исследованиях, касающихся изучения особенностей экспрессии генов, является грамотный подбор референтных генов, позволяющих адекватно интерпретировать экспериментальные данные.

Цель настоящей работы заключалась в разработке тестовой системы для выявления стабильно экспрессирующихся генов кукурузы (*Zea mays* L.). Для этого нами был проанализирован алгоритм расчета стабильности экспрессии генов GeNorm. Для работы с этим алгоритмом на основе литературных данных были выбраны «гены-кандидаты», которые у ряда видов растений охарактеризованы как наиболее стабильно экспрессирующиеся. В число этих кандидатов входили следующие гены: актина, тубулина, глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназы, фактора элонгации, белка контроля клеточного деления и убиквитина. С использованием всемирной базы данных нуклеотидных последовательностей (NCBI) были найдены гомологичные гены у кукурузы и выбраны наиболее оптимальные праймируемые области для амплификации участков ДНК при помощи ПЦР. С помощью пакета программ vector NTI Advance9, были сконструированы праймеры, которые затем были нами экспериментально протестированы. На амплифицируемую область были сконструированы флуоресцентные зонды TaqMan, необходимые для проведения количественного ПЦР-анализа в реальном времени. Данная система в дальнейшем позволит среди «генов-кандидатов» выявить наиболее стабильно экспрессирующиеся гены, что обеспечит высокую достоверность результатов по оценке особенностей экспрессии генов у исследуемого нами объекта.

ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ СОСТАВА БЕЛКОВ МИКРОСПОРОЦИТОВ *HIBISCUS SYRIACUS* L. (MALVACEAE) В ПРОЦЕССЕ ИХ РАЗВИТИЯ

Аллабердиев Р.Х.

Научно-производственный центр «Ботаника» АН РУз, Ташкент (Узбекистан)

E-mail: nurjanov@rambler.ru

В наших исследованиях проводилось модифицирование методов выделения чистых фракций микроспор определённого размера, а значит и одной стадии развития. Для этого были использованы бутоны - размером от 2 мм до стадии зрелых пыльцевых зёрен *Hibiscus syriacus* L. Из этих бутонов были выделены чистые фракции микроспор одного размера и исследованы на содержание тотальных белков, которые экстрагировались по общепринятому методу и анализировались методом электрофореза в ПААГ. Количество тотальных белков *H. syriacus* L. варьирует на различных стадиях микроспорогенеза. Причём на ранних и поздних стадиях количество тотальных белков больше, чем на промежуточных.

Анализ результатов показывает, что на ранних стадиях микроспорогенеза *H. syriacus* L. проявляются интин-ассоциированные белки с молекулярными массами 88, 84, и 24 кД. Эти белки выявлены на стадии спорогенных клеток, соответствующие размерам бутонов 4-7 мм. На последующих стадиях мужского гаметогенеза проявлялись белки с молекулярными массами 25-24 кД, которые обнаруживались до последней стадии вплоть до зрелых пыльцевых зёрен. При этом в пыльцевых зёрнах выявлялись тотальные белки, ассоциированных с интиной, с молекулярными массами 104, 102, 101, 92, 88, 25 и 24 кД.

Кроме интин - и экзин-ассоциированных белков и белков цитоплазмы, были выявлены другие белковые фракции, молекулярные массы которых варьировали от 10,5 до 76 кД. Они не были обнаружены в составе тотальных белков зрелых пыльцевых зёрен.

Таким образом определено, что среди тотальных белков *H. syriacus*, которые не были идентифицированы как интин- или экзин-ассоциированные белки или белки цитоплазмы, определены фракции, которые характерны сразу для нескольких этапов гаметогенеза, а также выявлены белки, характерные только для 1 или 2-х стадий мужского гаметогенеза.

РОЛЬ ГЕНА CUR1 В ПРИОНИЗАЦИИ БЕЛКА SUP35 И ТЕРМИНАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ У *S. CEREVISIAE*

Пашковская Н.А., Землянко О.М., Журавлева Г.А

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: *natasha89@yandex.ru*

Терминация трансляции – заключительный этап синтеза белковой молекулы. В последнее время интерес к процессу терминации трансляции значительно возрос в связи с открытием способности белка Sup35 (фактора терминации eRF3 у дрожжей) переходить в прионную форму, приводя к возникновению цитоплазматического фактора [PSI⁺].

В нашей лаборатории была разработана система для поиска факторов, способных влиять на прионный фактор [PSI⁺] и на аппарат трансляции. В её основе лежит явление несовместимости мутаций sup45 и [PSI⁺]. В результате скрининга, из библиотеки были отобраны конструкции, усиливавшие несовместимость, одна из этих конструкций - YEp13-65, несла на вставке ген CUR1.

Нами был показан эффект усиления супрессии нонсенс-мутации, вызванной фактором [PSI⁺]W, таким образом, наблюдался эффект усиления слабого варианта [PSI⁺]. Был проведён полуденатурирующий электрофорез агрегатов, выделенных из клеток дрожжей с различным [PSI] статусом, в ходе которого мы выявили, что сверхэкспрессия гена CUR1 не приводит к изменению размера агрегатов белка Sup35. Кроме того, мы показали, что сверхэкспрессия CUR1 оказывает самостоятельный эффект на супрессию нонсенс-мутации ade1-14. Далее, с использованием двугибридной дрожжевой системы, мы выявили взаимодействие белкового продукта гена CUR1 с фактором терминации трансляции Sup45.

Таким образом, мы предполагаем, что продукт гена CUR1 участвует в процессе терминации трансляции дрожжей *S. cerevisiae*.

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (10-04-00237) и тематическим планом НИР СПбГУ.

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ПОЛУЧЕНИЯ УЛУЧШЕННЫХ АГОНИСТОВ WNT/FRIZZLED СИГНАЛЬНОГО КАСКАДА

Наврulin В.О., Благодатский А.С., Катанаев В.Л.

Учреждение Российской академии наук Институт белка РАН, Пущино (Россия)

E-mail: *NavrulinVictor@yandex.ru*

Wnt/Frizzled каскад – это цепь сигнальных событий, которая состоит из взаимодействия белковых лигандов семейства Wnt с рецепторами Frizzled и последующей активации транскрипции ряда генов-мишеней. Данный сигнальный путь участвует в процессах эмбрионального развития, определяя различные направления дифференцировки, а также в процессе клеточной поляризации и поддержания пула стволовых клеток. Эффекторы

Wnt/Frizzled каскада могут найти широкое применение в медицине и биотехнологии. Однако использование нативных белков Wnt сопряжено с рядом трудностей, связанных с их сложным путем секреции, модификациями и низкой растворимостью.

Целью данной работы является получение улучшенных образцов Wnt-лигандов, пригодных для прикладного использования. Для этого гены Wnt-лигандов будут подвергнуты направленной эволюции посредством соматического гипермутирования. В природе соматическое гипермутирование происходит в вариабельных участках иммуноглобулиновых генов В-лимфоцитов и служит для повышения аффинности антител. Для гипермутирования кодирующие последовательности генов Wnt3a и Wnt5a мыши были интегрированы в локус легкой цепи иммуноглобулинов линии куриных В-лимфоцитов DT40. Предварительно в геном используемой линии был встроены GFP-репортер, экспрессия которого зависит от активности Wnt/Frizzled каскада. Полученные клеточные линии способны аутокринно активировать Wnt/Frizzled каскад, производя в то же время мутантные формы Wnt-лигандов. Субпопуляции клеток, производящих мутанты Wnt3a и Wnt5a, обладающие повышенной активностью, будут отобраны при помощи проточной цитометрии по изменению яркости флуоресценции. В дальнейшем будет проведен анализ и комбинация полученных мутаций. Следующим этапом проекта станет разработка методов применения измененных агонистов Wnt/Frizzled каскада в медицине и биотехнологии.

АНАЛИЗ НУКЛЕОТИДНЫХ И АМИНОКИСЛОТНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ HSP70 У ДВУХ ВИДОВ СЕМЕЙСТВА *STRATIOMYIDAE (DIPTERA)*

Юшенова И.А., Зацепина О.Г., Пржиборо А.А., Евгеньев М.Б., Гарбуз Д.Г.

Учреждение Российской академии наук Институт молекулярной биологии им.

В.А.Энгельгардта РАН, Москва (Россия)

Учреждение Российской академии наук Зоологический институт РАН,

Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: irinayushenova@mail.ru

Для сравнения были выбраны два вида из семейства *Stratiomyidae (Diptera)*, обитающие в контрастных условиях: личинки *Stratiomys singularior* из соленых озер Крыма, а личинки *Oxycera pardalina* – из пресноводного родника в Ленинградской области. Эти виды обладают высоким конститутивным уровнем индуцибельных БТШ70 в обычных условиях обитания. Показано, что у *S. singularior* пять генов hsp70 образуют компактный кластер, а у *O. pardalina* четыре гена hsp70 диффузно расположены в геноме.

Обнаружен полиморфизм кластера генов hsp70 в популяции *S. singularior*, обитающей в постоянно изменяющихся условиях среды. Промоторные области всех генов hsp70 у *S. singularior* значительно отличаются друг от друга, тогда как у *O. pardalina* имеются лишь единичные нуклеотидные замены, не влияющие на общую структуру промотора. Это может объясняться тем, что для *S. singularior* необходимо поддержание генетического разнообразия процессов регуляции экспрессии hsp70 в условиях постоянного действия негативных факторов окружающей среды. Гомология между разными аллелями hsp70 *O. pardalina* составляет 98,4%, найдено два псевдогена. Разные аллели hsp70 *S. singularior* гомологичны на 98,7%, псевдогенов не найдено.

Результаты анализа с помощью МакДональд-Крейтман теста говорят о наличии у *S. singularior* согласованной эволюции и отсекающего отбора. Метод Rozas-Aguade позволил сделать вывод о функционировании механизма геновой конверсии для hsp70 у *S. singularior* и отсутствии такового у *O. pardalina*. Последнее может быть следствием больших расстояний между аллелями hsp70 у *O. pardalina*. Расчетные аминокислотные последовательности для обоих видов подтвердили полученные ранее данные пептидного фингерпринтинга. Гомология полученных белковых последовательностей между БТШ70 *S. singularior* составляет 99,5%, между БТШ70 *O. pardalina* – 99%, а между этими видами – 93%. У обоих видов найдены все основные аминокислотные последовательности, характерные для индуцибельных БТШ70.

ГЕНЫ ECM23 И GIC2 СНИЖАЮТ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ШТАММОВ *S. CEREVISIAE*, НЕСУЩИХ МУТАЦИИ В ГЕНЕ SUP45

Аскинази О.Л., Мурина О.А., Москаленко С.Е., Журавлева Г.А.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: olga-askinazi@ya.ru

Терминация трансляции является заключительным этапом процесса синтеза белка. В регуляцию этого процесса у эукариот вовлечены как минимум два фактора белковой природы, работающих в комплексе, – eRF1 и eRF3. У дрожжей *S. cerevisiae* они кодируются генами SUP45 и SUP35, соответственно. В настоящее время ведется активный поиск генов, взаимодействующих с этим комплексом и модулирующих терминацию трансляции. Одними из кандидатов на эту роль являются продукты генов ECM23 и GIC2, идентифицированные в нашей лаборатории.

Для поиска генов, потенциально вовлеченных в процесс терминации трансляции, был использован штамм, несущий нонсенс-мутацию sup45-105 на хромосоме и компенсирующую плазмиду с геном SUP45 дикого типа. Выяснилось, что сверхэкспрессия генов ECM23 и GIC2 снижает частоту потери компенсирующей плазмиды и, таким образом, возможно, уменьшает жизнеспособность нонсенс-мутантов. Дальнейшие эксперименты показали, что сверхэкспрессия гена ECM23 снижает уровень нонсенс-супрессии мутации his7-1 в штаммах с различными нонсенс-мутациями по гену SUP45 и снижает общую жизнеспособность трансформантов.

Для определения влияния сверхэкспрессии данных генов на количество белка eRF1 в клетке была проведена вестерн-гибридизация клеточных лизатов из соответствующих трансформантов, однако нами не было выявлено изменения в уровне белка в клетке по отношению к контрольному штамму.

Таким образом, мы предполагаем, что продукты генов ECM23 и GIC2 потенциально взаимодействуют с компонентами аппарата терминации трансляции дрожжей *S. cerevisiae*, однако природа этого взаимодействия на данный момент не ясна.

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (10-04-00237) и тематическим планом НИР СПбГУ.

ФРАГМЕНТ-АНАЛИЗ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ СОРТОВ ЯЧМЕНЯ УКРАИНЫ

Холявицкая И.Л., Бальвинская М.С., Сиволап Ю.М.

Южный биотехнологический центр в растениеводстве, Одесса (Украина)

E-mail: iren230686@mail.ru

Исследование аллельного разнообразия SSR-локусов с использованием автоматических систем детекции с программным обеспечением для обработки данных значительно ускоряет процесс изучения особенностей сортов, в частности ячменя. Это также способствует унификации маркерной системы идентификации генотипов, расширению информационной базы данных по ПЦР-маркерам для сортов ячменя, которые использованы в процессе селекции в Украине.

Материалом для исследования служили 83 сорта ярового ячменя Украины, которые использовались в селекционной работе до 2007 года.

ДНК выделяли из 20 индивидуальных этиолированных проростков каждого сорта «цетавлоновым» методом. Для анализа микросателлитных участков 20 индивидуальных образцов выделенной ДНК каждого сорта объединяли в смеси. Амплификацию путем SSR-ПЦР с мечеными праймерами проводили на приборе «Герцик» (Россия). Фрагмент-анализ амплифицированных микросателлитных участков ДНК проводили в автоматизированной системе ALF-express II («Amersham Biosciences», Швеция) с использованием компьютерного программного обеспечения Fragment-analyser 1.03. Для проведения обчетов и документирования данных использовали компьютерную программу ALFWin Software.

Проанализировано генетическое разнообразие стародавних сортов ячменя юга Украины, которые составили основу селекционного процесса данного региона. Исследована

вариабельность современных сортов ячменя и проведено их сравнение между собой и со стародавними сортами. Определены особенности аллельного состава исследованных микросателлитных локусов, их сходство и различия.

По результатам фрагмент-анализа 12 микросателлитных локусов количество аллелей варьировало от 6 до 13 в локусе, что в среднем составляет 10,3 аллеля на локус. Количественное разнообразие аллелей, выявленных по некоторым из исследованных микросателлитных участков, соотносится с литературными источниками, а для ряда локусов несколько превышает его.

Полученные микросателлитные маркеры могут быть использованы для пополнения информационной базы данных по ДНК-маркерам для исследованных сортов ячменя.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ W-ТРЕКОВ И S-ТРЕКОВ В ГЕНОМАХ УМЕРЕННО GC-БОГАТЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Киселев С.С., Комаров В.М., Масулис И.С., Озолинь О.Н.

Институт биофизики клетки РАН, Пущино (Россия)

E-mail: *anthyllium@gmail.com*

Смешанные нуклеотидные последовательности, содержащие dA и dT (W-треки), dG и dC (S-треки) широко распространены среди прокариот и эукариот. Существующие данные указывают на вариабельность частот их встречаемости в геномах микроорганизмов из разных таксономических групп.

В данной работе проведено исследование распространения W-треков и S-треков в геномах умеренно GC-богатых прокариот, содержащих от 50% до 60% процентов GC-пар. Нуклеотидные последовательности и аннотации полностью секвенированных геномов были взяты из банка данных NCBI GenBank. Учитывали треки длиной от 5 нуклеотидов и выше. Также были изучены особенности распределения W-треков и S-треков внутри генов и межгенных областей. Для разбиения исходной последовательности геномной ДНК на кодирующие и не кодирующие участки использовали компьютерную программу DNA Tool.

Оказалось, что в межгенных участках количество W-треков часто превышает число S-треков, но при этом внутри генов наблюдается зависимость встречаемости треков от GC-состава.

Характер распространения смешанных треков в геномах умеренно GC-богатых микроорганизмов (без учёта генов и не кодирующих областей) демонстрирует более сильную зависимость от GC-состава по сравнению с встречаемостью мононуклеотидных poly(dA)_n- и poly(dT)_n-треков.

Обсуждаются возможные причины доминирования W-треков над S-треками в не кодирующих участках геномов.

ВЛИЯНИЕ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ НА ЭРИТРОЦИТЫ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ХОЛОДОВОГО ШОКА

Маркова К.В.¹, Семенченко А.Ю.²

¹Харьковский национальный университет им. В.Н.Каразина; ²Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков (Украина)

E-mail: *kristinkama@ukr.net*

Как известно, состояние эритроцитов в русле крови во многом определяется свойствами окружающей их среды. Основную массу веществ плазмы составляют белки, среди которых основным является альбумин. Он играет существенную роль в поддержании коллоидно-осмотического давления в крови. В связи с вышесказанным, представляло интерес изучить влияние альбумина и других фракций белков плазмы крови на сохранность эритроцитов человека при холодовом шоке.

С помощью хроматографического разделения было получено 8 фракций белков плазмы крови (А, А1, А2, В, С, D, F, H). Фракция А1 по молекулярной массе соответствовала альбумину. Полученные белковые фракции, а также лиофилизированный альбумин человека

были использованы нами в исследовании холодового шока. Эритроциты предварительно инкубировали в средах, содержащих 0,15М NaCl и сахарозу разной молярности (0 – 0,9 М) при 37°C, а затем переносили в 1,2М NaCl (37°C) и охлаждали до 0°C. Белки добавляли на этапе прединкубации. Выявлено защитное влияние среды содержащей 0,15М NaCl и 0,3 - 0,5 М сахарозу. Это может быть связано с включением осмотического механизма нарастания устойчивости, в основе которого лежит модификация взаимодействия цитоскелета с липидным бислоем мембраны в области связей белок полосы 3 - анкирин - цитоскелет.

Присутствие А, А2, В, С, D, F, H белковых фракций плазмы крови не оказывает какого-либо влияния на чувствительность клеток к повреждению при холодовом шоке. В присутствии альбумина наблюдается повышение устойчивости эритроцитов к холодовому шоку (как выделенного нами из плазмы крови альбумина (фракция А1), так и лиофилизированного реактива альбумина) на 20-30%. Возможно, защитный эффект альбумина в условиях холодового шока эритроцитов связан с влиянием на форму клеток и отсутствие такового при влиянии других белковых фракций.

ИССЛЕДОВАНИЕ ХРОМОСОМНОГО ПОЛИМОРФИЗМА ШТАММОВ *ACREMONIUM CHRYSOGENUM*

Думина М.В., Домрачева А.Г., Новак М.И., Бартошевич Ю.Э., Эльдаров М.А.,
Жгун А.А.

Учреждение Российской академии наук Центр «Биоинженерия» РАН, Москва (Россия)

E-mail: *DuminaMaria@gmail.com*

Acremonium chrysogenum - природный продуцент бета-лактамного антибиотика цефалоспорина С (цефС), исходной субстанции для производства полусинтетических антибактериальных препаратов пяти поколений. Промышленный интерес к культуре стимулировал работы по созданию штаммов с повышенным выходом антибиотика.

В ходе исследования нами было осуществлено фракционирование хромосом двух штаммов *A. chrysogenum*, существенно различающихся по способности продуцировать цефалоспорин С, посредством пульс-электрофореза в контролируемом гомогенном электрическом поле CHEF-DRIII. Были выявлены существенные различия в размерах хромосом III-V штамма дикого типа *A. chrysogenum* ATCC11550 (уровень продукции цефС 15-50 мг/л) и штамма-суперпродуцента *A. chrysogenum* 26/8 (цефС – до 25-30 г/л). Размер генома штамма дикого типа составляет 30,8±1,5 м.п.н.; а его мутантного аналога *A. chrysogenum* 26/8, по нашим данным, снижен до 29,9±1,5 м.п.н.

Саузерн-блот гибридизация с зондом *cefT* на кластер «ранних» генов и *cefEF* на кластер «поздних» генов показала локализацию соответственно на VI и I хромосомах в обоих анализируемых штаммах, а также отсутствие их дупликаций. Таким образом, показано, что хромосомный полиморфизм высокопродуктивного штамма *A. chrysogenum* 26/8 не связан с транслокациями либо увеличением копийности кластеров генов биосинтеза цефалоспорина С.

НОВЫЕ БЕЛКОВЫЕ КОМПОНЕНТЫ ИНСУЛИРУЮЩИХ КОМПЛЕКСОВ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Стахов В.Л., Максименко О.Г., Георгиев П.Г., Бончук А.Н., Кырчанова О.В.,
Сахарова Т.А.

Учреждение Российской академии наук Институт биологии гена РАН, Москва (Россия)

E-mail: *stakhov@yandex.ru*

С тех пор, как первый белок с доменом «цинковые пальцы» был открыт, в 80-х годах XX века, большие успехи были сделаны в области изучения их функций. Было показано, что белки с цинковыми пальцами являются важными компонентами протеома высших эукариот и принимают участие в разнообразных клеточных процессах. Но, не смотря на их значимость, большинство белков с цинковыми пальцами до сих пор остаются неизученными.

Сотрудниками нашей лаборатории была собрана большая коллекция плазмид с кДНК *Drosophila melanogaster*, кодирующих данного рода белки (прежде всего, с цинковыми

пальцами С2Н2-типа). В настоящее время ведутся изыскания на предмет их возможного участия в: построении инсулирующих комплексов, сборке транскрипционного аппарата и организации хроматина. К настоящему моменту, были отобраны порядка 10 белков, большинство из которых носят нумерические названия, как потенциальные партнеры инсуляторных белков СР190 и dCTCF. Для многих из них небольшие внутренние интерактомы были построены. К большинству из них были получены антитела. В настоящее время ведутся работы по выявлению участков их связывания, в полногеномном масштабе.

ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ARG72PRO TP53 ГЕНА ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К РАЗВИТИЮ РАКА ЖЕЛУДКА В УЗБЕКИСТАНЕ

Убайдуллаева М.И., Турдикулова Ш.У.

Институт биохимии Академии наук Республики Узбекистан, Ташкент (Узбекистан)

E-mail: *Asal_81@inbox.ru*

Рак желудка - злокачественная опухоль, растущая из слизистой оболочки желудка, одна из наиболее часто встречающихся злокачественных опухолей человека. По статистике заболеваемости раком желудка остается одним из наиболее распространенных онкологических заболеваний в Узбекистане. Случаи летального исхода составляют 60 случаев на 100 000 населения, в сравнении с 20 на 100 000 в среднем в мире.

Анализ литературных данных показал, что наиболее статистически достоверным и наиболее часто встречающимся полиморфизмом ассоциированным с раком желудка является Arg72Pro замена в TP53 гене (OMIM no. 191170). Однако выявлены вариации между различными этническими группами, так повышенный риск был обнаружен в Азиатских популяциях по сравнению с Европеоидами, поэтому этот тип полиморфизма был также нами выбран для исследования у людей больных раком желудка в Узбекистане.

Для обнаружения полиморфизма гена TP53 и ассоциации с развитием рака желудка у больных в Узбекистане методом полимеразной цепной реакции нами были подобраны набор праймеров, необходимые для регистрации этого полиморфизма TP53 гена. Были подобраны условия проведения полимеразно-цепной реакции. Для выявления точечных мутаций была осуществлена рестрикция ферментом HindIII для мутации Arg72Pro гена TP53. Было собрано 210 образцов крови больных раком желудка из Республиканского Онкологического Научного Центра и Ташкентского Областного Онкологического Диспансера в 2010-2011 гг. В онкологии очень важна ранняя диагностика – чем быстрее выявлена опухоль и начато лечение – тем лучше результаты.

Поэтому на сегодняшний момент актуальной задачей является выявление полиморфизмов человека-хозяина на предмет ассоциации с развитием РЖ. Мы предполагаем, что имеется некоторая генетическая предрасположенность хозяина к развитию рака желудка и двенадцатиперстной кишки. Таким образом, полученные в работе результаты позволят создать основу для прогнозирования предрасположенности к заболеванию раком желудка.

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ДОМЕНА I РИБОСОМНОГО БЕЛКА L1 В ВЫПОЛНЕНИИ ЦЕЛЫМ БЕЛКОМ ЕГО ФУНКЦИЙ

**Баженова М.В., Костарева О.С., Никонова Е.Ю., Корепанов А.П., Тищенко С.В.,
Гарбер М.Б.**

Учреждение Российской академии наук Институт белка РАН, Пущино (Россия)

E-mail: *mvbaz@rambler.ru*

Рибосомный белок L1 в комплексе со специфическим участком 23S рРНК формирует L1-выступ рибосомы, способствующий высвобождению тРНК из E-сайта. Также в *Escherichia coli* белок L1, связываясь со специфическим участком на мРНК, ингибирует трансляцию L11 оперона, в котором находится его ген и ген рибосомного белка L11. На основании кристаллографических данных ранее в нашей группе было показано, что белок L1 взаимодействует с РНК в основном за счет первого домена.

Целью данной работы было определение роли домена I бактериального белка L1 в выполнении целым белком его функций в составе L1-выступа рибосомы и как белка-регулятора. Ранее нами был получен штамм *E.coli* (Δ L1 штамм), в котором ген белка L1 отсутствует. Клетки этого штамма растут в 2 раза медленнее клеток дикого типа. Рибосомы, выделенные из таких клеток (Δ L1 рибосомы), менее стабильны и синтезируют поли(Фен) в 3 раза медленнее рибосом «дикого типа».

При трансформации Δ L1 штамма плазмидами, обеспечивающими регулирующую экспрессию генов белка L1 и его домена I, эти белки встраиваются в рибосомы Δ L1 штамма и стабильность рибосом восстанавливается. Ростовые характеристики клеток Δ L1 штамма при синтезе белка L1 или его домена I *in trans* восстанавливаются до уровня контрольных клеток. Показано, что белоксинтезирующая активность рибосом, содержащих домен I белка L1, в бесклеточной системе трансляции ниже, чем активность рибосом, содержащих белок L1. Для оценки регуляции экспрессии генов L11 оперона *E.coli* по уровню синтеза продукта репортерного гена нами был создан ещё один Δ L1 штамм. Показана способность первого домена белка L1, наряду с целым белком, ингибировать экспрессию генов L11 оперона *E.coli in vivo*.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и Программы МКБ РАН.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ БАЗОВОГО РЕПЛИКОНА ПЛАЗМИДЫ БИОДЕГРАДАЦИИ НАФТАЛИНА pFME5 (INCP-7)

Волкова О.В., Кошелева И.А.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.Скрябина РАН;
Пушкинский государственный университет, Пушкино (Россия)

E-mail: volkova_o_v@inbox.ru

Гены биodeградации полициклических ароматических углеводородов и капролактама у псевдомонад часто локализованы на крупных конъюгативных плазмидах, относящихся к P-2, P-7 и P-9 группам несовместимости. До настоящего времени не были детально изучены механизмы поддержания, структурное разнообразие плазмид IncP-7 группы, не заложены основы их классификации, хотя плазмиды именно этой группы часто обнаруживаются в загрязненных почвах. Для облегчения изучения генетических детерминант поддержания IncP-7 плазмид целесообразно получение их базовых репликонов, включающих минимальный набор участков ДНК, обеспечивающих независимую репликацию и стабильное поддержание плазмиды.

В качестве модельной использовали плазмиду биodeградации нафталина pFME5 (80 т.п.н.). Методом лигирования HindIII-рестриктов плазмиды с кассетой, детерминирующей устойчивость к тетрациклину, получена генетическая конструкция (7 т.п.н.), способная к автономной репликации в пяти видах псевдомонад, но не *E.coli*, что может служить подтверждением сведениям об узком круге хозяев P-7 плазмид. С помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) и последующего секвенирования установлено наличие в полученном репликоне (pFME5mini) гена *repA*, кодирующего белковый инициатор репликации, а также кластера *par*-генов, отвечающих за сегрегацию плазмид. Делеционный анализ полученной конструкции выявил, что для репликации в клетках псевдомонад достаточно области *oriV*-*repA*, но для стабильного поддержания плазмиды в неселективных условиях необходимы гены *parW*, *parA*, *parB*.

Вычисленные аминокислотные последовательности *Par*-белков, кодируемых pFME5mini, на 96-100% идентичны соответствующим последовательностям pND6-1, pDK1, pL6.5, pWW53 и лишь на 72-95% - pCAR1. *RepA* более консервативен – 99-100% идентичности у всех известных P-7 плазмид. Нуклеотидная последовательность области начала репликации (*oriV*) pFME5 на 98-100% идентична *oriV* условной пока подгруппы pND6-1 и только на 82% - pCAR1.

Проводится анализ базовых репликонов P-7 плазмид, отличных по ПЦР-картине от pND6-1-типа.

МИКРОБНЫЕ АССОЦИАЦИИ, ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ ЗАГРЯЗНЁННОЙ НАФТАЛИНОМ ПОЧВЫ

Панов А.В., Кошелева И.А.

Пушинский государственный университет; Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.Скрябина РАН, Пушкино (Россия)

E-mail: panov_a_v@inbox.ru

В работе использовалась почва, отобранная вблизи г.Пушино. Предварительный микробиологический анализ почвы не выявил присутствия в ней бактерий-деструкторов нафталина, салицилата и нефтепродуктов. По-видимому, их численность составляла менее 10^2 колонеобразующих единиц на 1 г почвы. В качестве загрязняющего агента в лабораторных условиях использовался нафталин в концентрации 1 мг/г почвы. В результате наблюдалось повышение численности бактерий-деструкторов до 10^3 КОЕ на 1 г почвы.

На третьи сутки после загрязнения из почвы было выделено два отдельных аборигенных штамма-деструктора нафталина и две трудноразделимые бактериальные ассоциации. Оказалось, что обе ассоциации состоят из штамма-деструктора и штамма, не потребляющего нафталин в качестве источника углерода и энергии. С помощью рестрикционного анализа 16S рДНК выделенные штаммы-деструкторы нафталина были отнесены к виду *Pseudomonas fluorescens*. Была также определена нуклеотидная последовательность 16S рДНК двух других штаммов, составлявших бактериальные ассоциации. По результатам анализа оба штамма были отнесены к роду *Paenibacillus*. Последующая Вох-ПЦР показала, что штаммы псевдомонад из ассоциаций идентичны, а штаммы пенибацилл – отличны друг от друга. Выделенные штаммы бактерий *Paenibacillus sp.* продуцируют экзополисахариды (до 5 г/л среды), которые являются природным носителем для псевдомонад, позволяя последним лучше переносить неблагоприятные условия. В литературе известен факт создания искусственных ассоциаций бактерий *Paenibacillus sp.* и *Pseudomonas fluorescens* для более успешной ремедиации загрязнённых почв. Природные ассоциации такого типа выделены впервые.

Дальнейшие исследования показали, что все четыре штамма-деструктора нафталина имеют плазмиды IncP-9 группы несовместимости, которые содержат необходимые гены для деградации нафталина, причём ген большой субъединицы нафталин-1,2-доксигеназы соответствует типу C18 (doxB *Pseudomonas sp.* C18 и nahAc *Pseudomonas putida* G7), а ген салицилатгидроксилазы аналогичен гену nahG типа pDTG1 (*Pseudomonas putida* NCIB9816 (pDTG1)).

ЭКСПРЕССИЯ МЕМБРАННЫХ МАРКЕРОВ ЭФФЕКТОРНЫХ И РЕГУЛЯТОРНЫХ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У РАБОТНИКОВ ПО «МАЯК»

Лукьянова Т.В., Кириллова Е.Н., Егоров А.Н.

ФГУП Южно-Уральский институт биофизики ФМБА России, Озерск (Россия)

E-mail: kirillova@subi.su

В настоящее время недостаточно изучена функциональная активность мембранных белков лимфоцитов разных фенотипов у работников атомного производства и у лиц, проживающих в зоне влияния ПО «Маяк» (контроль). Известно, что лимфоциты обладают набором мембранных структур, осуществляющих запуск и регуляцию иммунных процессов. Поэтому есть необходимость изучения активности мембранных рецепторов у людей, подвергшихся длительному радиационному воздействию.

Цель работы – оценка состояния клеточного звена иммунитета у работников ПО «Маяк» в отдаленном периоде длительного внешнего γ -облучения или сочетанного радиационного воздействия (γ - и α -облучение инкорпорированным ^{239}Pu) с разной дозовой нагрузкой.

На проточном цитофлюориметре Vesman Coulter (США) с использованием специфических моноклональных антител проведено фенотипирование лимфоцитов периферической крови. Было исследовано содержание Т-лимфоцитов (Т-л) следующих фенотипов: Т-хелперы – Т-х; Т-киллеры – Т-к; натуральные киллеры – НК; НКТ-лимфоциты; активированные Т-л; Т-регуляторные клетки ранней и поздней активации. Результаты исследования показали, что у профессионалов предприятия содержание эффекторов врожденного (НК) и приобретенного (В-

л, Т-л, Т-х, Т-к) иммунитета не отличалось от показателей в контроле. Однако была выявлена достоверная зависимость между количеством Т-х (снижение с увеличением дозы внешнего облучения) и Т-к (увеличение с повышением активности плутония в организме) и уровнем облучения. Повышение экспрессии мембранных белков активированных и регуляторных Т-л свидетельствует о напряженности Т-клеточного звена иммунитета при сочетанном облучении.

В результате проведенных исследований отмечено, что изменение экспрессии мембранных рецепторов эффекторных и регуляторных лимфоцитов и соответственно их содержание в крови свидетельствует о компенсаторных перестройках в иммунном гомеостазе профессионалов атомного производства, зависящих от вида и уровня облучения.

РАЗРАБОТКА IN VITRO ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ОЦЕНКИ ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ АРИТМОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

Антипина Е.И., Садовников С.В., Ямиданов Р.С., Вахитова Ю.В.

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и генетики
Уфимского научного центра РАН, Уфа (Россия)

E-mail: *katrin-antipina@bk.ru*

Кардиотоксичность лекарственных препаратов является одним из серьезных осложнений фармакотерапии. Проаритмогенные свойства некоторых лекарственных средств обусловлены блокадой калиевого канала Kv11.1 (hERG), что приводит к пролонгированию фазы реполяризации кардиомиоцитов и развитию опасной для жизни желудочковой тахикардии. В настоящее время существует ряд подходов, позволяющих выявлять проаритмогенные свойства веществ, в частности, электрофизиологический метод детекции калиевых токов. Однако использование этого метода не позволяет проводить одновременный анализ многих соединений. В этой связи высока потребность в создании тест-систем, основанных на иных принципах оценки проаритмогенных свойств веществ.

Не так давно был предложен способ, позволяющий оценивать наличие антиаритмических и проаритмогенных свойства веществ по их влиянию на изменение локализации калиевого канала hERG. В данной тест-системе используются 2 стабильные клеточные линии: одна из них экспрессирует ген hERG «дикого» типа (канал локализуется на поверхности мембраны), другая – мутантную форму канала, с точковой мутацией G601S. Как известно, данная мутация приводит к изменению локализации канала (локализуется в эндоплазматическом ретикулуме). Обе векторные конструкции содержат последовательность, кодирующую эпитоп гена HA (гемагглютинин), для последующей хемилюминесцентной детекции результатов скрининга. Отметим, что существующий метод детекции не обеспечивает достаточной чувствительности и требует предварительного подсчета числа клеток. Нами предложен более точный способ оценки результатов скрининга с использованием проточной цитометрии.

В настоящее время нами получены клеточные линии, стабильно экспрессирующие рекомбинантные калиевые hERG каналы «дикого» и «мутантного» типов. Функциональная оценка работоспособности тест-системы проводилась с использованием известных блокаторов hERG канала. Сравнение данных о параметрах ингибирования hERG канала «эталонными соединениями», выявленных с помощью проточной цитометрии, с литературными (patch-clamp), позволило сделать вывод о возможности использования данного подхода для оценки потенциальных проаритмогенных свойств соединений.

АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ НЕКОДИРУЮЩЕЙ ТРАНСКРИПЦИИ НА АКТИВНОСТЬ ЭНХАНСЕРОВ *D. MELANOGASTER*

Давыдова А.И., Четверина Д.А., Ерохин М.М., Георгиев П.Г.

Учреждение Российской академии наук Институт биологии гена РАН, Москва (Россия)

E-mail: *anya_davydova@mail.ru*

Тканеспецифичная и различающаяся на разных стадиях развития организма активация транскрипции генов высших эукариот зависит от активного статуса цис-регуляторных ДНК-элементов: промотора гена, на котором собираются белки основного транскрипционного

комплекса, и энхансеров, которые, посредством регуляторных белков, усиливают транскрипцию. В активности энхансеров можно выделить две составляющие: активационную (способность значительно увеличивать транскрипцию гена-мишени) и коммуникативную (способность взаимодействовать с промотором на большом расстоянии). В данной работе проведено исследование влияния некодирующей транскрипции на активность энхансеров генов *white* и *yellow* *Drosophila*.

Основным подходом в реализации данного проекта было создание трансгенных конструкций с последующей интеграцией их в геном *Drosophila* путем микроинъекции плазмидной ДНК в эмбрионы. Было протестировано влияние транскрипции на активность энхансеров с индуцируемого UAS-промотора (минимальный промотор гена *hsp70* под контролем сайтов связывания для белка-активатора дрожжей GAL4). Для индукции высокого уровня транскрипции через исследуемые энхансеры, трансгенные линии скрещивались с линией, несущей ген GAL4-активатора под контролем сильного тубулинового промотора.

В результате было установлено, что транскрипция, проходящая через энхансеры генов *white* и *yellow*, инактивирует способность энхансеров усиливать транскрипцию генов на расстоянии (коммуникативную активность). Показано, что наблюдаемый эффект не связан с конкуренцией энхансеров за сигнал промотора. Дополнительно было продемонстрировано, что наличие в системе терминатора транскрипции стабилизирует экспрессию трансгена, предотвращая репрессивный эффект транскрипции на энхансеры.

Полученные данные свидетельствуют о возможности наличия дополнительного механизма, контролирующего способность энхансеров активировать транскрипцию.

Данное исследование было проведено при поддержке РФФИ (грант № 09-04-00903-а), гранта Президента РФ МК-3421.2011.4.

ИЗУЧЕНИЕ САЙЛЕНСЕР-БЛОКИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ WARI- ИНСУЛЯТОРА *D. MELANOGASTER*

Ерохин М.М., Четверина Д.А., Георгиев П.Г.

Учреждение Российской академии наук Институт биологии гена РАН, Москва (Россия)

E-mail: yermxbio@yandex.ru

Инсуляторы классически определяются двумя их экспериментально установленными свойствами: энхансер-блокирующей и барьерной активностями. Инсуляторы характеризуются асимметричностью действия: они блокируют действие энхансера (энхансер-блокирующая активность) только если расположены между ним и промотором гена. Барьерная активность инсуляторов ограничивает распространение гетерохроматина и, как следствие, репрессию гена. Обе активности инсуляторов необходимы для сайленсер-блокирующей активности инсуляторов, т.е. способности блокировать репрессию, опосредованную белками группы Polcomb (PRE-элементами). Недавно нами был обнаружен инсулятор, названный Wari. Этот инсулятор находится в геноме между геном *white*, отвечающим за пигментацию глаз, и геном CG32795.

Анализ сайленсер-блокирующей активности Wari-инсулятора был проведен на трансгенных линиях *Drosophila*; для характеристики белков инсулятора использовался метод иммунопреципитации хроматина.

Было показано, что ранее обнаруженная 368 п.н. функциональная область Wari-инсулятора достаточна для блокирования репрессии, опосредованной сайленсером. Хотя Wari-инсулятор не содержит сайты связывания для известных ДНК-связывающих инсуляторных белков, белки E(y)2 и CP190 взаимодействуют с Wari-инсулятором *in vivo*. Известно, что данные белки взаимодействуют с Su(Hw)-зависимыми инсуляторами. Вполне вероятно, что рекрутирование данных инсуляторных компонентов на ДНК-последовательность Wari-инсулятора происходит за счет пока не известных ДНК-связывающих инсуляторных белков. Кроме того, мы показали, что частичная инактивация белка E(y)2 за счет введения мутации *e(y)2u1*, нарушает только сайленсер-блокирующую, но не энхансер-блокирующую активность Wari-инсулятора.

Таким образом, белок E(y)2 необходим для сайленсер-блокирующей активности Wari-инсулятора.

Данное исследование было проведено при поддержке РФФИ (грант № 09-04-00903-а), гранта Президента РФ МК-3421.2011.4.

АНАЛИЗ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ 1A2- И WARI-ИНСУЛЯТОРОВ С ПРОМОТОРАМИ ГЕНОВ YELLOW И WHITE *D. MELANOGASTER*

Четверина Д.А., Ерохин М.М., Давыдова А.И., Георгиев П.Г.

Учреждение Российской академии наук Институт биологии гена РАН, Москва (Россия)

E-mail: dchetverina@yandex.ru

Инсуляторы – специализированные регуляторные элементы, участвующие в модуляции взаимодействий между энхансерами и промоторами. Несмотря на большое количество исследований, роль инсуляторов в регуляции транскрипции *in vivo* остается слабо изученной. Ранее было обнаружено, что непосредственно с 3'-стороны от генов yellow и white *Drosophila* располагаются инсуляторы 1A2 и Wari, соответственно. В данной работе было протестировано наличие функциональных взаимодействий инсуляторов с промоторами генов-мишеней.

Способность инсуляторов взаимодействовать с промоторами генов была протестирована *in vivo* с использованием модельной трансгенной системы, основанной на неспособности GAL4-активатора дрожжей стимулировать транскрипцию на дальнем расстоянии.

В результате было показано, что 1A2- и Wari-инсуляторы способны взаимодействовать с промоторами генов yellow и white, соответственно, формируя «генные петли». Показано, что 5'-регуляторные области данных генов, необходимые для взаимодействия с энхансерами, не играют роли во взаимодействии с инсуляторами. Исследована специфичность взаимодействующих инсулятор-промоторных пар. Кроме того, делеция Wari-инсулятора за геном white приводит к значительному снижению транскрипции гена white, что свидетельствует о способности инсуляторов поддерживать базовый уровень транскрипции генов.

Мы предполагаем, что взаимодействие инсуляторов с промоторами генов играет важную роль в регуляции транскрипции.

Данное исследование было проведено при поддержке РФФИ (грант № 09-04-00903-а), гранта Президента РФ МК-3421.2011.4.

СОЗДАНИЕ ВАРИАНТА ГЕНА СВИНОГО α -ИНТЕРФЕРОНА С ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬЮ, ОПТИМИЗИРОВАННОЙ ДЛЯ ЭКСПРЕССИИ В *E. COLI*

Потапович М.И., Прокулевич В.А.

Белорусский государственный университет, Минск (Беларусь)

E-mail: mpatpovich@mail.ru

Интерфероны – это факторы белковой природы, осуществляющие широкие контрольно-регулирующие функции, направленные на сохранение клеточного гомеостаза, важнейшими из которых являются антивирусная, иммуномодулирующая и антипролиферативная.

В последнее время в животноводстве остро стоит проблема лечения и профилактики ряда высокоопасных заболеваний вирусной этиологии, в связи с чем возрос интерес к разработке и созданию эффективных лекарственных препаратов для животных. Получение рекомбинантного свиного α -интерферона в клетках прокариот может стать основой для создания новых лечебно-профилактических препаратов для животноводства.

Из литературных данных известно, что различие в частоте встречаемости синонимических аминокислотных кодонов в клетках про- и эукариот может являться одной из причин отсутствия или недостаточно высокого уровня экспрессии гетерологичных генов в бактериальных клетках.

Проведенный анализ показал, что в структурной части гена свиного α -интерферона имеется 19 редко встречающихся в *E. coli* аминокислотных кодонов (аргинин – 14 кодонов, пролин – 3 и глицин – 2 кодона). С помощью сконструированных 14 праймеров методом ПЦР в природном гене свиного α -интерферона были заменены редко встречающиеся в *E. coli* кодоны.

На следующем этапе амплифицированная последовательность гена свиного α -интерферона была клонирована в составе вектора экспрессии рЕТ24b(+) в клетках *E. coli* BL21 (λ DE3). После индукции ИПТГ в бактериальных клетках наблюдалось накопление белка, соответствующего по молекулярной массе свиному α -интерферону (около 19 кДа). Следует отметить, что при клонировании нативной последовательности гена свиного α -интерферона в той же системе, образования соответствующего продукта после индукции не наблюдалось.

Таким образом, на основании полученных результатов можно сделать вывод, что различия в частоте встречаемости синонимических аминокислотных кодонов у *E. coli*, и *Sus scrofa* оказывают решающее влияние на накопление в бактериальных клетках свиного α -интерферона.

ДИНАМИКА ПОТЕРИ ФАКТОРА ДРОЖЖЕВОГО ПРИОНА [PSI+] ПОД ВЛИЯНИЕМ МУТАЦИЙ В N-ДОМЕНЕ БЕЛКА Sup35

Бондарев С.А.¹, Трубицина А.П.¹, Каява А.В.², Журавлева Г.А.¹

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург (Россия)

²Centre de recherche de biochimie macromoleculaire, Montpellier (France)

E-mail: stanislavspbgu@gmail.com

Основываясь на современных данных генетики и молекулярной биологии прионы можно определить как агенты белковой природы, способные передаваться от одного организма к другому. Возможность передачи прионов от одного организма к другому или же в чреде поколений основывается на их способности индуцировать конформационные изменения определенных клеточных полипептидов. Несмотря на довольно продолжительную историю исследования этого феномена многие вопросы, связанные с механизмами стабилизации структуры прионов, остаются без ответа.

Одной из наиболее удобных и хорошо изученных моделей является фактор [PSI+] дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Его структурным белком является фактор терминации трансляции eRF3 (Sup35p). В прионной форме Sup35p откладывается в клетке в виде агрегатов, что приводит к его инактивации и, как следствие, к нонсенс-супрессии (распознаванию стоп-кодонов как значащих). Для объяснения структуры прионных агрегатов ([PSI+], [URE3]), в 2004 году была предложена модель параллельной суперскладчатой β -структуры (Kajava et al., 2004).

Для изучения этой теории мы получили пять аллелей SUP35, содержащие замены двух соседних амфипатических аминокислот на полярные в различных положениях (QQ > KK). Аллели получили названия *sup35-M1*, *sup35-M2*, *sup35-M3*, *sup35-M4*. В ходе последующих экспериментов на различных дрожжевых штаммах нам удалось показать, что *PNM2*, *sup35-M1* и *sup35-M11* приводят к потере нонсенс-супрессорного фенотипа (т.е. элиминации [PSI+]). Проведенные нами эксперименты позволили предположить гипотетический механизм, приводящий к потере приона в присутствии мутантной аллели.

Авторы благодарны А.С. Борхсениусу за предоставленные штаммы. Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (10-04-00237) и тематическим планом НИР СПбГУ (1.37.115.2011).

АНАЛИЗ ГГХ-ЗАВИСИМОЙ НОНСЕНС-СУПРЕССИИ В КЛЕТКАХ SACCHAROMYCES CEREVISIAE, НЕСУЩИХ ГЕН-ГОМОЛОГ ERF3 ИЗ MUS MUSCULUS

Широколобова Е.Д., Тарасов О.В., Журавлева Г.А.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: shirokolobova@inbox.ru

Прионы – это белки, способные существовать в двух или более структурно и, в ряде случаев, функционально отличающихся конформациях, одна из которых способна присоединять и конвертировать новые мономеры белка. Сравнение аминокислотной последовательности белков, способных к прионным превращениям, выявило ряд закономерностей в их первичной структуре. Высокое содержание глицина, глутамина,

аспарагина и тирозина в таких белках обеспечивает возможность образования ими вторичных структур в виде β -слоев, что приводит к последующей агрегации.

Ранее в нашей лаборатории было показано, что ген *mGSPT2*, кодирующий фактор терминации трансляции семейства eRF3 мыши *M. musculus*, способен вызывать omnipotentную нонсенс-супрессию при сверхэкспрессии в клетках дрожжей *S. cerevisiae* на фоне дизрупции гомологичного дрожжевого гена *SUP35*. Нами было выдвинуто предположение, что снижение точности терминации трансляции, ведущее к наблюдаемой нонсенс-супрессии, возможно, обусловлено прионизацией *mGSPT2* в клетках *S. cerevisiae*, поскольку сходный фенотип наблюдается в случае прионизации дрожжевого eRF3. В пользу данной гипотезы свидетельствует ряд фактов, полученных в наших экспериментах.

Нами было показано, что возникающая нонсенс-супрессия зависит от инкубации клеток на среде, содержащей гидрохлорид гуанидина (ГГХ) – один из агентов, элиминирующих прионы. Кроме того, с помощью полуденатурирующего электрофореза в агарозном геле мы обнаружили, что в клетках, проявляющих обнаруженный нонсенс-супрессорный фенотип, до их инкубации на среде с ГГХ наблюдаются белковые агрегаты, содержащие *mGSPT2*. После потери нонсенс-супрессорного фенотипа вследствие инкубации на среде с ГГХ такие агрегаты исчезают. В дальнейшем мы планируем изучить характер наследования изучаемого фенотипа и его зависимость от уровня экспрессии гена *mGSPT2* в дрожжевых клетках, что позволит определить возможность прионизации фактора терминации трансляции eRF3 млекопитающих.

Работа получила финансовую поддержку программы Президиума РАН «Происхождение и эволюция биосферы» и тематического плана НИР СПбГУ.

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ НОВЫХ ПРОТООНКОГЕНОВ

Фаттахова Д.Х., Крючков М.В., Аверков В.С., Плешкова Н.А., Катанаев В.Л.

Учреждение Российской академии наук Институт белка РАН, Пущино (Россия)

E-mail: altera-d@mail.ru

Сигнальные каскады управляют такими важными процессами, как дифференцировка, рост, деление, клеточная смерть. Из-за консервативности данных путей, молекулы, участвующие в них являются взаимозаменяемыми для большинства многоклеточных организмов.

Использованная нами модель рака на *D. melanogaster* заключается в гиперэкспрессии человеческого гена в развивающемся сложном глазе насекомого. Таким образом, ген, экспрессия которого нарушает нормальное развитие глаза дрозофилы, может нарушить нормальное деление клеток в организме человека, в том числе привести к раковому перерождению.

При поиске потенциальных протоонкогенов человека на основе высокопроизводительного трансгенеза дрозофилы кДНК-библиотекой раковой ткани молочной железы, было обнаружено, что некоторые гены, кодирующие рибосомные белки, а именно S12 и L3, при их гиперэкспрессии, вызывают нарушение строения глаза дрозофилы.

Трансформанты со встроенными генами белков S12 и L3 дали два варианта фенотипов. В случае L3 это увеличенный размер глаза, частичная потеря пигмента и нарушение формирования омматидиев. Возможно, это связано с тем, что L3 участвует в ранних этапах сборки рибосом. При экспрессии S12 наблюдался уменьшенный миндалевидный глаз, со слабо выраженными омматидиями. Повышенная экспрессия S12 описана во многих раковых опухолях: толстой и прямой кишки, шейки матки. Причем, в случае рака шейки матки S12 был предложен в качестве маркера на ранних стадиях перерождения.

Поиск механизмов работы новых протоонкогенов может привести к пониманию процесса перерождения клеток при различных видах рака и способствовать нахождению агентов, блокирующих эти механизмы.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ХИМЕРНЫХ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА «SH3-БЕРЖЕРАК»

Долгушин К.В.^{1,2}, Гущина Л.В.¹, Филимонов В.В.¹

¹Учреждение Российской академии наук Институт белка РАН, Пущино (Россия)

²Удмуртский государственный университет, Ижевск (Россия)

E-mail: jipers-linkers@rambler.ru

SH3 домены – важные с функциональной точки зрения составные единицы клеточных белков – киназ, липаз, ГТФаз и др. Химеры семейства «SH3-Бержерак» представляют собой SH3-домены, дистальные шпильки которых были искусственно удлинены на 8 аминокислотных остатков обладающих высокой собственной тенденцией к образованию антипараллельной бета-структуры. Изучение формирования вторичной структуры SH3-домена и изучение его ядра сворачивания являлось целью данной работы.

В результате работы было получено и охарактеризовано несколько вариантов химерных белков – SHH, SHA, SHD, SHE, SHK, SHA-Loop, различающихся аминокислотным составом шпилек. Гены химерных белков были экспрессированы в *E. coli*. Выделяли белки с использованием методов ионообменной и гель-фильтрационной хроматографий с последующей их детекцией ДСН-ПААГ электрофорезом. Однако, из-за сильной склонности некоторых белков из семейства к олигомеризации, часть из них выделялось только в денатурирующих условиях, в присутствии мочевины.

Данные сканирующей калориметрии свидетельствуют о том, что при нейтральных значениях pH развернутое состояние всех белков семейства «SH3-Бержерак» показывает довольно сильную тенденцию к образованию олигомеров и/или агрегатов. Такое поведение является типичным для большинства глобулярных белков вблизи их изоэлектрических точек. Тем не менее, в области pH от 2.5 до 3.5 и относительно низкой концентрации белков и низкой ионной силе тепловое разворачивание белков высоко обратимо, профили теплопоглощения не зависят от скорости прогрева или концентрации белка. С целью уточнения термодинамических, а также спектроскопических данных предпринимаются попытки получить точную информацию о структуре белков методами ЯМР И РСА.

Работа проведена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации (МК-2917.2010.4).

МОДЕЛЬ ДЛЯ АНАЛИЗА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПЕПТИДА A β И PRION PROTEIN В ДРОЖЖАХ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Коржова В.В., Антоненц К.С., Сайфитдинова А.Ф., Галкин А.П., Рубель А.А.

Санкт-Петербургский государственный университет; Санкт-Петербургский филиал

Института общей генетики им. Н.И.Вавилова РАН, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: viktoria.korzhova@gmail.com

В начале 1980-х годов учеными был описан принципиально новый тип инфекционных агентов – прионы. Их основу составляет нормальный клеточный белок PrP (Prion Protein), находящийся в аномальной измененной конформации. Заболевания, связанные с аномальной укладкой белков и образованием их агрегатов называют амилоидозами. Они делятся на инфекционные – прионные – и неинфекционные. Одним из наиболее распространенных неинфекционных амилоидозов является болезнь Альцгеймера, связанная с образованием агрегатов пептида A β . Показано, что пептид A β и белок PrP способны к взаимодействию: PrP в растворимой изоформе способен специфично связывать олигомеры A β , что может влиять на проявление болезни.

Для анализа возможности взаимодействия агрегатов PrP и пептида A β мы использовали дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. Мы получили дрожжевые штаммы, продуцирующие белок PrP или пептид A β , слитые с одним из флуоресцирующих белков – GFP, CFP или YFP. Методом флуоресцентной микроскопии мы показали: продукция белков A β -GFP и PrP-GFP приводит к формированию в дрожжевых клетках флуоресцирующих агрегатов в цитоплазме. Мы также провели биохимический анализ белков PrP-GFP и A β -GFP из дрожжевых клеток и установили, что их агрегаты проявляют биохимические характеристики, характерные для агрегатов из мозга

больных млекопитающих: устойчивость к действию протеиназы К и детергенов. Мы показали, что в дрожжевых клетках наблюдается колокализация агрегатов белков A_β и PrP, слитых с белками CFP и YFP. В дальнейшей работе планируется исследование возможности физического взаимодействия этих гибридных белков и их агрегатов в дрожжевых клетках методом FRET. Полученная нами модель позволяет изучать взаимодействия белков A_β и PrP в живых клетках и искать факторы, влияющие на эти процессы.

Работа выполнена при поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009 - 2013 годы.

ТРАНСПОРТИРОВКА РЕКОМБИНАНТНОГО ГЕНОМА ВИРУСА ЛЕСА СЕМЛИКИ IN VITRO И IN VIVO

**Василевская Е.¹, Скрастиня Д.¹, Плотнице А.², Дубурс Г.², Козловска Т.¹,
Заякина А.¹**

¹Латвийский биомедицинский центр; ²Латвийский Институт органического синтеза, Рига (Латвия)

E-mail: jelenav@biomed.lu.lv

Благодаря особенности эффективно инфицировать различные культуры клеток, представитель семейства альфавирусов - вирус леса Семлики (Semliki Forest Virus - SFV) является перспективным вектором транспортировки гетерологичного генетического материала. Также, обладая цитопатическим эффектом, рекомбинантный геном SFV становится привлекательным в применении его в противораковой генной терапии. В своей работе мы исследовали различные способы доставки рекомбинантной вирусной РНК, содержащей маркерный ген люциферазы (enhLuc), в культуры клеток *in vitro*, а так же, используя в качестве модели лабораторных мышей линии Balb C, исследовали распределение и экспрессию доставленного рекомбинантного SFV генома *in vivo*. Главной задачей являлось сравнение эффективности транспортировки вирусного генома путем натуральной вирусной инфекции и посредством препаратов трансфекции, как коммерческих – Lipofectamine™2000 (Invitrogen), ExGen500 (Fermentas), TurboFect™ (Fermentas), так и новых, синтезированных в Латвийском Институте Органического Синтеза.

Используемая в исследовании рекомбинантная геномная РНК - rnaSFV/enhLuc была синтезирована *in vitro*. Рекомбинантный вирус recSFV/enhLuc, был получен путем совместной электропорации клеток ВНК-21 рекомбинантными РНК, кодирующими структурные гены SFV, неструктурные вирусные гены и ген enhLuc. Используя метод ПЦР в реальном времени, был подсчитан титр рекомбинантного вируса recSFV/enhLuc относительно контрольного вируса, содержащего флюоресцентный ген EGFP. Эффективность трансдукции и трансфекции была проверена *in vitro* на культурах клеток ВНК-21, 4T1, PA1, Huh-7 и HepG2 по продукции фермента люциферазы спустя 16 часов после трансдукции/трансфекции. Экспрессию гена люциферазы *in vivo* в органах мышей определяли спустя 24 часа после интравенозной/интраперитонеальной инъекций вирусом – recSVF/enhLuc, либо рекомбинантной вирусной РНК - rnaSVF/enhLuc.

Результаты. Высокий уровень экспрессии гена люциферазы был обнаружен во всех инфицированных recSFV/enhLuc клеточных культурах. В тоже время было показано, что эффективность трансфекции rnaSVF/enhLuc-липосомными комплексами отличается и зависит, как от типа клеточной культуры, так и от примененного реагента. Экспрессия гена enhLuc *in vivo* была констатирована в легких, сердце, мозге, почках, печени и яичниках животных после инъекции, как вирусом rnaSVF/enhLuc, так и *in vitro* синтезированной вирусной РНК, при этом уровень продукции люциферазы отличался, в зависимости от примененного типа инъекции. Эксперименты, однозначно, показали возможность использования рекомбинантного генома SFV в создании потенциальных препаратов генной терапии, а так же в качестве транспортной формы, как естественной оболочки вируса, так и химически синтезированных липосом.

Эксперимент выполнен в рамках проекта «Исследования новых фармакомодуляторов и их нано-ассоциативных транспортных форм». Номер проекта 1DP/1.1.1.2.0/09/APIA/VIAA/041

НЕРАВНОВЕСНОЕ ПЛАВЛЕНИЕ МУТАНТНЫХ ФОРМ GFP

Поварницына Т.В., Мельник Т.Н., Глухов А.С., Мельник Б.С.

Учреждение Российской академии наук Институт белка РАН, Пущино (Россия)

E-mail: *tanchikpo@rambler.ru*

Основной целью наших исследований является изучение стабильности и скоростей сворачивания/разворачивания «сложных белков», то есть белков с несколькими промежуточными состояниями. В настоящее время для многих исследованных белков имеется достоверная информация об их стабильности и скоростях сворачивания/разворачивания.

Своим объектом исследования мы выбрали зеленый флуоресцентный белок (GFP), который впервые был обнаружен у медузы *Aequorea victoria* в 1962 году. В этом белке присутствует хромофор, обладающий сильной флуоресценцией, благодаря чему он широко используется для флуоресцентного мечения. Но, несмотря на широкое применение GFP в прикладных задачах, работ по изучению его физико-химических свойств мало, при этом полученные данные имеют противоречивый характер.

В предыдущей работе мы показали, что этот белок полностью развернут уже в 4.5M мочевины, а процесс его разворачивания в 7M мочевины заканчивается через 30 часов. Нами были подобраны наиболее оптимальные методы исследования GFP. Проводя электрофорез в градиенте мочевины, мы получаем информацию о стабильности GFP. Неравновесное плавление GFP позволяет получить информацию о скорости разворачивания этого белка.

В данной работе калориметрические исследования мутантных форм GFP позволяют изучить влияние гидрофобных аминокислотных остатков с большим количеством контактов на стабильность и скорости разворачивания GFP.

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ГЕНОВ KNAT1 И WOX5 В ОПУХОЛЕОБРАЗОВАНИИ У РЕДИСА

Творогова В.Е., Осипова М.А., Лутова Л.А.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: *krubaza@mail.ru*

Белки WOX5 и KNAT1 являются важнейшими транскрипционными факторами растений. KNAT1 предотвращает дифференцировку клеток в побеговой апикальной меристеме, главная функция WOX5 - поддержание пула недифференцированных клеток в апикальной меристеме корня. Также они участвуют и в некоторых других процессах.

Оба этих белка в конечном счёте влияют на деление клеток и их дифференцировку и взаимодействуют с различными гормонами.

Опухолообразование представляет собой аномальную пролиферацию клеток, и можно предположить, что в этот процесс вовлечены те же транскрипционные факторы и гормоны, что и в процесс нормальной пролиферации.

На нашей кафедре создана и поддерживается коллекция линий редиса (*Raphanus sativus*), многие из которых демонстрируют опухолообразование. Ранее было показано увеличение уровня экспрессии генов WOX5 и KNAT1 в опухолевых тканях редиса, однако детальный анализ их действия в опухолях не проводился. Целью нашего исследования является изучение роли генов KNAT1 и WOX5 в опухолообразовании. Задачи исследования включают анализ экспрессии генов KNAT1 и WOX5 в опухолях редиса, анализ последовательностей генов редиса RsKNAT1 и RsWOX5 и изучение влияния искусственного подавления экспрессии, а также сверхэкспрессии генов KNAT1 и WOX5 на опухолообразование.

В настоящее время мы создаём векторы для сайленсинга (используются фрагменты генов RsKNAT1 и RsWOX5 редиса), сверхэкспрессии (используются кДНК генов KNAT1 и WOX5 арабидопсиса) и GUS-анализа (используются промоторные области генов KNAT1 и WOX5 арабидопсиса) исследуемых генов с помощью системы клонирования Gateway. В дальнейшем планируется провести агробактериальную трансформацию редиса этими векторами и проанализировать полученные трансгенные растения.

Данное исследование позволит получить новые сведения о роли транскрипционных факторов KNAT1 и WOX5 в регуляции пролиферации и дифференцировки клеток, что расширит представления об их участии в развитии растения в целом.

ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ ПРОМЕЖУТОЧНОГО СОСТОЯНИЯ АПОМИОГЛОБИНА

Дудина М.А., Глухов А.С., Мельник Б.С.

Учреждение Российской академии наук Институт белка РАН, Пущино (Россия)

E-mail: mdudochka@mail.ru

Изучение процесса сворачивания белка - одна из важных и интересных проблем молекулярной биологии. В данной работе мы исследуем апомиоглобин, сворачивание и разворачивание которого проходит через образование промежуточного состояния.

Как известно из литературных данных, миоглобин содержит 8 альфа спиралей, обозначаемых буквами А, В, С, D, Е, F, G, H. Между Е и F спиральями расположено железосодержащее кольцо гема. Взглянув на структуру миоглобина, можно условно разделить белок на две части, которые стабилизируются гемом. В случае апомиоглобина отсутствие гема нарушает контакты между структурными элементами частей белка. Мы предположили, что «плохие» контакты между элементами структуры этого белка (из-за отсутствия гема) как раз и определяют свойства промежуточного состояния апомиоглобина. Если наши предположения верны, то введение дополнительной цистеиновой связи между В и G спиральями должно стабилизировать в основном промежуточное состояние.

Нами была сделана мутантная форма апомиоглобина с заменами аминокислотных остатков в 36 и 106 положениях на цистеины. Проведено равновесное разворачивание мочевиной полученного мутантного белка. Показано, что S-S связь между аминокислотами 36 и 106 стабилизирует промежуточное состояние этого белка по сравнению с белком, в котором S-S связь разорвана.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ В ГЕНОМЕ ЧЕЛОВЕКА cRSS, ИМЕЮЩИХ ТАКОЙ ЖЕ СТРУКТУРНЫЙ ПРОФИЛЬ КАК RSS ГЕНОВ Ig И TCR

Губский А.Ю.

Одесский национальный университет им. И.И.Мечникова, Одесса (Украина)

E-mail: gubsky2003@mail.ru

cRSS – это мотивы, которые при нарушении регуляции системы V(D)J-рекомбинации потенциально могут участвовать в образовании делеций или инверсий в геноме человека (вне локусов Ig и TCR генов). Известно, что в геноме человека существует много cRSS, однако, в настоящее время, нет данных о количестве, происхождении и геномной локализации cRSS, имеющих такой же структурный профиль как последовательности RSS функциональных V, D, J сегментов Ig и TCR генов человека (далее обозначены как fRSS).

Используя специально разработанные программные алгоритмы, мы обнаружили в геноме человека (версия Build 37.1) 16632 cRSS, имеющих такие же структурные характеристики (значения весовых коэффициентов) как и 88% последовательностей fRSS.

Мы установили, что как минимум 67 cRSS расположены в дупликациях V, D сегментов Ig, TCR генов. В целом, появление в геноме 37% обнаруженных cRSS вызвано случайными комбинациями нуклеотидов. Мы установили, что 39, 14, 7, 3 и около 1% cRSS являются структурными элементами неавтономных ретротранспозонов (L1M2, MIRb и т.д.), эндогенных ретровирусов и LTR-ретротранспозонов (HERVL-int, LTR16C и т.д.), простых повторов ((CA)_n, (CAGA)_n и т.д.), ДНК-транспозонов (Charlie10, Tigger2 и т.д.) и других типов повторов, соответственно. В 83% случаев последовательность cRSS полностью расположена в повторе. 6279 (38%) cRSS были обнаружены нами в 3842 (17%) белоккодирующих генах (ASMTL, GPC5 и т.д.). В 533 белоккодирующих генах (A2BP1, GRID1 и т.д.) cRSS теоретически могут участвовать в образовании делеций и/или инверсий экзонов.

Проведенное нами исследование показывает, что в геноме человека достаточно велико количество cRSS, имеющих такой же структурный профиль как и большинство последовательностей fRSS. Такие cRSS можно обнаружить во многих белкокодирующих генах человека. Их появление в геноме человека может быть вызвано дубликациями фрагментов генов Ig и TCR, распространением повторов и случайными комбинациями нуклеотидов.

ДИЗАЙН И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ СЕМЕЙСТВА ХИМЕРНЫХ БЕЛКОВ НА ОСНОВЕ СПЕКТРИНОВОГО SH3-ДОМЕНА

Ратникова Н.М.^{1,2}, Гущина Л.В.¹, Габдулхаков А.Г.¹, Филимонов В.В.¹

¹Учреждение Российской академии наук Институт белка РАН, Пущино (Россия)

²Удмуртский государственный университет, Ижевск (Россия)

E-mail: ratnikova-nm@rambler.ru

SH3-домены – небольшие глобулярные белки, являющиеся компонентами киназ и некоторых мультидоменных белков эукариот. Взаимодействуя с пролин-богатыми участками белков-партнеров, находящимися в конформации полипролиновой спирали II, они выполняют свои регуляторные функции. С целью выяснения параметров белок-пептидных взаимодействий в системе SH3-домен/лиганд, было сконструировано несколько последовательностей химерных белков по схеме: мет-лиганд-линкер-КП, где лиганды – это декапептиды с последовательностями GAPPLPESA (SH3-F1), GAPPLPPYSA (SH3-F2, -F3), GPPPLPPYSA (SH3-PKG), GAPPLPPYSA, линкеры – GNG (SH3-F1), GG (SH3-F2), KGGAG (SH3-PKG) GAG (SH3-F3), КП-круговой пермутант S19-P20s с разрывом в RT-петле.

Гены белков были сконструированы, клонированы и экспрессированы в клетках *E. coli*. Данные триптофановой флуоресценции и сканирующей микрокалориметрии свидетельствуют о том, что в белке с линкером в два аминокислотных остатка (GG) лиганд прочно сидит на месте связывания в ориентации II, в то время как в случае химерных белков с более длинными линкерами, комплекс SH3-домен/лиганд образуется, однако тепловой эффект разворачивания таких химер ниже по сравнению с вариантом SH3-F2. Определены термодинамические параметры образования новых кооперативных единиц и через них параметры связывания лигандов в нетипичной для этого белка ориентации. С целью уточнения термодинамических, а также спектроскопических данных предпринимаются попытки получить точную информацию о структуре белков методами ЯМР и РСА.

Работа проведена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации (МК-2917.2010.4).

СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МНОГОДОМЕННЫХ КОМПЛЕКСОВ МОТИВ-СПЕЦИФИЧЕСКИХ БЕЛКОВ И ДНК С УЧАСТИЕМ ГОМЕОДОМЕНОВ

Желтухин Е.И.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино (Россия)

E-mail: qtobeornottobe@rambler.ru

В целях исследования структурной организации комплексов гомеодоменов и их содомоменов на участке ДНК было рассмотрено 95+8 пространственных структур, полученных методом ЯМР и РСА. Среди рассматриваемых структур мы отмечаем какие подсемейства гомеодоменов имеют межмолекулярные белок-белковые взаимодействия с соседними доменами. Если гомеодомен и содомон образовывали специфические комплексы с ДНК, то мы также отмечаем мотив нуклеотидов на связываемом участке. Также принималось во внимание биологическая природа гомеодоменов и содомоменов, принадлежность к таксонам.

Привлекая данные по классификации гомеодоменов, мы установили, что каждое из рассматриваемых подсемейств гомеодоменов образует белок-белковый (гомеодомен-содомон) комплекс, характерный только для него. В образовании этих комплексов принимают участие наборы аминокислот (паттерны), которые находятся в определённых позициях на поверхности гомеодомена или в ближайших окрестностях от него. Гомологичные гомеодомены,

принадлежащих разным таксонам организмов, образуют со своими содоменами на связываемом участке ДНК гомологичные многодоменные комплексы.

Анализируя мотивы нуклеотидов на связываемом участке ДНК и привлекая данные по специфичности гомеодоменов к нуклеотидной последовательности мы установили, что рассматриваемые белок-белковые комплексы с участием гомеодоменов образуются на палиндромном участке ДНК (или способны их на нём образовать). Таким образом, можно отметить поворотнo-зеркальную симметричность комплексов относительно оси палиндрома, при этом гомеодомен связывается только с одной половинкой палиндрома. Мы отмечаем, что отдельные подсемейства гомеодоменов неспособны связываться с палиндромами и образуют многодоменные комплексы линейно.

Принимая во внимание характер организации многодоменных комплексов на палиндроме ДНК и специфичность гомеодоменов к мотиву нуклеотидов 5'-TNANNNN мы сформулировали принцип о непререкываемости (non-overlapping) областей узнавания.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ КЛАССИФИКАЦИЯ ГОМОЛОГИЧНЫХ ГОМЕОБОКСОВЫХ ГЕНОВ В ГЕНОМАХ ЖИВОТНЫХ

Желтухин Е.И.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино (Россия)

E-mail: *qtobeornottobe@rambler.ru*

На сегодняшний день гомеобоксовые гены обнаружены в геномах всех представителей эукариот. Многие из них имеют по несколько ортологов сходной архитектуры гена, сходного расположения в хромосомах, сходной структуры гомеобокса (гомеодомена). Во многих работах отмечена высокая степень подобия среди гомеобокс-содержащих генных кластеров НОХ и РОУ в геномах мыши и мухи. Для некоторых гомеобоксов установлены паралоги в геномах млекопитающих, членистоногих, нематод, растений и грибов.

В данной работе мы приводим дополненный и обновлённый список гомеобокс-содержащих генов в геномах человека разумного (около 350), домашней мыши (около 350) и плодовой мушки (около 100 шт). С использованием базы данных гомологичных генов/белков HomoloGene (и других баз) найдены паралоги и ортологи аннотированных гомеобоксовых генов.

Анализ доменной архитектуры гомеобоксовых и организации генов в хромосоме (очередность, направление, кластеризация генов) выявил аналогичную организацию гомеобоксовых генов в рассматриваемых трёх геномах. Такой анализ позволил логически объединить несколько разноимённых ортологов в подсемейства гомеобоксовых генов со сходной архитектурой и в подсемейства гомеобелков со сходной структурной и функциональной организацией. Нами отмечено много сходного в организации гомеобоксовых генов млекопитающих и членистоногих.

С привлечением данных по ДНК-мотив-специфичности гомеодоменов и данных о характере образования белковых комплексов гомеодоменов с содоменами можно заключить, что каждая выявленная нами классификационная группа гомеобоксовых генов имеет характерный только для неё гомеодомен и содомены, а значит и специфичность к определённому мотиву ДНК и образуемый ими многодоменный белковый комплекс. На основании этих результатов предложена структурно-функциональная классификация гомеобоксовых генов.

ОЛИГОМЕРИЗАЦИЯ БЕТА2-МИКРОГЛОБУЛИНОВ ЧЕЛОВЕКА С УКОРОЧЕННЫМИ АМИНОКИСЛОТНЫМИ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЯМИ

Федорова Я.В., Поляков Д.С.

Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины Северо-Западного отделения РАМН, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: *kedrovka126@rambler.ru*

Гемодиализный (β 2-микроглобулиновый) амилоидоз является осложнением длительной диализной терапии и характеризуется отложением амилоидных фибрилл, состоящих из β 2-микроглобулина (β 2M), в костях, связках и суставах. У пациентов с терминальными стадиями

хронической почечной недостаточности выведение $\beta 2M$ затруднено, и его концентрация в крови возрастает в десятки раз, что приводит к образованию амилоидных фибрилл. Помимо полноразмерного интактного $\beta 2M$, в фибриллах, выделенных у больных с гемодиализным амилоидозом, были обнаружены производные $\beta 2M$, лишённые шести ($\beta 2M\Delta 6$) и десяти ($\beta 2M\Delta 10$) N-концевых аминокислотных остатков. В задачи работы входило получение и исследование рекомбинантных аналогов этих укороченных вариантов $\beta 2M$.

Рекомбинантные $\beta 2M$ получали из клеток *E.coli* штамма BL21(DE3), трансформированных экспрессионными генетическими конструкциями pETb2m1.1 и pETb2m2.1, созданными ранее в лаборатории молекулярной генетики человека НИИЭМ СЗО РАМН. Конструкции были сконструированы на основе плазмиды pET22b(+). Векторы pETb2m1.1 и pETb2m2.1 включали нуклеотидную последовательность, кодирующую $\beta 2M$ человека без первых шести и десяти аминокислот соответственно, а также дополнительную последовательность на С-конце, соответствующую пяти гистидинам (для очистки белка на металл-хелатном никель-агарозном сорбенте) и стоп-кодону.

Белок в обоих случаях выделялся в виде телец включения, которые растворялись 8M мочевиной в присутствии β -меркаптоэтанола, затем проводилась аффинная очистка и электрофоретический анализ полученных фракций. Показано, что нанесенные пробы состояли из мономеров (11 кД), димеров (23 кД) и тримеров (34 кД) $\beta 2M\Delta 6$. Кроме того, наблюдалась дополнительная зона, соответствующая молекулярной массе около 25 кД. Димеры и тримеры образованы из мономеров за счет S-S связей. Комплекс, соответствующий дополнительной зоне, устойчив к восстановлению S-S связей при помощи β -меркаптоэтанола. Это может свидетельствовать о наличии не дисульфидных ковалентных взаимодействий, участвующих в образовании данного комплекса. Аналогичные результаты были получены для $\beta 2M\Delta 10$.

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *Dm NXF1* У *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Гинанова В.Р., Голубкова Е.В.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: alianta-altera@mail.ru

После появления в ходе эволюции ядерной оболочки и пространственного разобщения процессов транскрипции и трансляции возникла необходимость транспортировать вновь синтезированные мРНК из ядра в цитоплазму. Основными транспортными рецепторами мРНК у большинства эукариот являются белки эволюционно консервативного семейства NXF (Nuclear eXport Factor), главный из которых – NXF1.

Существование у дрозофилы и человека не только полноразмерных, но и укороченных форм белка NXF1, свидетельствует о том, что функции гена *nxf1* могут не ограничиваться ядерно-цитоплазматическим экспортом мРНК. Нами впервые выявлена семенниково-специфичная форма белка *Dm NXF1*, которая, как мы предполагаем, лишена последовательности NLS (сигнала ядерной локализации), соответствующей первым трем экзонам гена *Dm nxf1*.

У *Homo sapiens*, *Mus musculus* и *D.melanogaster* генам *nxf1* наряду с полностью сплайсированным транскриптом существуют и транскрипты с невырезанным гомологичным интроном, причём у *H.sapiens* такой транскрипт транслируется. Из-за нонсенс-кодона в начале невырезанного интрона этому транскрипту соответствует короткий белок, лишенный участка взаимодействия с ядерным поровым комплексом. Такой белок не может выполнять функцию экспорта мРНК. Функции короткого белка остаются неизвестными.

У *D.melanogaster* среди мРНК, выделенных из голов взрослых особей, транскрипт с невырезанным интроном является мажорным по сравнению с полностью сплайсированным транскриптом. Не известно, соответствует ли и у *D.melanogaster* транскрипту, сохранившему интрон, короткий белок, лишенный С-терминальных доменов. Имеющиеся в нашем распоряжении антитела к С-терминальному фрагменту белка *Dm NXF1* не позволяют идентифицировать белок, соответствующий транскрипту гена *Dm nxf1*, сохранившему интрон 5-6. Получение антител к фрагменту белка *Dm NXF1*, соответствующему первым трём экзонам

гена, является необходимым этапом для идентификации и изучения функций укороченных форм белка Dm NXF1.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АЛЬБУМИН-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА В ТЕСТ-СИСТЕМЕ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИКРОАЛЬБУМИНУРИИ

Бормотова Е.А., Гупалова Т.В.

Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины
Северо-Западного отделения РАМН, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: tvgupalova@rambler.ru

Из штамма DG 13 стрептококка группы G, выделенного из коровьего молока, получен рекомбинантный рецепторный ЧСА-связывающий полипептид, определена его аминокислотная последовательность, изучены параметры взаимодействия этого полипептида с человеческим сывороточным альбумином (ЧСА), создан штамм-продуцент рекомбинантного полипептида. Высокий выход рекомбинантного белка позволил использовать его в тест-системе для диагностики микроальбуминурии.

Микроальбуминурия является основным лабораторным критерием доклинической стадии диабетической нефропатии, а ее двукратное определение в течение года является обязательным условием исследования каждого больного сахарным диабетом. Однако, на сегодня отсутствует унифицированная методика определения микроальбуминурии, а диагностикумы западных фирм дороги и экономически не выгодны для использования в масштабных программах.

Для создания тест-системы по выявлению и количественному определению микроальбуминурии (экскреция альбумина с мочой 20 – 200 мкг/мл) был выбран конкурентный метод иммуноферментного анализа (ИФА), поскольку этот метод содержит минимальное число операций, требует незначительного расхода реагентов и легко может быть автоматизирован. Обычно используемые в ИФА антитела к альбумину были заменены рекомбинантным рецепторным полипептидом, а сам иммуноферментный принцип был трансформирован в рецепторноферментный (РФА). Такая замена создала определенные преимущества, поскольку позволила отстроиться от трудоемкого процесса приготовления специфических иммунных сывороток, стандартизовать используемый рекомбинантный полипептид и, тем самым, унифицировать всю систему анализа. Кроме того, применение рекомбинантного полипептида позволило избежать фоновых реакций, возможных для иммунологических реакций.

Принцип РФА заключается в следующем: на твердую поверхность планшета иммобилизуется рекомбинантный ЧСА-связывающий полипептид, на который наносятся анализируемые пробы мочи одновременно с меченым ЧСА. При такой постановке альбумин пробы и меченный ЧСА конкурируют за полипептид, иммобилизованный на твердой фазе. Концентрация альбумина в анализируемой пробе обратно пропорциональна ферментативной активности твердой фазы. При разработке тест-системы были подобраны условия анализа, обеспечивающие необходимую чувствительность и специфичность.

ИННОВАЦИОННЫЕ ПОДХОДЫ К УЛУЧШЕНИЮ РЕКОМБИНАНТНОГО ПРОИЗВОДСТВА WNT-ЛИГАНДОВ

Плешкова Н.А., Крючков М.В., Благодатский А.С., Катанаев В.Л.

Учреждение Российской академии наук Институт белка РАН, Пущино (Россия)

E-mail: Pillof@yandex.ru

В настоящее время для выращивания плюрипотентных эмбриональных стволовых клеток (ЭСК) человека широко используется подложка-фидер (от англ. feed – кормление, питание) из фибробластов мыши. При этом выращенные на подложке клетки стволовых клеток нельзя применять в регенеративной медицине или генной терапии (возможен перенос патогенных микроорганизмов и вирусов, отторжение трансплантата). Идеальным выходом является освоение культивирования линий ЭСК человека в бесфидерных условиях, что ликвидировало бы недостатки выращивания на подложке.

Выращивание популяций ЭКС в бесфидерных условиях довольно трудоемкий и дорогостоящий процесс, во многом потому, что некоторые компоненты среды, необходимые для развития клетки, нельзя синтезировать химическим путем. К таким компонентам относится Wnt-лиганд. Имеются возможности рекомбинантного производства Wnt-лигандов в культуре клеток, однако его количество мало и выделение его для практических нужд очень затратно и трудоемко.

В ходе работы по изучению новых протоонкогенов на модельном организме *D. melanogaster* нами была получена линия-трансформант с повышенной экспрессией рибосомного белка P0. По своему фенотипу линия-трансформант не отличается от линии-мутанта «Glazed». Эта линия-мутант характеризуется повышенной экспрессией Wnt-лиганда, что приводит к характерным нарушениям развития глаза.

Нами проведен ряд опытов, позволяющих предположить, что увеличение экспрессии белка P0 приводит к активации Wnt/Fz сигнального каскада. Такой эффект достигается путем увеличения количества или активности Wnt-лиганда. На данный момент нами ведется работа по изучению влияния P0 на увеличение продукции Wnt.

Знание механизма влияния P0 имеет не только теоретическую научную ценность. Появится возможность создать культуру клеток с повышенной экспрессией P0 и использовать её для получения большего количества чистого Wnt-лиганда для прикладных целей: как агентов для работы со стволовыми клетками и регенерационной медицины.

СОЗДАНИЕ КОЛЛЕКЦИИ ТРАНСГЕННЫХ МУШЕК *DROSOPHILA MELANOGASTER*, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ПРОТООНКОГЕНЫ ЧЕЛОВЕКА

Визерова К.В., Крючков М.В., Катанаев В.Л.

Учреждение Российской академии наук Институт белка РАН, Пущино (Россия)

E-mail: vk1988@mail.ru

Одним из актуальных подходов к изучению рака является моделирование заболевания на лабораторных животных. *Drosophila melanogaster* является удобным объектом не только из-за простоты и невысокой стоимости содержания, но так же изученности и компактности ее генома.

Сигнальные каскады, контролирующие деление, дифференцировку и смерть клетки, являются консервативными. Молекулы и рецепторы, участвующие в них, гомологичны и часто взаимозаменяемы для различных многоклеточных животных. Нарушения в функционировании сигнальных каскадов могут привести к злокачественному перерождению клетки. Мы стремимся выяснить, мутации каких генов вызывают эти нарушения. Знания о мишени позволят найти пути коррективки его экспрессии или активности и, следовательно, могут быть использованы для получения лекарственных препаратов.

Для микроинъекции эмбрионов дрозофилы мы используем кДНК, созданной на основе мРНК, выделенной из клеток рака молочной железы человека. Экспрессия встроенного гена происходит в развивающемся глазу насекомого. Система трансгенеза позволяет фенотипически детектировать встраивание гена по изменению окраски глаза мухи. При наблюдении нарушения развития глаза можно предположить, что встроенный ген является протоонкогеном.

Методика позволила получить три линии дрозофил, экспрессирующих протоонкогены. Секвенирование встроенных последовательностей привело к интересным результатам: в наблюдаемых линиях нарушение развития глаза было вызвано изменением экспрессии рибосомных белков.

Наличие таких удобных объектов дает большие возможности для проведения дальнейших экспериментов по исследованию механизмов возникновения рака. Метод успешно работает и планируется продолжать поиск протоонкогенов и расширять коллекцию.

РАСПРОСТРАНЁННОСТЬ МЕДЬСОДЕРЖАЩИХ ОКСИДАЗ СРЕДИ БАКТЕРИЙ – ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *STREPTOMYCES*

Юревич Л.И., Леонтьевский А.А.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.Скрябина РАН;
Пушкинский государственный университет, Пушкино (Россия)

E-mail: lyubov_yurevich@mail.ru

Лакказа – фермент, катализирующий окисление фенольных соединений кислородом. Фермент принимает участие в различных физиологических процессах – споруляции, морфогенезе, разложении природных соединений. Широкая субстратная специфичность, термостабильность позволяют использовать лакказу в химической, текстильной, пищевой промышленности. В состав молекулы фермента входят три медьсвязывающих центра, которые содержат четыре атома меди. Лакказа – трехдоменный фермент. Наиболее изученными продуцентами лакказы являются грибы. В последние годы было охарактеризовано несколько бактериальных лакказ, среди которых можно выделить ферменты классического типа, содержащие 3 домена, и так называемые малые лакказы с делецией второго домена. Двухдоменные лакказы практически не изучены. При этом остаётся спорным вопросом о широкой распространённости лакказ среди бактерий.

В данной работе проводился анализ геномов бактерий рода *Streptomyces* из базы данных NCBI на наличие генов лакказ. Сравнение аминокислотных последовательностей проводилось с использованием программ ClustalW2 и Alibee. Установлено, что из 27 проанализированных бактериальных геномов 24 несут в себе гены медных оксидаз. Из них шесть содержат гены только трёхдоменных ферментов, а десять – гены как трёх-, так и двухдоменных ферментов. Восемь геномов несут гены только двухдоменных оксидаз. Выравнивание аминокислотных последовательностей двух- и трёхдоменных оксидаз показало следующее: 17 из 18 аминокислотных последовательностей малых оксидаз имеют 100% гомологию в отношении микроокружения 4-х консервативных медь-связывающих мотивов. Выравнивание аминокислотных последовательностей трёхдоменных оксидаз из 16 геномов стрептомицетов с последовательностями охарактеризованных бактериальных лакказ показало степень гомологии консервативных мотивов и их микроокружения от 40 до 88%.

Выявлена широкая распространённость различных генов медных оксидаз среди бактерий – представителей рода *Streptomyces*. Вероятно, основными физиологическими функциями ферментов выступают участие в морфогенезе, процессах споруляции, а также устойчивость к ионам меди и фенольным веществам.

ПАТТЕРНЫ ЭКСПРЕССИИ AIF И CGRP В ЭПИФИЗЕ ПРИ СТАРЕНИИ

Катанугина А.С., Линькова Н.С.

Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН,
Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: sailornord@gmail.com

Возрастная инволюция нейроиммунноэндокринной системы характеризуется усилением процессов апоптоза, в том числе и в эпифизе. Также известно, что при старении в тканях эпифиза (пинеальной железы) снижается активность Ca^{++} -АТФазы, фермента, вовлеченного в кальциевый обмен. Однако до сих пор остается невыясненным вопрос о взаимообусловленности этих процессов.

В связи с этим целью исследования явился сравнительный анализ апоптотических процессов и интенсивности кальциевого обмена в эпифизе.

Аутопсийный материал пинеальной железы (n=11) был получен от людей в возрасте от 61 до 98 лет. Иммуногистохимическая реакция с антителами к маркеру апоптоза AIF (Abcam, 1:500) и к ген-кальцитонинному пептиду CGRP (Abcam, 1:500) была проведена авидин-биотиновым иммунопероксидазным методом. Препараты фотографировали при x400, затем с помощью системы компьютерного анализа микроскопических изображений «Видеотест-Морфология 5.0» оценивали площадь экспрессии в процентах и оптическую плотность

окрашенных областей. Для статистической обработки данных применялся регрессионный анализ в программе «SPSS Statistics 17.0».

Ни площадь, ни интенсивность экспрессии AIF и CGRP в эпифизе не зависят от возраста. Чтобы оценить интенсивность апоптотических процессов и кальциевого обмена, был введен индекс экспрессии, равный произведению площади экспрессии и оптической плотности окрашивания. Несмотря на то, что индекс экспрессии AIF и CGRP не коррелировал с возрастом, наблюдалась статистически значимая положительная ассоциация между экспрессией AIF и CGRP ($p=0,002$), причем в подгруппе мужчин эта зависимость была линейной ($y=0,86x - 0,51$, $p=0,004$).

Таким образом, интенсивность экспрессии апоптоз-индуцирующего фактора AIF и ген-кальцитонинового пептида CGRP не зависит от возраста и пола. Тем не менее, паттерны экспрессии обоих пептидов скоррелированы между собой, что может свидетельствовать о наличии общих для них регуляторных сигнальных молекул.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ *ORIGANUM VULGARE* L. И *HYPERICUM PERFORATUM* L.

Чижевкина Е.С., Колосов Л.А., Бельтюкова Н.Н., Боронникова С.В.

Пермский государственный университет, Пермь (Россия)

E-mail: nnbeltukova@gmail.com

Изучение на популяционном уровне лекарственных видов растений, наиболее подверженных антропогенному воздействию и нуждающихся в охране, перспективно для создания лекарств нового поколения на основе растительного сырья. К широко распространенным реликтовым видам растений, имеющим лекарственное значение, относятся *Origanum vulgare* L. (*Lamiaceae*) и *Hypericum perforatum* L. (*Hypericaceae*). Лекарственные средства *O. vulgare* обладают антимикробным, противовоспалительным, седативным действием, а *H. perforatum* – вяжущими и антимикробными свойствами, способны стимулировать регенерацию тканей. Молекулярно-генетический анализ ценопопуляций *O. vulgare* и *H. perforatum* в Пермском крае ранее не проводился.

В ходе исследований разработана модификация для *O. vulgare* и *H. perforatum* общепринятой для свежесобранных листьев покрытосемянных растений методики выделения ДНК. Для проведения ПЦР с использованием ISSR-метода (Inter-Simple Sequence Repeat) для каждого вида были отобраны наиболее информативные праймеры. У *O. vulgare* с применением 9 ISSR-праймеров было выявлено 58 чётких и воспроизводимых фрагментов ДНК, из которых 53 оказались полиморфными (91,37%). Число амплифицированных фрагментов ДНК *O. vulgare* варьировало в зависимости от праймера от 4 до 10, число полиморфных фрагментов – от 3 до 9, а их размеры от 170 до 2370 пн. У *H. perforatum* с применением 5 ISSR-праймеров было выявлено 122 амплифицированных ISSR-фрагментов, из которых 101 являются полиморфными (82,78%). Число амплифицированных фрагментов ДНК *H. perforatum* варьировало в зависимости от праймера от 15 до 32, а их размеры от 130 до 2430 пн. Число полиморфных фрагментов ДНК варьировало от 14 до 26.

Таким образом, оптимизация условий выделения ДНК и проведения ПЦР позволили провести молекулярно-генетический анализ *O. vulgare* и *H. perforatum* и определить основные показатели генетического разнообразия, то есть заложить научно-методологическую основу для дальнейших генетических исследований этих ценных лекарственных видов растений.

Работа выполнена в рамках АВЦП «Развитие научного потенциала высшей школы» (номер государственной регистрации темы НИР 01201054037).

ОСОБЕННОСТИ ИЗУЧЕНИЯ РЕГУЛЯТОРНЫХ ГЕНОВ ВИЧ-1 С ПОМОЩЬЮ АМПЛИФИКАЦИИ

Рыжов К.А., Алешкина М.А., Носик М.Н.

НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова РАМН, Москва (Россия)

E-mail: Alyoshkina-anna@rambler.ru

ВИЧ относится к семейству ретровирусов, подсемейство лентивирусов. Он обладает уникальным строением генома, заключающемся в наличии системы регуляторных генов *vif*, *vpr*, *tat*, *rev*, *nef*, *vpu*. Эти гены обладают выраженным влиянием на скорость репродукции вируса и его патогенность. Функции, выполняемые этими генами, могут изменяться на разных стадиях ВИЧ-инфекции. Поэтому изучение этих генов необычайно важно для более глубокого понимания механизмов прогрессирования ВИЧ-инфекции.

Наиболее распространенными молекулярно биологическими методами изучения генов является ПЦР и сиквенирование. Однако при изучении регуляторных генов ВИЧ необходимо учитывать ряд факторов, сильно влияющих на чувствительность этих методов, таких как высокая изменчивость ВИЧ, мозаичное строение генов *tat* и *rev* и перекрывающиеся рамки считывания. Наибольшую сложность вызывает особенно высокая вариабельность генома ВИЧ в областях расположения регуляторных генов. При подборе праймеров приходится также учитывать наличие субтипов, характерных для территории, на которой проводятся исследования.

На первом этапе исследования были подобраны праймеры к каждому регуляторному гену. Поскольку фрагмент гена *rev1* находится «внутри» гена *tat1*, а гена *tat2* «внутри» гена *rev2*, то выявляли соответственно фрагменты генов *tat1* и *rev2*. При попытке амплификации регуляторных генов в ходе одностадийной амплификации выяснилось, что они амплифицируются с малой чувствительностью, которая варьировала от 48% для генов *tat1* и *rev2* и до 74% для гена *nef*. Для повышения чувствительности выявления регуляторных генов были рассчитаны и синтезированы 2 пары внешних праймеров, расположенных в высококонсервативных участках генома. Данные праймеры амплифицировали фрагменты, содержащие гены *vif*, *vpr*, *tat1*, *rev1*, *vpu* и *tat2*, *rev2*, *nef*, соответственно.

Было показано, что такой вариант проведения ПЦР позволяет значительно повысить частоту выявления различных регуляторных генов. Так для генов *tat1* и *rev2* чувствительность достигала 83%, а для остальных генов (*vif*, *vpr*, *nef* и *vpu*) составила 93 - 95%.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СООТНОШЕНИЯ 25S/18S РРНК КАК КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ ПОКАЗАТЕЛЬ СТАБИЛЬНОСТИ РРНК

Насонов А.И., Степанов И.В., Плотников В.К.

ГНУ Краснодарский научно-исследовательский институт
сельского хозяйства РАСХН, Краснодар (Россия)

E-mail: vkpbio@mail.ru

В молекулярной биологии электрофоретическое соотношение 25S/18S рРНК широко используется для оценки качества выделенного препарата РНК. Считается, что препарат является качественным, если это соотношение равно двум. Однако ранее нами было показано на РНК зрелого зерна пшеницы, что соотношение мажорных компонентов рРНК может варьировать, причём, отражая особенности генотипа и физиологического состояния растения.

В настоящей работе мы использовали соотношения 25S/18S рРНК, как количественный показатель степени деградированности рРНК зрелого зерна различных сортов ячменя. Нами были выявлены некоторые «подводные камни» этого подхода. Эти данные особенно интересны в свете современной полемики относительно того насколько соотношение 25S/18S рРНК отражает качество мРНК.

В ходе работы мы установили, что этот показатель оказался зависимым от количества наносимой РНК: чем большее количество было нанесено на «дорожку» агарозного геля тем меньше было соотношение компонентов рРНК. Кроме этого некоторый разброс в этой величине проявлялся в зависимости от времени нанесения препарата РНК на гель, что также могло быть связано с изменением количества РНК в «кармане» геля в силу её диффузии. Причиной этой зависимости мы считаем изменение уровня фона при денситометрировании электрофореграммы: чем большее количество РНК было нанесено на «дорожку» геля, тем выше был уровень фона и тем ниже расчётная величина количества мажорных компонентов рРНК.

Очевидно, что использование соотношения рРНК, как количественного и сравнительного показателя, требует строго эквимольного нанесения препаратов РНК различных образцов.

Наиболее удобным для работы оказался невыделенный препарат РНК, полученный фенольной обработкой экстракта зерна, без последующих этапов доочистки и концентрации РНК высококонцентрированными солями и спиртом. При условии одинаковой навески муки в фенольном экстракте РНК различных сортов было эквимолярное содержание молекул.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ RAPD-АНАЛИЗА ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ДВУХ ВИДОВ ФАСОЛИ

Головань Л.В.

Харьковский национальный аграрный университет им. В.В.Докучаева,
Харьков (Украина)

E-mail: 11985kl@mail.ru

RAPD-анализ широко используется при построении генетических карт, идентификации растительного материала, маркировании хозяйственно-ценных признаков та установлении филогенетических связей между видами. Это направление является актуальным при изучении генетических и популяционных аспектов фасоли.

Мы изучали генетическое разнообразие между 15 образцами фасоли видов *Ph. vulgaris* и *Ph. multiflorus* исследовали методом RAPD-анализа с использованием 10 произвольных праймеров. ДНК выделяли цетавлонным методом. Продукты амплификации разделяли у 2% агарозном гели в присутствии бромистого этидия. Визуализацию результатов проводили в УФ-лучах.

RAPD-спектры содержали от 8 до 15 фрагментов ДНК. Размеры амплифицированных фрагментов составляли от 2759 п.н. до 100 п.н. Некоторые фрагменты были уникальные, присутствующими только в одном генотипе. В общей сложности протестировано 123 RAPD-локуса, из которых 116 локусов оказались полиморфными. В среднем уровень полиморфизма составил 94%. Максимальный уровень полиморфизма – 100% (все локусы полиморфные) отмечено для праймеров OAC20, OPU01, OI19, OPZ04, OPW10, P28, P37. Для праймеров OF10, OPW06, OPW04 отмечено наличие от 2 до 3 мономорфных локусов, которые присутствуют у всех образцов.

На основании данных полученных построена дендрограмма отражающая степень генетического сходства 15 образцов фасоли. Образцы распределились в три основных кластера. Первый кластер был представлен образцами, которые относятся к виду *Ph. vulgaris*. Во второй кластер вошли образцы которые относятся к виду *Ph. multiflorus*, а также один образец относящийся к виду *Ph. vulgaris*. Третий кластер был представлен образцами вида *Ph. vulgaris*, этот кластер оказался наиболее отдаленным от двух первых.

Таким образом, нами был установлен высокий уровень генетической изменчивости исследуемых образцов. Уникальные фрагменты, которые были найдены у отдельных образцов могут быть использованы как маркеры отдельного сорта. RAPD-анализ является информативным и эффективным методом для оценки уровня генетического разнообразия образцов фасоли и классификации исходного селекционного материала

СТРУКТУРНО-КИНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МУТАНТНОЙ ФОРМЫ РИБОСОМНОГО БЕЛКА L1 СО СПЕЦИФИЧЕСКИМ ФРАГМЕНТОМ

**Сарских А.В., Костарева О.С., Никонова Е.Ю., Габдулхаков А.Г., Сычева А.М.,
Тищенко С.В., Невская Н.А., Никонов С.В., Гарбер М.Б.**

Учреждение Российской академии наук Институт белка РАН, Пущино (Россия)

Учреждение Российской академии медицинских наук Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н.Ореховича РАМН, Москва (Россия)

E-mail: carckih@rambler.ru

Объектом наших исследований является рибосомный белок L1. Этот белок образует L1-выступ рибосомы, участвующий в высвобождении деацелированной тРНК из Е-сайта. Кроме

того, он имеет специфический участок связывания на мРНК и осуществляет регуляцию собственного синтеза по принципу «обратной связи».

Ранее в нашей лаборатории была определена структура комплексов, образованных белком L1 со специфическими фрагментами мРНК и рРНК. Анализ кристаллических структур показал, что наиболее важной для связывания белка с РНК является консервативная триада остатков Thr-Met-Gly. Треонин в этой триаде формирует обширный контакт с РНК, включающий две закрытые от растворителя консервативные водородные связи.

Нами была создана мутантная форма белка L1 из *Thermus thermophilus* с заменой консервативного треонина на валин (TthL1 T217V). Были проведены кинетические исследования взаимодействия белков TthL1 и TthL1 T217V со специфическими фрагментами 23S рРНК разной длины. Показано, что данная замена привела к значительному уменьшению (более чем на три порядка) времени жизни комплекса с минимальным фрагментом рРНК (содержит спирали 76 и 77 23S рРНК). Нами был получен второй фрагмент рРНК, который содержит дополнительно спираль 78 и представляет собой полноразмерный фрагмент рРНК, входящий в L1-выступ рибосомы. Кинетический анализ показал, что наличие спирали 78 значительно повышает сродство белка L1 к рРНК. Кд для комплекса TthL1 T217V с таким фрагментом рРНК была лишь на порядок выше Кд комплекса TthL1-рРНК. Мы получили кристаллы такого комплекса мутантного белка TthL1 со специфическим фрагментом рРНК, его структура была определена с разрешением 2.5 Å. Показано, что практически единственным отличием в структуре TthL1-rRNA и TthL1 T217V-rRNA комплексов является отсутствие в комплексе мутантного белка одной водородной связи, образованной атомом кислорода боковой цепи треонина.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (№ 10-04-00618) и Программы Президиума МКБ РАН.

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ВО ВКУСОВОЙ ТКАНИ ГЕНОВ КАЛЬЦИЙ-ЗАВИСИМЫХ ХЛОРНЫХ КАНАЛОВ

Абрамов И.С.

Пушкинский государственный университет;
Институт биофизики клетки РАН, Пущино (Россия)

E-mail: abriv@bk.ru

Во вкусовой почке млекопитающих функционируют три типа вкусовых клеток (тип I – тип III), отличающихся по своим морфологическим, молекулярным и физиологическим свойствам. В частности, в клетках типа I агонисты пуринергических и холинергических метаболитных рецепторов мобилизуют внутриклеточный Ca²⁺ и стимулируют входящий ток, активируя кальций-зависимые анионные каналы. Молекулярная природа последних остается неизвестной.

В связи с этим нами был предпринят анализ экспрессии во вкусовой ткани мыши генов ano1, ano2, best 1, best 2 и clcn1, продуктами которых являются каналные белки, формирующие Ca²⁺-активируемые хлорные каналы плазматической мембраны разнообразных клеток.

Анализ проводился методом обратнo-транскриптазной ПЦР, в качестве матрицы для обратнoй транскрипции была использована тотальная РНК, выделенная из желобоватого вкусового сосочка мыши. Ген-специфические праймеры были сконструированы таким образом, чтобы амплифицировать специфические продукты ожидаемого размера только с кДНК исследуемых генов, но не с геномной ДНК.

В результате проведенных экспериментов было обнаружено, что из 5 исследуемых генов во вкусовой ткани экспрессированы только ano1 и ano2. Белки Ano1 и Ano2 принадлежат к семейству аноктаминов, кодируемых у млекопитающих десятью генами. К настоящему времени получены доказательства, что среди представителей этого семейства только Ano1 и Ano2 формируют функциональные Ca²⁺-активируемые хлорные каналы. Активация Ano1 была также обнаружена при набухании клеток. Ano1 экспрессирован в различных тканях, его уровень повышен при патологических состояниях и в раковых клетках. Ano2 ранее был обнаружен в обонятельных нейронах и в фоторецепторных клетках сетчатки, иными словами, исключительно в сенсорных клетках.

Мы впервые получили свидетельства в пользу того, что этот ген экспрессируется еще в одном типе сенсорных клеток, а именно, во вкусовых клетках.

Работа была поддержана грантом РФФИ 100401105.

КЛОНИРОВАНИЕ, ЭКСПРЕССИЯ И СТРУКТУРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА С-КОНЦЕВОГО ФРАГМЕНТА БЕЛКА YB-1

Кретов Д.А., Гурьянов С.Г., Молочков Н.В., Котова Н.В., Овчинников Л.П.

Воронежский государственный университет, Воронеж (Россия)

Учреждение Российской академии наук Институт белка РАН, Пущино (Россия)

Учреждение Российской академии наук Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино (Россия)

E-mail: avicenna89@rambler.ru

Белок YB-1 является многофункциональным РНК- и ДНК-связывающим белком. Он состоит из трех доменов: аланин-пролин-богатого, домена холодового шока и С-концевого. Домен холодового шока состоит из пяти β -тяжей, уложенных антипараллельно в β -баррель, на концах которого располагаются петли, соединяющие β -тяжи. Структура аланин-пролин-богатого и С-концевого доменов белка YB-1 остается неустановленной. Целью данной работы явилось исследование структуры С-концевого фрагмента белка YB-1.

Оценка структуры С-концевого домена YB-1 с помощью алгоритмов предсказания вторичной структуры указывает на его неупорядоченность. Исследование С-концевого домена YB-1 затрудняется его высокой склонностью к агрегации. С использованием генно-инженерных подходов была получена генетическая конструкция, несущая нуклеотидную последовательность, которая соответствует второй половине С-концевого домена белка YB-1. Фрагмент YB-1₂₁₇₋₃₂₄ был синтезирован и очищен из клеток *E. coli* с помощью последовательных хроматографий и высаливания сульфатом аммония.

Для оценки структуры YB-1₂₁₇₋₃₂₄ были использованы методы спектроскопии кругового дихроизма и электрофорез в поперечном градиенте мочевины. Полученные данные указывают на отсутствие третичной и регулярной вторичной структуры в исследованном фрагменте. Константа ассоциации комплексов YB-1₂₁₇₋₃₂₄ с нуклеиновыми кислотами, определенная методами связывания на фильтрах и замедления подвижности комплексов в геле, составила $1 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1}$ при связывании с РНК и $0,6-2,8 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1}$ при связывании с ДНК, что сравнимо с константой связывания полноразмерного белка YB-1 ($1 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1}$ и $1-5 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1}$ соответственно).

Таким образом, можно предположить, что С-концевой фрагмент YB-1 является неструктурированным и играет важную роль при связывании белка YB-1 с нуклеиновыми кислотами.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».

ЭУКАРИОТИЧЕСКИЙ РИБОСОМНЫЙ БЕЛОК P0 ИЗ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

**Митрошин И.В., Никонова Е.Ю., Шкляева А.А., Кравченко О.В., Никонов С.В.,
Гарбер М.Б.**

Учреждение Российской академии наук Институт белка РАН, Пущино (Россия)

E-mail: ivan-mitroshin@rambler.ru

Несмотря на успех в определении кристаллической структуры эукариотических рибосом, остается один из наиболее подвижных и функционально важных участков 60S субчастицы рибосомы, называемый P1/P2-выступом, который не удается визуализировать целиком. Боковой P1/P2-выступ вовлечен в образование сайта связывания ГТФаз и играет важную роль во взаимодействии рибосомы с факторами трансляции и в контроле точности трансляции.

Белок P0 и два гетеродимера P1/P2 образуют пентамерный комплекс, который вместе с 28S рРНК формирует P1/P2-выступ. Белок P0 играет роль посредника между белками P1/P2 и 28S рРНК. Кроме того ген белка P0 человека является протоонкогеном.

Знание пространственной структуры изолированного P1/P2-выступа, а также структур отдельных элементов этого рибосомного выступа позволит уточнить модель эукариотической рибосомы.

Плазмида, несущая ген дрожжевого рибосомного белка P0 из *Saccharomyces cerevisiae* (SceP0), была любезно предоставлена группой Х.П. Баллеста (Мадрид, Испания), которая в течение многих лет ведет функциональные исследования этого рибосомного белка. Ранее белок SceP0 при выделении всегда содержался в нерастворимой фракции и выделялся только в присутствии детергентов. Мы подобрали условия экспрессии гена белка SceP0 и разработали методику его выделения без использования детергентов. На данный момент мы выделили белок SceP0 в нативном состоянии. Мы обнаружили, что при стоянии в растворе он нестабилен и расщепляется до стабильного фрагмента с молекулярной массой около 28 кДа. Мы рассчитали размер стабильного фрагмента и клонировали укороченный ген белка SceP0.

Работа финансировалась Программой МКБ РАН.

РАЗЛИЧИЕ ГЕННЫХ СЕГМЕНТОВ, КОДИРУЮЩИХ АУТОАНТИТЕЛА ПРОТИВ ИФН- γ У БОЛЬНЫХ РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ И ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ

Вихрова М.А.

Институт химической биологии и фундаментальной медицины
Сибирского отделения РАН, Новосибирск (Россия)

E-mail: vikhrova_m@mail.ru

Анти-цитокиновые антитела обнаружены в плазме крови больных аутоиммунными заболеваниями и здоровых людей. Однако роль таких антител до сих пор не полностью ясна. Известно, что цитокины играют важную роль в регуляции всех аспектов функционирования иммунной системы. В частности, изменения цитокинового статуса организма сопровождают развитие и течение многих аутоиммунных заболеваний, таких как рассеянный склероз, ревматоидный артрит, болезнь Крона, псориаз и т.д. Так, развитие рассеянного склероза сопровождается повышением концентрации интерферона (ИФН)- γ , плейотропного провоспалительного цитокина, обладающего иммуномодулирующими и антипролиферативными свойствами.

В нашем исследовании мы проводили сравнительный анализ репертуаров генных сегментов, кодирующих переменные домены тяжелых цепей аутоантител человека против ИФН- γ , циркулирующих в организме больных рассеянным склерозом и здоровых доноров.

В работе использовали «неиммунную» и «аутоиммунную» комбинаторные библиотеки scFv-антител человека, сконструированные на основе мРНК периферических лимфоцитов здоровых людей и больных рассеянным склерозом. Биопаннинг этих библиотек проводили независимо с использованием ИФН- γ человека. Из обеих библиотек отобрали scFv-антитела, специфически связывающие ИФН- γ . Были определены нуклеотидные последовательности, кодирующие отображенные антитела, проанализированы соответствующие им аминокислотные последовательности.

Показано, что VH-домены антител к ИФН- γ , отображенных из «неиммунной» библиотеки принадлежали к VH3 семейству, в то время как из «аутоиммунной» библиотеки отбирались разнообразные антитела, принадлежащие к VH1, VH3, VH4, VH5 и VH6 семействам.

ПРЕДПОЧТИТЕЛЬНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕННЫХ СЕГМЕНТОВ ПРИ ИММУННОМ ОТВЕТЕ ЧЕЛОВЕКА НА БЕЛОК P35 ОРТОПОКСВИРУСОВ

Хлусевич Я.А.

Федеральное государственное учреждение науки Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Кольцово (Россия)

Институт химической биологии и фундаментальной медицины
Сибирского отделения РАН, Новосибирск (Россия)

E-mail: khlusevichjana@mail.ru

Антиген-связывающий сайт антител кодируется генами, образованными комбинаторными перестановками из пяти генных сегментов: VH-, D- и JH-сегментами тяжелой цепи, и VL- и JL-сегментами легкой цепи. Полагают, что в ходе иммунного ответа отбираются В-клетки, несущие на поверхности рецепторы иммуноглобулинов, которые обеспечивают наилучшее связывание с антигеном. При этом использование генных сегментов, кодирующих иммуноглобулины, не является случайным. Существуют примеры, доказывающие предпочтительное использование определенных генных сегментов для кодирования антител, специфичных к различным вирусным белкам. Так, антитела против V3 домена белка gp120 ВИЧ-1 преимущественно кодируются генными сегментами VH5-51 D2-15 и JH3. Для кодирования антител против белка VP7 ротавирусов в основном используется генный сегмент VH1-46.

В данной работе анализировали генные сегменты, кодирующие вируснейтрализующие scFv антитела против белка p35 ортопоксвирусов – основного иммуногенного белка при развитии иммунного ответа в организме человека. Эти антитела были отобраны из иммунной комбинаторной библиотеки scFv антител человека, сконструированной на основе мРНК лимфоцитов периферической крови доноров, вакцинированных вирусом осповакцины. Отобранные антитела связывали вирус осповакцины, вирус оспы коров, вирус оспы обезьян, вирус натуральной оспы, а также вирус экстремелии. ScFv антитела кодируются генными сегментами VH, D, JH, VL и JL. Анализ этих генных сегментов показал, что антигенсвязывающие домены вируснейтрализующих анти-p35 антител кодируются преимущественно генными сегментами следующих подсемейств: VH3-9, D6-6, JH3, KV1-39, KJ1. По-видимому, именно эти генные сегменты кодируют полипептидные структуры, оптимально соответствующие иммунодоминантному эпитопу белка p35, консервативному для ортопоксвирусов.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ В ИЗУЧЕНИИ ФЕНОМЕНА ВОЗНИКНОВЕНИЯ

Токмаков С.В., Дубина Е.В., Мухина Ж.М.

Всероссийский научно-исследовательский институт риса, п. Белозерный,
Краснодар (Россия)

E-mail: lenakrug1@rambler.ru

В последнее время, высокую актуальность приобрела проблема краснозерных форм риса, особенно так называемых фенокопий районированных сортов риса в производственных и семеноводческих посевах. Они являются злейшими засорителями полей и наносят рисоводству ощутимый вред, резко снижая товарную ценность семян. Габитус краснозерных растений схож с таковым у районированных сортов и их трудно обнаружить при сортовых прополках. Несмотря на то, что рис – самоопыляемая культура, краснозёрный рис легко скрещивается с районированными белозёрными сортами.

Окраска зерновки риса обусловлена пигментацией склеренхимы и (или) перикарпа. Она может варьировать в широких пределах: пурпурная, красная, коричневая, желтая; возможны также варианты неполной окраски типа пятнистости (1).

Красная и красно-коричневая окраска зерновки определяется по крайней мере двумя парами локусов, местоположение которых, как и группы сцепления, установлены (2). Было показано, что ген Rc обеспечивает красновато-коричневую пятнистость на красно-коричневом фоне, а ген Rd кодирует красновато-бурую окраску всей поверхности зерновки, если он экспрессируется совместно с геном Rc. Ген Rd не способен вызывать окраску самостоятельно.

Установлено, что Rc аллели риса с окрашенным перикарпом отличны от Rc аллели белозёрного риса делецией в 14 пар нуклеотидов (3).

Используя молекулярное маркирование (например, SSR-маркеры), можно выявить степень генетического родства микросателлитных локусов ДНК между белозёрными сортами риса и их

«краснозёрными фенокопиями», что позволит сделать вывод о возможности возникновения последних посредством мутационного процесса или посредством переопыления белозёрных сортов краснозёрными сорно-полевыми формами.

Цель работы – изучить степень генетического родства белозёрных сортов риса Бластоник, Виктория, Изумруд, Павловский и Спринт с их «краснозёрными фенокопиями». Задачи исследования - произвести попарные сравнения аллельного состояния микросателлитных локусов сортов и их «краснозёрных фенокопий».

Нами изучен полиморфизм 15 микросателлитных локусов у пяти сортов риса и их «краснозёрных фенокопий».

В паре сорт/фенокопия Бластоник с помощью SSR-маркеров на основе ПЦП- анализа обнаружен полиморфизм по 14 из изученных 15 маркеров; Виктория и Павловский - по 13 маркерам; Изумруд и Спринт - по 12 маркерам.

Это позволяет сделать вывод о том, что по изученным маркерам исследованные сорта и их краснозёрные фенокопии имеют незначительное генетическое сходство. Это говорит о том, что данные фенокопии не могли произойти в результате точковой мутации, в случае которой аллельное состояние изученных микросателлитных локусов у белозёрных сортов и их «краснозёрных фенокопий» было бы идентичным, за исключением различий в нуклеотидной последовательности в месте мутации. Более вероятно, что изученные «фенокопии» возникли в результате переопыления краснозёрными сорно-полевыми формами районированных сортов. Работа продолжается.

КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА РИБОСОМНОГО БЕЛКА L1 ИЗ БАКТЕРИИ *AQUIFEX AEOLICUS*

Шкляева А.А., Никонова Е.Ю., Тищенко С.В., Габдулхаков А.Г., Гарбер М.Б.

Учреждение Российской академии наук Институт белка РАН, Пущино (Россия)

E-mail: annambt@mail.ru

Рибосомный белок L1 независимо и специфически взаимодействует с 23S рРНК и является частью бокового выступа большой субчастицы рибосомы, он состоит из двух доменов, соединенных между собой гибкой перетяжкой, которая позволяет доменам изменять свое взаимное расположение. Все определенные структуры архейных белков L1 имеют, так называемую, «открытую конформацию», в которой взаимное положение доменов таково, что РНК-связывающие участки оказываются доступными для молекул РНК. Иначе обстоит дело с бактериальным белком L1 из *Thermus thermophilus* (TthL1). В свободном состоянии он имеет «закрытую» конформацию, в которой домены сближены, и РНК-связывающие участки оказываются недоступными для молекул РНК. В комплексах же с фрагментами рРНК или мРНК этот белок имеет открытую конформацию, аналогичную той, что обнаруживается в архейных белках L1.

Для того чтобы выяснить является ли такое поведение особенностью только белка L1 из *T. thermophilus* или оно свойственно и другим бактериальным белкам L1, нами был получен и закристиаллизован белок L1 из гипертермофильной бактерии *Aquifex aeolicus* (AaeL1) в свободном состоянии и определена его пространственная структура.

Кристаллическая структура рибосомного белка L1 из бактерии *A. aeolicus* определена методом молекулярного замещения и уточнена до $R_{\text{crist}}=19.4\%$, $R_{\text{free}}=25.1\%$ при разрешении 2.1 Å. Белок состоит из двух доменов, соединенных гибкой перетяжкой. В полученной структуре домены сближены и образуют «закрытую» конформацию. Наличие закрытой конформации в структурах двух белков L1, кристаллизующихся в разных пространственных группах и принадлежащих разным бактериям, позволяет утверждать, что эта конформация является особенностью бактериальных белков L1 в свободном состоянии.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 10-04-00618) и Программы МКБ РАН.

МОДУЛЬНЫЕ ПРЕДШЕСТВЕННИКИ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ ПШЕНИЦЫ *TRITICUM KHARAE*

Уткина Л.Л., Пухальский В.А., Андреев Я.А.

Учреждение Российской академии наук Институт общей генетики им. Н.И.Вавилова
РАН; Институт биоорганической химии им. акад. М.М.Шемякина и
Ю.А.Овчинникова РАН, Москва (Россия)

E-mail: lyuba_utk@mail.ru

Несмотря на то, что в последние годы появились данные о последовательностях геномов ряда растений, оказалось, что даже наличие полной последовательности генома не позволяет точно предсказать структуру генов в нем, особенно это касается тех генов, для которых неизвестны гомологи, а также генов коротких пептидов и белков, образующихся из предшественников.

Ранее из семян пшеницы Кихара были выделены два гомологичных четырехцистеиновых пептида, которые обладают новой, не описанной ранее структурой. Кроме того, эти пептиды угнетают рост ряда фитопатогенных грибов в микромолярных концентрациях.

Целью данной работы было установить структуру генов этих новых пептидов. Для этого из зерен пшеницы на стадии молочной спелости была выделена РНК, на матрице которой с использованием методов обратной транскрипции и 3'- и 5'-RACE была получена полноразмерная кДНК целевых генов.

В результате были получены шесть последовательностей кДНК, кодирующие длинные предшественники. Каждый из них состоит из сигнального пептида и 5 или 7 цистеин-содержащих пептидов, разделенных сайтами протеолиза. Биологический смысл этого явления может заключаться в том, что активация экспрессии одного гена приводит к образованию нескольких защитных пептидов.

Было изучено изменение уровня экспрессии генов при воздействии биотических и абиотических стрессов. Установлено, что действие трех видов фитопатогенных грибов, повышенной температуры и повышенной концентрации соли приводит к повышению уровня экспрессии этих генов.

Кроме того, был проведен поиск гомологов изучаемых генов у других представителей злаковых, в том числе, у доноров геномов пшеницы Кихара. Оказалось, что почти у всех доноров геномов изучаемые гены присутствуют. При этом был обнаружен новый класс генов – гены, кодирующие предшественники шести пептидов.

МУЛЬТИФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ БЕЛОК YB-1 СПОСОБЕН ОБРАЗОВЫВАТЬ АМИЛОИДОПОДОБНЫЕ ФИБРИЛЛЫ

Гурьянов С.Г., Кретов Д.А., Никулин А.Д., Селиванова О.М., Овчинников Л.П.

Учреждение Российской академии наук Институт белка РАН, Пущино (Россия)

E-mail: sergey@vega.protres.ru

YB-1 является многофункциональным РНК- и ДНК-связывающим белком. Этот белок может регулировать транскрипцию и трансляцию мРНК и опосредовать ее локализацию на цитоскелете. YB-1 может предотвращать онкогенную трансформацию по PI3K/Akt-киназному пути, вызывать нестабильность набора хромосом и участвовать в изменении клеточного фенотипа. Повышенное содержание YB-1 в опухолевых клетках является неблагоприятным прогностическим признаком заболевания, поскольку этот белок участвует в возникновении множественной лекарственной устойчивости раковых клеток и способствует метастазированию опухолей.

При микроскопическом исследовании структуры YB-1 мы обнаружили, что в условиях высокой ионной силы (2 М LiCl) белок образует протяжённые фибриллы. Было обнаружено, что в этих условиях препараты YB-1 связывают специфичный к амилоидам краситель тиофлавин Т.

Для подтверждения амилоидоподобной природы фибрилл YB-1 препарат YB-1, инкубированный в присутствии 2 М LiCl, окрасили специфичным красителем конго красным. При этом в поляризованном свете наблюдалось характерное желто-зеленое окрашивание.

Кроме того, картина рассеяния рентгеновских лучей на ориентированном препарате фибриллярного УВ-1 указывает на наличие периодов 4,7 А и 10-11 А, что говорит о наличии амилоидной кросс- β -структуры.

В настоящее время исследуется возможность образования амилоидоподобных структур белком УВ-1 и его фрагментами в физиологических условиях.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».

ИССЛЕДОВАНИЕ РЕГУЛЯТОРНЫХ СВОЙСТВ АРХЕЙНОГО РИБОСОМНОГО БЕЛКА L4

Михайлина А.О., Сарских А.В., Тищенко С.В., Гарбер М.Б.

Учреждение Российской академии наук Институт белка РАН, Пущино (Россия)

E-mail: lisenok020388@mail.ru

В бактериях и археях экспрессия генов рибосомных белков в большинстве оперонов регулируется по принципу «обратной связи». Известно, что рибосомный белок L4 из *Escherichia coli* и *Vibrio cholerae* регулирует экспрессию генов рибосомных белков S10 оперона как на уровне трансляции, так и транскрипции. Показано, что детерминанты для связывания белка L4 находятся в 172-нуклеотидной нетранслируемой области мРНК S10 оперона. Несмотря на специфичность взаимодействия белка L4 с мРНК, участки связывания белка в разных организмах довольно сильно отличаются по нуклеотидной последовательности. В археях структура области соответствующей S10 оперону несколько отличается от бактериальной, первым геном этого оперона является ген рибосомного белка L3 (rpl3), причем 5'-нетранслируемая область мРНК не содержит детерминант, похожих на участки связывания бактериальных белков L4. К настоящему времени нет никаких доказательств регуляции S10-подобного оперона в археях на уровне трансляции.

Целью нашей работы было определить способность белка L4 *Methanocaldococcus jannaschii* (MjaL4) регулировать экспрессию генов белков своего оперона. Нами была создана генетическая конструкция, несущая фрагмент S10-подобного оперона *M.jannaschii*, который содержал 5'-нетранслируемую область (220нт) и ген первого белка оперона rpl3. Данная конструкция использовалась для исследования регуляторных свойств белка L4 *M.jannaschii* (MjaL4) в экспериментах *in vitro* с использованием сопряженной системы транскрипции-трансляции. Показано, что добавление белка MjaL4 в бесклеточную систему транскрипции-трансляции специфически ингибирует синтез белка MjaL3. Таким образом, получены первые данные, подтверждающие регуляторную роль архейного белка L4.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российской Академии Наук и программы МКБ Президиума РАН.

ВЛИЯНИЕ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ НА ЭРИТРОЦИТЫ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ХОЛОДОВОГО ШОКА

Маркова К.В.¹, Семенченко А.Ю.²

¹Харьковский национальный университет им. В.Н.Каразина; ²Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков (Украина)

E-mail: kristinkam@ukr.net

Как известно, состояние эритроцитов в русле крови во многом определяется свойствами окружающей их среды. Основную массу веществ плазмы составляют белки, среди которых основным является альбумин. Он играет существенную роль в поддержании коллоидно-осмотического давления в крови. В связи с вышесказанным, представляло интерес изучить влияние альбумина и других фракций белков плазмы крови на сохранность эритроцитов человека при холодовом шоке.

С помощью хроматографического разделения было получено 8 фракций белков плазмы крови (А, А1, А2, В, С, D, F, H). Фракция А1 по молекулярной массе соответствовала альбумину. Полученные белковые фракции, а также лиофилизированный альбумин человека

были использованы нами в исследовании холодового шока. Эритроциты предварительно инкубировали в средах, содержащих 0,15М NaCl и сахарозу разной молярности (0 - 0,9 М) при 37°C, а затем переносили в 1,2М NaCl (37°C) и охлаждали до 0°C. Белки добавляли на этапе прединкубации. Выявлено защитное влияние среды содержащей 0,15М NaCl и 0,3 - 0,5 М сахарозу. Это может быть связано с включением осмотического механизма нарастания устойчивости, в основе которого лежит модификация взаимодействия цитоскелета с липидным бислоем мембраны в области связей белок полосы 3 - анкирин - цитоскелет.

Присутствие А, А2, В, С, D, F, H белковых фракций плазмы крови не оказывает какого-либо влияния на чувствительность клеток к повреждению при холодовом шоке. В присутствии альбумина наблюдается повышение устойчивости эритроцитов к холодовому шоку (как выделенного нами из плазмы крови альбумина (фракция А1), так и лиофилизированного реактива альбумина) на 20-30%. Возможно, защитный эффект альбумина в условиях холодового шока эритроцитов связан с влиянием на форму клеток и отсутствие такового при влиянии других белковых фракций.

ПОЛУЧЕНИЕ ХИМЕРНОГО ФЕРМЕНТА ДНК-МЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ HNAI-EGFP

Тарлачков С.В., Шевчук Т.В., Дьяченко О.В., Бурьянов Я.И.

Пушчинский государственный университет, Филиал Учреждения Российской академии наук Института биоорганической химии им. акад. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Пушкино (Россия)

E-mail: *serj621@yandex.ru*

Метилирование ДНК играет важную роль в регуляции различных процессов у эукариот, в том числе в регуляции генетической экспрессии, клеточной дифференцировке и морфогенезе, эпигенетическом контроле геномного импринтинга и инактивации мобильных генетических элементов. Нарушение нормальной картины метилирования ДНК сопровождается канцерогенез и различные эпигенетические заболевания человека.

Одним из перспективных подходов к исследованию функциональной роли энзиматического метилирования ДНК у эукариот является трансген-индуцированное метилирование клеточной ДНК гетерологичными ДНК-метилтрансферазами, в том числе в модифицированных формах.

В настоящей работе была получена генетическая конструкция состоящая из модифицированного белка бактериальной ДНК-метилтрансферазы M•HnaI, слитого с зеленым флуоресцентным белком: M•HnaI-EGFP. Указанная генетическая конструкция была перенесена в экспрессирующий вектор под конститутивный промотор и оптимизирована для экспрессии в клетках E.coli. Был оптимизирован метод выделения и очистки слитого белка M•HnaI-EGFP, наработанного в клетках E.coli.

Помимо трансген-индуцированного метилирования геномной ДНК, полученный слитый белок M•HnaI-EGFP может найти применение в качестве бифункциональной репортерной молекулы, полностью сохраняющей активность и специфичность как метилтрансферазного, так и флуоресцирующего доменов для изучения функциональных свойств различных присоединенных к ней лидерных и маркерных полипептидных последовательностей.

Работа выполнена на базе Филиала Учреждения Российской академии наук Института биоорганической химии им. академиком М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, в лаборатории биотехнологии растений под руководством д.б.н., профессора Я.И. Бурьянова и д.б.н. Т.В. Шевчука.

ИЗУЧЕНИЕ ЛОКАЛИЗАЦИИ БЕЛКА TOUTATIS В КЛЕТКАХ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Покровский Д.К.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: *pokrov90@gmail.com*

Транскрипция генов рибосомальных РНК осуществляется с помощью специфического транскрипционного фактора UBF. У млекопитающих подавление транскрипции генов рРНК осуществляется хроматинремоделлирующим комплексом NoRC (Nucleolar Remodeling Complex), образованным белками TIP5 и SNF2h. Комплекс NoRC рекрутирует ДНК метилтрансферазу, и гистон-деацетилазы к промоторам и вызывает метилирование лизина 9 и деметилирование лизина 4 в гистоне H3, приводя к формированию факультативного гетерохроматина. Комплекс локализуется в ядрышке и колокализуется с фактором UBF.

Toutatis (далее TOU) является гомологом белка TIP5 млекопитающих и имеет сходную доменную структуру с первым выделенным АТФ-зависимым фактором сборки и ремодуляции хроматина ACF1. В клетках дрозофилы гомологи белков TIP5 и SNF2h, также образуют комплекс, состоящий из двух белков: TOU и ISWI, соответственно. Является ли этот комплекс функциональным гомологом комплекса NoRC?

Исследования проводятся на политенных хромосомах клеток слюнных желёз с помощью метода иммунофлуоресценции. Репликация ДНК в этих клетках не сопровождается делением клетки, это приводит к накоплению вновь синтезированных нитей ДНК, что облегчает наблюдение.

На сегодняшний день нам известно, что белок TOU входит в состав как минимум двух разных комплексов, ToRC (TOU-ISWI-CtBP) и dNoRC (TOU-ISWI), имеющих различную локализацию в клетках слюнных желёз дрозофилы. Антитела Tou-M выявляют белок TOU, входящий в состав комплекса TOU-ISWI, который локализуется в ядрышках клеток слюнных желёз дрозофилы.

В дальнейшем предполагается исследовать возможные изменения морфологии ядрышка у мутантов tou, а также изучить относительную локализацию комплексов dNoRC и ToRC и исследовать функции белка Tou и всего комплекса dNoRC.

ТРАНСФЕКЦИЯ ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ КЛЕТОК IN VITRO СИНТЕЗИРОВАННОЙ РНК

**Вежане А.В.¹, Алексеева Е.В.¹, Дубурс Г.², Плотнице А.В.², Тимофеева И.А.¹,
Козловская Т.М.¹**

¹Латвийский биомедицинский центр; ²Латвийский Институт
органического синтеза, Рига (Латвия)

E-mail: aleksandra@biomed.lu.lv

Успехи генной терапии напрямую зависят от эффективности и безопасности генного транспорта. На сегодняшний день наиболее эффективной системой доставки чужеродных терапевтических генов в клетки млекопитающих признаны специально сконструированные вирусные вектора. Однако их применение в виде рекомбинантных вирусных частиц сопряжено с рядом рисков для пациентов, среди которых наиболее существенными являются вирусозависимая активация иммунной системы и возможная интеграция векторного генома в хромосому.

Применение в качестве препаратов генной терапии рекомбинантных геномов альфавирусов позволяет в значительной мере преодолеть вышеизложенные проблемы, а рациональное использование природных особенностей предлагаемых векторов (РНК-геном позитивной полярности, цитоплазматическая репликация) делают возможности создания специфических препаратов генной терапии поистине неограниченными.

Альтернативой специфическому нативному вирусному транспорту рекомбинантных вирусных геномов в клетки является использование химически синтезированных соединений. Преимущества последних особенно возрастают в тех случаях, если липосомам, как транспортным формам, самим по себе присущи терапевтические свойства.

В Латвийском Институте Органического Синтеза за последние годы были синтезированы и охарактеризованы (в том числе и по онкостатическим свойствам) разнообразные варианты потенциальных препаратов генного транспорта (ППГТ) на основе синтетических амфифильных соединений. Способность этих ППГТ связывать генетический материал (ДНК и РНК) была доказана методом ретардации в агарозном геле и методом электронной микроскопии. Способность препаратов переносить генетический материал в культуры клеток (эффективность

трансфекции) оценивалась методом флуоресцентной микроскопии по экспрессии маркерного гена–GFP (Green fluorescent protein).

В результате проведенных исследований было доказано, что новые химически синтезированные и липосомообразующие препараты способны эффективно переносить в культуры клеток маркерные гены не только в форме ДНК, но и в виде *in vitro* синтезированной РНК, причем эффективность переноса лишь в незначительной степени уступает натуральной вирусной инфекции.

СПОСОБЕН ЛИ БЕЛОК ИЗ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* ОБРАЗОВЫВАТЬ ФИБРИЛЛЯРНЫЕ СТРУКТУРЫ?

Мурина В.Н., Селиванова О.М., Гарбер М.Б., Никонов С.В., Никулин А.Д.

Филиал Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова в г. Пущино; Учреждение Российской академии наук Институт белка РАН, Пущино (Россия)

E-mail: thyrada@rambler.ru

Бактериальные белки Hfq относятся к семейству Sm-подобных белков (Lsm), характеризующегося наличием консервативного структурного Sm-фолда. Sm-подобные белки существуют в растворе в виде замкнутых тороидов с различным числом мономеров белка, от 5 до 8. В свою очередь такие олигомеры могут формировать сложные фибриллярные структуры в виде трубочек. Известно, что архейные Sm-подобные белки могут самопроизвольно формировать высокоупорядоченные фибриллы в растворе, однако для белка Hfq из *Escherichia coli* требуются достаточно жесткие условия для образования подобных структур. Кроме того, фибриллы архейных и бактериальных белков отличаются своей организацией.

Цель представленной работы заключалась в проверке влияния первичной структуры белков на формирование фибриллярных структур. Белок Hfq из *Pseudomonas aeruginosa* имеет высокую гомологию с белком из *E.coli*, однако значительно короче его с C-конца. Нами было показано, что такой белок не способен образовывать высокоупорядоченные фибриллы в ранее найденных условиях. При внесении ряда замен аминокислотных остатков в области консервативного Sm2-мотива была получена мутантная форма белка, способная образовывать фибриллоподобные структуры нового типа.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 11-04-00867), программы Молекулярная и клеточная биология Президиума РАН и ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» ГК № 02.740.11.0295.

ВЛИЯНИЕ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ ИНКУБАЦИИ В РАСТВОРАХ ГЛИЦЕРИНА НА ГИПЕРТОНИЧЕСКИЙ ГЕМОЛИЗ ЭРИТРОЦИТОВ БЫКА

Александрова Д.И., Писаренко Н.А., Нипот Е.Е., Ершов С.С., Шпакова Н.М.

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков (Украина)

E-mail: alex_dashka@mail.ru

Одним из основных повреждающих факторов при замораживании эритроцитов является концентрирование соли в окружающей среде. Инкубация клеток в средах с повышенной осмолярностью является моделью для изучения такого рода повреждений. Глицерин широко используется в качестве криопротектора при замораживании эритроцитов человека, при этом криоконсервирование эритроцитов животных с использованием глицерина менее изучено. В связи с этим нашей целью было изучить уровень повреждения эритроцитов быка в среде, содержащей 4,0 моль/л NaCl после их предварительной инкубации с глицерином.

Отмечено снижение уровня гемолиза эритроцитов в 4,0 моль/л NaCl ($t=37^{\circ}\text{C}$) при увеличении концентрации глицерина (0,2–2,0 моль/л) в среде прединкубации. При исследовании зависимости уровня гипертонического повреждения клеток от продолжительности предварительной инкубации в растворах глицерина выявлено, что максимальный защитный эффект проявляется уже через 2 мин. прединкубации и в дальнейшем не изменяется. Исключением является временная зависимость гипертонического гемолиза

эритроцитов, которые предварительно инкубировались в среде, содержащей 0,7 моль/л глицерина; в этом случае снижение уровня гемолиза сопровождалось последующим небольшим его ростом. Аналогичные эксперименты были проведены при более низких температурах (25, 20, 15, 10, 5°C), в результате чего показано, что особенности защитного действия глицерина сохраняются во всем исследуемом температурном диапазоне.

Таким образом, предварительная инкубация эритроцитов быка с глицерином позволяет снизить гипертонический гемолиз этих клеток во всем исследуемом температурном диапазоне, при этом полученный защитный эффект глицерина определяется его концентрацией.

С-КОНЦЕВОЙ ДОМЕН ФАКТОРА ТРАНСКРИПЦИИ TNRА НЕОБХОДИМ ДЛЯ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С ГЛУТАМИНСИНТЕТАЗОЙ И БЕЛКОМ GlnK

Федорова К.П., Каюмов А.Р., Ильинская О.Н., Тарасов Н.В., Шарафутдинов И.С.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань (Россия)

E-mail: *ksunchik@mail.ru*

Фактор транскрипции TnrA в клетках *Bacillus subtilis* контролирует экспрессию множества генов в условиях недостатка источника азота и в активном состоянии связан с мембраной посредством белков GlnK-AmtB. Белок TnrA имеет два функциональных домена: N-концевой домен необходим для связывания с ДНК, а для С-концевого домена показано взаимодействие с глутаминсинтетазой (GS). Мы предположили, что С-конец также участвует во взаимодействии с белком GlnK. Целью работы было установить роль С-концевого домена белка TnrA во взаимодействии с белками GlnK и GS.

На основе вектора pET15b были получены плазмиды для гиперпродукции белков TnrA с 6-гистиридиновым тагом на N-конце и делециями С-конца на 6, 20 и 35 аминокислот (TnrA6, TnrA20, TnrA35) в клетках *E.coli* BL21. Плазмиды для гиперпродукции белков GlnK и GS со стреп-тагом были предоставлены проф. Форшхаммером, университет Тюбингена, Германия. Белки TnrA, GlnK и GS были очищены до электрофоретической гомогенности. Взаимодействие нативного и мутантных белков TnrA с GlnK и GS исследовали *in vitro* методом «pull down» на стреп-тактин сефарозе и Ni-NTA агарозе.

Эксперименты показали, что делеция С-конца на 6 аминокислот делает невозможным связывание белка TnrA с GS. В то же время, лишь делеция 35 аминокислот приводила к отсутствию взаимодействия с белком GlnK. Вероятно, сайт взаимодействия с белком GlnK локализован между 20 и 35 аминокислотами с С-конца фактора TnrA. Таким образом, С-конец фактора TnrA необходим для взаимодействия с GlnK и GS, сайты для связывания с этими белками расположены близко друг к другу, но не перекрываются. Вероятно, образование комплексов с регуляторными белками является механизмом контроля активности фактора TnrA.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (ГК 1275П от 09.06.2010).

КЛАССИЧЕСКАЯ И ОБРАТНАЯ ГЕНЕТИКА В ИЗУЧЕНИИ СИМБИОТИЧЕСКИХ ГЕНОВ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM* L.)

Жуков В.А., Неманкин Т.А., Рычагова Т.С., Жернаков А.И., Титов В.С., Сулима А.С., Штарк О.Ю., Борисов А.Ю., Тихонович И.А.

Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии РАСХН, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: *zhukoff01@yahoo.com*

Сходство структурной организации геномов различных бобовых растений облегчает изучение генетической системы гороха посевного, контролирующей взаимодействие с полезными почвенными микроорганизмами. Благодаря этому сходству достижения генетики, геномики и транскриптомики модельных бобовых (лядвенца японского *Lotus japonicus* (Regel.) Larsen и люцерны слабоусеченной *Medicago truncatula* Gaertn.) могут быть «перенесены» на

сельскохозяйственно-ценные бобовые культуры, такие как горох посевной. В докладе будут освещены итоги и перспективы работы по изучению симбиотических генов гороха на основании комбинирования методологий классической и обратной генетики.

Подходы прямой генетики позволяют выявлять, картировать и секвенировать новые гены, вовлеченные в морфогенез растения и развитие симбиотических систем, а также анализировать их полиморфизм с целью поиска аллелей, наиболее ценных для селекции. Для этого был разработан набор ген-специфичных молекулярных маркеров, с помощью которого можно картировать мутации в геноме гороха, а затем проводить поиск генов-кандидатов в гомологичном участке генома модельных бобовых. Подходы обратной генетики используются для поиска в коллекции симбиотических мутантов гороха мутантных аллелей генов с известными последовательностями, а также для изучения экспрессии таких генов.

Понимание генетических основ функционирования симбиотических систем, образуемых бобовыми растениями, является необходимой основой менеджмента «адаптивного» земледелия. Кроме того, ценные аллели симбиотических генов могут быть использованы при создании новых сортов бобовых, например, путем «маркер-ассоциированной селекции».

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки (Государственные контракты № 02.740.11.0276, 16.512.11.2155 и П1304), грантов Президента РФ для поддержки ведущих научных школ (НШ-3440.2010.4), РФФИ (09-04-91054-НЦНИ_а, 10-04-00961-а, 10-04-01146-а), NWO-047.117.2005.006 (Нидерланды).

ИЗУЧЕНИЕ QTL, АССОЦИИРОВАННЫХ С ФОТОПЕРИОДИЧЕСКИМ ЦВЕТЕНИЕМ ХЛОПЧАТНИКА НА ОСНОВЕ ГИБРИДОВ F₂ И F₃ ПОКОЛЕНИЙ

**Кушанов Ф.Н., Тураев О.Я. Дармонов М., Носирова З.Г., Буриев З.Т.,
Абдукаримов А., Абдурахмонов И.Ю.**

Институт генетики и экспериментальной биологии растений
Академии наук Республики Узбекистан, Ташкент (Узбекистан)

E-mail: *fakhriddinkushanov@gmail.com*

Так как многие дикие и примитивные виды хлопчатника, обладающие хозяйственно-ценными признаками, являются чувствительными к фотопериодизму, то изучение QTL, ассоциированных с фотопериодическим цветением, на сегодняшний день является одной из основных задач в области молекулярного механизма цветения хлопчатника.

С целью изучения данной проблемы нами был скрещен мутантный хлопчатник с измененным фотопериодизмом со своей исходной дикой формой *G.barbadense ssp. darwinii*. Гибриды F₁, полученные от этого скрещивания далее подвергались самоопылению. 129 индивидуумов F₂ и 157 гибридов F₃ поколения были выращены в полевых условиях, с последующим изучением их фенотипических данных, таких, как фотопериодическое цветение, количество цветков и темп цветения. Гибриды обоих поколений подвергались молекулярному картированию признака «фотопериодическое цветение». Для определения полиморфизма родительские линии были тестированы с помощью более 1000 SSR и 15 ген-специфичных CAP маркеров.

Выявленные среди родительских линий порядка 200 SSR и 3 полиморфных CAP маркеры были использованы для генотипирования гибридов F₂ и F₃ поколений. В настоящее время ведется анализ по ассоциации этих маркеров с фотопериодическим цветением хлопчатника.

В дальнейшем результаты генотипирования и фенотипического анализа будут использованы для картирования локусов, ассоциированных с фотопериодическим цветением хлопчатника.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ БЕЛКОВ ЯДРЫШКА SURF-6 И B23 В КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА

Кордюкова М.Ю., Торопыгин И.Ю., Зацепина О.В., Ползиков М.А.

Институт биоорганической химии им. акад. М.М.Шемякина и

Ю.А.Овчинникова РАН, Москва (Россия)

E-mail: *maria-ufa86@rambler.ru*

Белок человека SURF-6 является эволюционно консервативным белком ядрышка и кодируется шестым членом генного кластера *Surfeit locus* в геноме человека. SURF-6 человека состоит из 361 а.о. и обладает ярко выраженными ДНК- и РНК-связывающими свойствами. Показано, что SURF-6 жизненно необходим для функционирования клеток эукариот и раннего эмбрионального развития, а также процессинга ITS2 (первый внутренний транскрибируемый спейсер) пре-рРНК мыши. Однако точные механизмы участия белка SURF-6 в описанных процессах остаются неизвестными, а его функции в клетках человека практически не изучались.

Использование метода иммунопреципитации с аффинными антителами к изучаемому белку, является эффективным подходом для выявления его партнеров и, следовательно, функции исследуемого белка. В ходе работы нами получены моноклональные антитела к рекомбинантному белку SURF-6 человека, которые затем были использованы для иммунопреципитации белковых комплексов, содержащих SURF-6, из культивируемых клеток человека линии HeLa. Преципитированные белки были идентифицированы с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии. Среди них был обнаружен B23/нуклеофозмин.

Для подтверждения взаимодействия белков B23 и SURF-6 мы проводили аффинную хроматографию с иммобилизованным на L-глутатион-сефарозе рекомбинантным белком GST-SURF-6 и ядерным экстрактом HeLa. Методом иммуноблоттинга среди связавшихся с SURF-6 белков мы определили B23. Также мы показали колокализацию белков B23 и SURF-6 в клетках HeLa при иммуноцитохимическом окрашивании специфическими антителами.

Таким образом, мы можем сделать вывод, что B23 и SURF-6 являются функциональными партнерами в клетках человека. Это свидетельствует в пользу участия SURF-6 в процессинге рРНК и терминальных стадиях сборки рибосом у человека. Принимая во внимание, что B23/нуклеофозмин играет важную роль в регуляции клеточного цикла и апоптоза, можно предположить участие SURF-6 в тех же процессах.

БЕЛОК DmNXF1 УЧАСТВУЕТ В ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОМ ТРАНСПОРТЕ мРНК ПО ЭЛЕМЕНТАМ ЦИТОСКЕЛЕТА В НЕЙРОНАХ У *D. MELANOGASTER*

Никулина А.О., Мамон Л.А.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: *anna.o.nikulina@gmail.com*

Белок SBR (DmNXF1) принадлежит эволюционно-консервативному семейству белков NXF (Nuclear Export Factors) и отвечает за экспорт всех мРНК из ядра в цитоплазму. Белок Dm NXF1 в нейронах дрозофилы выявляется не только в теле клетки вблизи ядерной оболочки, но и в отростках в виде гранул. Известным маркером РНП-гранул у млекопитающих является белок FMRP, от нормальной работы которого зависит формирование шипиков, обеспечивающих синаптические контакты между нейронами. У дрозофилы ортологом FMRP является белок dFMR1. Белок FMRP взаимодействует с мРНК, содержащими G-квартеты. Для понимания функции белка Dm NXF1 важно ответить на вопрос, является ли DmNXF1 обязательным компонентом цитоплазматических гранул, содержащих белок dFMR1.

Мы показали, что белок DmNXF1 в гранулах выявляется как совместно с dFMR1, так и в отдельных гранулах. Кроме того, в отростках нейронов присутствуют гранулы белка dFMR1, не содержащие DmNXF1. Существование гранул, в которых выявляются оба данных белка, указывают на то, что DmNXF1 участвует в цитоплазматическом транспорте мРНК по отросткам нейронов в составе РНП-гранул. Наличие гранул белка dFMR1, не содержащих DmNXF1, свидетельствует о том, что цитоплазматическая функция белка DmNXF1 не является универсальной для всех мРНК, как в случае ядерно-цитоплазматического экспорта. В противном случае, белок DmNXF1 выявлялся бы во всех гранулах, содержащих dFMR1. Собственные гранулы белка DmNXF1, по-видимому, являются РНП, не содержащими мРНК, для транспорта которых необходим dFMR1.

Возможно, белок Dm NXF1, как и dFMR1, в процессе транспорта цитоплазматических гранул в отростках нервных клеток проявляет специфичность в отношении определенных транскриптов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 09-04-00697 с использованием лазерных сканирующих конфокальных микроскопов Leica на базе ЦКП «Хромас» и кафедры цитологии и гистологии СПбГУ.

DmNXF1 – ЯДЕРНО-ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИЙ ЭКСПОРТЕР мРНК – ВЫЯВЛЯЕТСЯ В ВИДЕ ГРАНУЛ В ТЕЛЕ И ОТРОСТКАХ НЕЙРОНОВ У ДРОЗОФИЛЫ

Никулина А.О., Мамон Л.А.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: *anna.o.nikulina@gmail.com*

Ген *small bristles (sbr, Dm pxf1)* относится к семейству генов NXF (Nuclear Export Factors). Ортологи данного гена присутствуют у различных организмов от дрожжей *S. cerevisiae* (ген *Mex67*) до человека (ген *TAP, HsNXF1*). Продукты генов *pxf1* в клетках различных организмов локализируются в районе ядерной оболочки, что согласуется с их основной функцией – транспортом всех мРНК из ядра в цитоплазму. В геноме млекопитающих присутствуют несколько паралогов гена *pxf1*, для которых известны специализированные функции, в том числе, нейроспецифичные. У дрозофилы известно 3 паралога гена *pxf1*, но, ни для одного из них нейроспецифичные функции не известны.

Используя метод иммуногистохимической окраски, мы показали, что у дрозофилы белок DmNXF1 выявляется не только вблизи ядерной оболочки, но и в виде гранул в теле и отростках нейронов. Такой характер локализации белка DmNXF1 свидетельствует о том, что в нейронах его функции не ограничиваются экспортом мРНК из ядра в цитоплазму клетки. Мы полагаем, что белок DmNXF1, помимо основной функции, участвует в цитоплазматическом транспорте мРНК по элементам цитоскелета, находясь в составе РНП-гранул. Поскольку гранулы в отростках и теле нервных клеток различаются по составу, важно понять, всегда ли гранулы, содержащие мРНК, включают и белок Dm NXF1. Для проверки этих предположений необходимо сопоставить локализацию белка DmNXF1 с таковой другого, входящего в состав транспортных РНП-гранул, белка, функции которого известны.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 09-04-00697 с использованием лазерных сканирующих конфокальных микроскопов: Leica TSC SP5 на базе ЦКП «Хромас» при Биолого-почвенном факультете СПбГУ, Leica TSC SPF на базе кафедры цитологии и гистологии Биолого-почвенного факультета СПбГУ.

ДИССОЦИАЦИЯ БЕЛКА HP1 α ИЗ ЦЕНТРОМЕРНЫХ ОБЛАСТЕЙ НЕ ПРИВОДИТ К ИХ ДЕКОМПАКТИЗАЦИИ

Величко А.К., Кантидзе О.Л., Разин С.В.

Учреждение Российской академии наук Институт биологии гена РАН, Москва (Россия)

E-mail: *Velichkoak@gmail.com*

Ассоциированный с гетерохроматином белок HP1 α был впервые обнаружен у *D. melanogaster*. Множество работ было посвящено изучению его роли в репрессии генов, расположенных в центромерных областях хромосом. На сегодняшний момент HP1 α считается мультифункциональным белком. Он участвует не только в процессах компактизации ДНК и формировании гетерохроматина, но и является компонентом активно транскрибируемого хроматина, а также задействован в механизмах репарации ДНК.

В данной работе впервые было продемонстрировано, что в условиях теплового шока клеток человека (клетки аденокарциномы молочной железы *mcf-7* и лимфоидные клетки *Jurkat*) происходит диссоциация белка HP1 α из центромерных областей хромосом. Стоит отметить, что данный процесс не связан с деградацией белка HP1 α , а представляет собой его перераспределение между различными геномными локусами. Интересно, что при этом не

происходит ни декомпактизации центромер, ни потери триметилированной по девятому лизину формы гистона H3 (H3K9triMe), с которой в норме связан HP1 α .

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что белок HP1 α не является необходимым для поддержания конститутивного гетерохроматина. Более того, при необходимости масштабного подавления транскрипции, как, например, в случае теплового шока клеток млекопитающих, он может выступать в роли транскрипционного репрессора в эухроматиновых участках генома.

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ КЭП-СТРУКТУРЫ ПРИ ОБРАЗОВАНИИ ВИРУСНЫХ РИБОНУКЛЕОПРОТЕИДОВ IN VITRO

Петрова Е.К., Никитин Н.А., Сушко А.Д., Архипенко М.В.

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва (Россия)

E-mail: katerina519@mail.ru

Ранее в нашей лаборатории была показана возможность образования in vitro вирусных рибонуклеопротеидов (вРНП) из белка оболочки (БО) X-вируса картофеля (ХВК) и ряда гетерологичных нуклеиновых кислот. Были изучены их структура и свойства.

В частности, была продемонстрирована возможность образования вРНП из БО ХВК и субгеномной (4-й) РНК ВМК, выделенной из тотального препарата, и фрагмента, полностью соответствующего по нуклеотидной последовательности 4-й РНК, полученного при разрезании 3-й геномной РНК ВМК в присутствии олиго-d(T)₁₀ РНКазой H (SH-фрагмент). SH-фрагмент отличался от РНК4 только отсутствием кэп-структуры. Оказалось, что РНК4 ВМК образует вРНП, как и другие гетерологичные РНК. При инкубации БО ХВК с SH-фрагментом образование вРНП зафиксировать не удалось.

На основании полученных результатов мы предположили возможность влияния кэпирования РНК на образование вРНП с БО ХВК in vitro.

Была проверена возможность образования вРНП при инкубации 5'-концевых некэпированных транскриптов РНК ХВК длиной 1320 нуклеотидов с БО ХВК. Методом атомно-силовой микроскопии (АСМ) было показано, что образование вРНП не происходит. Однако при кэпировании этих транскриптов и последующей их инкубации с БО ХВК образуются вРНП, имеющие морфологию, идентичную гомологичным вРНП (нативная РНК ХВК – БО ХВК). Высота полученных вРНП составила 9-10 нм, что соответствует высоте вРНП, полученных при гомологичной сборке (БО ХВК – РНК ХВК). Эффективность образования таких вРНП сопоставима с эффективностью гомологичной сборки.

Последующее декэпирование кэпированных транскриптов не повлияло на образование вРНП – вторично лишённые кэпа РНК-матрицы при инкубации с БО ХВК формируют вРНП идентичные по структуре гомологичным. Можно предположить, что кэпирование приводит к изменению пространственной структуры 5'-конца РНК, что способствует взаимодействию с БО ХВК и инициирует сборку.

ФЕНОТИПИЧЕСКИЙ И ГЕНОТИПИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ПОДВИДОВ *CULEX PIPIENS* L. (DIPTERA: CULICIDAE) В РЕСПУБЛИКЕ МОЛДОВА

Шулешко Т.М., Мовилэ А.А.

Институт зоологии Академии наук Молдовы, Кишинев (Молдова)

E-mail: tatiana_sulesco@yahoo.com

Для выявления фенотипического и генотипического полиморфизма подвидов *Culex pipiens pipiens* и *Culex pipiens molestus* в 2008-2010 гг. были проведены сборы личинок и имаго комаров из временных наземных водоемов заповедника «Кодры», искусственных контейнеров с водой в Новых Аненах и городе Чадыр-Лунга, в жилых домах муниципия Кишинев.

Генетический полиморфизм имаго *C. pipiens* L. из Кишинева был проведён по молекулярно-генетическому маркеру микросателлитной ДНК CQ11. Анализ ПЦР продуктов выявил ампликоны длиной 260 п.о. специфичные для *C. p. molestus*, 190 п.о. для *C. p. pipiens* и одновременное присутствие в треке двух продуктов амплификации для их гибридов. Анализ

прочитанных участков CQ11 автогенной и неавтогенной формы из Молдовы показал процентное соотношение нуклеотидов для *S. p. molestus*: p(T)=30,0%, p(C)=12,8%, p(A)=25,1%, p(G)=32,0%, для *S. p. ripiens*: p(T)=33,1%, p(C)=12,9%, p(A)=23,6%, p(G)=30,3%, что указывает на повышенную концентрацию гуанина и аденина у автогенной формы; тимина - у неавтогенной. Сравнительный анализ наших данных с GenBank выявил для *S. p. ripiens* трансверсии A>T (0,2%), A>C (0,2%), C>G (0,4%), транзиции A>G (0,1%), C>T (0,3%) и 1% делеций, для *S. p. molestus* только трансверсии A>T (0,3%), A>C (0,1%), C>G (0,2%) и 1% делеций.

Данные по фенотипическому полиморфизму популяций *S. ripiens* L, были получены на основе сифонального индекса личинок IV стадии. Для заповедника «Кодры» средний индекс составил $5,57 \pm 0,08$, свойственный неавтогенной форме, для Чадыр-Лунги и Новых Анен составил $4,52 \pm 0,06$ и $4,78 \pm 0,11$, что говорит о симпатрическом проживании двух подвидов. Для Кишинева так же характерны смешанные популяции автогенной и неавтогенной форм: $4,03 \pm 0,05$, $4,74 \pm 0,06$, $4,26 \pm 0,03$, $4,83 \pm 0,05$, $5,11 \pm 0,11$.

В ходе исследований была установлена повышенная генетическая и фенотипическая полиморфность *S. p. ripiens* в сравнении с *S. p. molestus* в различных очагах на территории Республики Молдова.

АНАЛИЗ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА PRKAG3 В ЛОКАЛЬНОЙ ПОПУЛЯЦИИ СВИНЕЙ

Лопухова Е.Н.

Мордовский государственный университет им. Н.П.Огарёва, Саранск (Россия)

E-mail: zhen-lo@yandex.ru

Ген PRKAG3 кодирует одну из изоформ регуляторной γ -субъединицы АМФ-зависимой протеинкиназы, играющей важную роль в регуляции энергетического гомеостаза клетки. В результате активации АМФК клетка переходит в энергосберегающее состояние (в том числе блокирует синтез жирных кислот и активирует их окисление). γ 3-субъединица, кодируемая геном PRKAG3, проявляет специфичность экспрессии в мышечной ткани.

Установлено существование мутаций, приводящих к ухудшению качества мяса. Выявление этих мутаций используется в качестве маркеров в проведении селекционных мероприятий. Известно, что доминантная мутация RN⁻, вызванная заменой R200Q, приводит к явлению вареного окорока, или синдрому «кислого мяса», который является причиной значительных экономических потерь в свиноводстве.

Нами была проанализирована выборка свиней, разводимых на предприятии ЗАО «Мордовский бекон», на наличие полиморфизма гена PRKAG3. Для исследования использовали метод ПЦР-ПДРФ анализа. Замена R200Q обусловлена заменой гуанина на аденин в третьем экзоне гена (последовательность AF214521 из базы данных GenBank). В качестве амплифицируемого участка выбрали фрагмент геномной последовательности, содержащий 3-ий экзон, а также часть 2-го и 3-го интронов. Были определены частоты встречаемости аллелей и генотипов гена PRKAG3. Для этого исследовали 160 животных, из которых было 96 ремонтных свинок и 64 хряка.

В целом использование ДНК-диагностики полиморфизма R20Q в гене PRKAG3 позволило установить, что в исследованной выборке частота желательного аллеля составляет 90%. Для большей части стада характерен гомозиготный желательный генотип, хотя в выборке обнаружены 2 доминантные нежелательные гомозиготы, а встречаемость животных носителей нежелательного аллеля составляет от 0,9 (хряков) до 2,4% (ремонтных свинок).

Проведенные исследования распространенности полиморфизма следует расширять, результаты использовать при проведении селекционной работы с целью сокращения в популяции особей с нежелательным аллелем и риска возникновения синдрома «кислое мясо».

ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА СИНТЕЗА ПЕПТИДА CGRP

Линькова Н.С.

Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН,
Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: *miayu@yandex.ru*

Целью исследования явилось изучение изменения экспрессии CGRP в эпифизе и тимусе при старении.

Аутопсийные образцы тимуса (n=18) и эпифиза (n=18) были разделены на 3 группы: 1 - пожилой возраст (60-74 года), 2 – старческий возраст (75-89 лет), 3 - долгожители (90 лет и более). Иммуногистохимическую реакцию с антителами к маркеру CGRP (1:100, Novocastra) проводили по стандартному одноэтапному протоколу. В качестве вторичных антител использовали универсальный набор, содержащий биотинилированные антимышьи иммуноглобулины. Для визуализации реакции применяли авидин с биотинилированной пероксидазой хрена и диаминобензидином (ABC-kit, Dako).

Количественную оценку осуществляли на системе компьютерного анализа микроскопических изображений, включавшей в себя микроскоп, цифровую камеру, компьютер и программу Videotest-Morphology 5.0. Площадь экспрессии анализировали по 10 полям зрения при увеличении 400.

В 1 группе площадь экспрессии CGRP в тимусе была достоверно выше на 39% по сравнению с эпифизом. Во 2 группе площадь экспрессии CGRP в тимусе снижалась в 4 раза, а в эпифизе – в 1,5 раза. У людей в возрасте около 69 лет количество пептида CGRP в эпифизе и тимусе было равным, тогда как при дальнейшем старении организма экспрессия CGRP в эпифизе была достоверно выше по сравнению с тимусом. В 3 группе в эпифизе площадь экспрессии CGRP не отличалась от уровня, полученного для группы пожилых людей, а в тимусе экспрессия CGRP продолжала снижаться практически до нулевого уровня.

Резкое снижение экспрессии пептида CGRP может являться причиной дисфункции тимуса, приводящей к развитию аутоиммунных процессов, тогда как менее выраженное снижение синтеза CGRP в эпифизе свидетельствует об относительной сохранности его функций при старении.

ПЕПТИДНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ТИМОЦИТОВ

Линькова Н.С., Полякова В.О., Дудков А.В.

Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН,
Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: *miayu@yandex.ru*

В связи с тем, что одной из важнейших задач иммунологии и геронтологии является поиск препаратов, способных восстанавливать функциональную активность тимуса при его старении, целью исследования явилась оценка влияния синтетического пептида Т-38 на дифференцировку двойных положительных тимоцитов.

Объектом исследования служили культуры клеток тимуса эмбрионов человека (14-26 неделя гестации), полученные из лаборатории клеточной иммунологии Института иммунологии ФМБА. Было исследовано 4 контрольных образца культур и 12 экспериментальных образцов, которые инкубировали в течение 1ч при 37°C с синтетическим пептидом Т-38 (H-Lys-Glu-Asp-OH, концентрация 200 нг/мл), сконструированном в Санкт-Петербургском институте биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН.

Экспрессию маркеров дифференцировки тимоцитов оценивали методом двцветной проточной цитофлуориметрии с применением моноклональных антител к CD8 и меченых флуоресцеинизотиоцианатом и моноклональных антител к CD4, меченых фикоэритрином (Becton Dickinson, США). Для определения экспрессии антигенов клетки инкубировали с мечеными моноклональными антителами в течение 30 мин при 37°C. Связывание антител, меченых флуорохромом, оценивали на проточном цитофлуориметре FACSCalibur (Becton Dickinson) с использованием программы CellQuest 3.1 Software. В каждом случае анализировали 10 000 клеток на образец при скорости потока 6000 клеток в секунду.

В контрольной культуре тимоцитов количество $CD4^+CD8^-$ клеток составило 4,3%, число клеток с фенотипом - $CD4^-CD8^+$ - 2,3% и количество двойных положительных незрелых $CD4^+CD8^+$ тимоцитов – 90,6%. Под действием пептида Т-38 число дифференцированных $CD4^+CD8^-$ и $CD4^-CD8^+$ клеток возрастало соответственно до 13,7 и 2,8%, а количество двойных положительных тимоцитов снижалось до 79,7%.

Пептид Т-38 является индукторами дифференцировки незрелых двойных положительных тимоцитов в направлении Т-регуляторных клеток (фенотип $CD4^+CD8^-$), что свидетельствует о его способности стимулировать функциональную активность тимуса при его возрастной инволюции.

РАЗРАБОТКА СТРУКТУРНОЙ КЛАССИФИКАЦИИ БЕЛКОВ, СОДЕРЖАЩИХ β -УГОЛКИ

Бошкова Е.А., Гордеев А.Б., Ефимов А.В.

Учреждение Российской академии наук Институт белка РАН, Пущино (Россия)

E-mail: *boshkova.e.a@rambler.ru*

Число расшифрованных белков с каждым годом стремительно растёт, и поэтому всё актуальнее становится проблема классификации белковых структур. В настоящее время существует несколько классификаций белков, основанных на разных принципах. Иерархическая схема классификации белков на основе структурных деревьев базируется только на сходстве пространственных структур и на общности смоделированных путей сворачивания белков, при этом данные о первичной структуре белков не учитываются.

Схема включает в себя три основных уровня иерархии: Структурное древо, Уровень и Укладка. К одному Структурному древу относятся белки с общим корневым структурным мотивом; к одному Уровню относятся белки из одного Структурного древа с равным количеством элементов вторичной структуры; к одной Укладке относятся белки из одного Уровня с одинаковым расположением элементов.

Цель данной работы – создание иерархической классификации белков, содержащих β -уголки. Собрана база данных белковых структур, которая включает в себя 573 белка (2570 PDB-файлов). Построено теоретическое структурное древо, включающее как максимальное количество структур известных белков (доменов), содержащих β -уголки, так и вероятные структуры ещё не расшифрованных белков. На основе полученного структурного древа разработана иерархически организованная классификация белков, содержащих β -уголки. База данных и компьютерная версия структурного древа будут доступны на WEB-сайте по адресу: <http://strees.protres.ru/>.

Данная работа поддержана грантом РФФИ № 10-04-00727-а и грантом Федерального агентства по науке и инновациям № 02.740.11.0295.

СЕКЦИЯ «Общая и функциональная биохимия»**МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ЛИПИДНАЯ ПОРА, ИНДУЦИРОВАННАЯ
ЖИРНЫМИ КИСЛОТАМИ: СВОЙСТВА И ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ
ЗНАЧИМОСТЬ****Белослудцев К.Н.**Учреждение Российской академии наук Институт теоретической и экспериментальной
биофизики РАН, Пущино (Россия)E-mail: *bekonik@rambler.ru*

Как известно, в основе многих клеточных патологий лежат процессы, связанные с нарушением функционирования митохондрий. При этом наблюдаются деполаризация митохондриальной мембраны, снижение клеточного пула АТФ, нарушение ионного гомеостаза (K^+ , Na^+ , Ca^{2+}), активация продукции активных форм кислорода, нарушение баланса восстановленности пиридиновых нуклеотидов и накопление свободных жирных кислот. Особенно важным в этом свете выглядит нарушение Ca^{2+} гомеостаза, когда при перегрузке митохондрий кальцием во внутренней мембране может происходить открытие неселективной поры, известной как МРТ. Ее открытие является важным шагом в индукции клеточной смерти. На сегодняшний день общепризнано, что эта пора является белковым мегаканалом, состоящим из аденилаттранслокатора, порина, циклофилина D и ряда других мембранных митохондриальных белков. Открытие этой поры ингибируется циклоспорином А.

С момента обнаружения ингибирующего действия циклоспорина на МРТ в литературе стали появляться данные о том, что не всякое открытие поры ингибируется этим агентом. В начале 2000 годов было показано, что пальмитиновая кислота, содержание которой в тканях может значительно увеличиваться при различных патологиях, таких как ишемия/реперфузия, диабет, болезнь Рефсум, алкоголизм и др., способна индуцировать в присутствии ионов Ca^{2+} открытие во внутренней мембране митохондрий неспецифической поры.

Было обнаружено, что эта пора отличается от классической белковой МРТ поры по ряду характеристик, и, в первую очередь, она нечувствительна к известному ингибитору белковой поры – циклоспорину А. Кроме того, эта пора способна самопроизвольно закрываться, в отличие от белковой поры, и ее открытие можно индуцировать ионами Sr^{2+} вместо Ca^{2+} . Как показано в нашей лаборатории, открытие поры индуцируется как в митохондриальной, эритроцитарной, бактериальной, так и в искусственных (БЛМ и липосомы) мембранах, что дало основание предположить липидную природу пальмитат/ Ca^{2+} -индуцируемой поры. Исходя из полученных данных, способность пальмитиновой кислоты индуцировать открытие поры обусловлена тем, что эта кислота имеет высокое сродство к ионам Ca^{2+} , сравнимое со сродством ряда Ca^{2+} -связывающих белков к этому иону. В экспериментах на липосомах было установлено, что в результате образования в мембране комплекса Ca^{2+} с пальмитиновой кислотой, происходит сепарация жирной кислоты в отдельные мембранные твердокристаллические домены, с последующим появлением в мембране липидных пор по механизму хемотропного фазового перехода.

Открытие пальмитат/ Ca^{2+} -индуцированной поры может иметь важное физиологическое значение для жизнедеятельности клетки. Известно, что пальмитиновая кислота является природным индуктором апоптоза, способствуя выходу проапоптотических белков из митохондрий. Индукция апоптоза пальмитиновой кислотой наблюдалась в различных типах клеток. В нашей лаборатории было показано, что при открытии пальмитат/ Ca^{2+} -индуцированной поры происходит выброс из митохондрий проапоптотических белков – цитохрома c и АИФ, что может являться индикатором запуска программы апоптоза. Кроме того, показано, что открытие этой поры, вероятно, лежит в основе механизмов деградации нервных клеток при окислительном стрессе.

Другим примером физиологической значимости пальмитат/ Ca^{2+} -активируемой поры может быть ее участие в рециклизации кальция в митохондриях в качестве неспецифической системы выхода иона.

Работа поддержана грантом РФФИ (09-04-01024-а).

НОВАЯ ГРУППА ЭНДОГЕННЫХ БИОРЕГУЛЯТОРОВ, КАК ОСНОВА ДЛЯ СОЗДАНИЯ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Краснов М.С.

Учреждение Российской академии наук Институт биологии развития
им. Н.К. Кольцова РАН, Москва (Россия)

Начало исследований представителей новой группы биорегуляторов было положено еще в 1970-х годах, когда в тканях печени и легкого крыс впервые были идентифицированы макромолекулярные факторы адгезии, активные в сверхмалых дозах (СМД), соответствующих 10^{-8} – 10^{-15} мг/мл (Ямскова и др., 1977а,б; Маленков и др., 1978). В настоящее время биорегуляторы данной группы были обнаружены практически во всех тканях млекопитающих – в печени, легком, сердце, тимусе, тонком кишечнике, железах и их секретах, сыворотке крови, а также в различных тканях глаза, и выделены в отдельную группу мембранотропных гомеостатических тканеспецифических биорегуляторов (МГТБ), благодаря сходству их физико-химических свойств и характера биологической активности (Ямскова, Резникова, 1991; Ямсков и др., 1999; Краснов и др., 2003а; Borisenko et al., 2007; Krasnov et al., 2007; Margasyuk et al., 2007; Nazarova et al., 2007; Yamskova et al., 2007).

Кроме того, МГТБ были обнаружены также в тканях растений, у беспозвоночных животных и в грибах (Краснов и др., 2003б). Проведение исследований МГТБ оказалось возможным благодаря разработке нового экспериментального подхода, сочетающего в себе методы выделения, очистки, исследования физико-химических свойств биорегуляторов данной группы, а также разработке методов их биотестирования и изучения специфической биологической активности. Метод биотестирования биорегуляторов данной группы является важнейшей частью экспериментального подхода, разработанного для их исследования. С его помощью можно не только идентифицировать присутствие биорегуляторов в различных фракциях в процессе очистки, но и изучать характер дозовой зависимости их биологической активности (Ямскова, Резникова, 1991).

Для выделения биорегуляторов из тканей разработана методика их экстракции в определенных условиях (Ямскова и др., 1977а). Для получения высокоочищенной фракции биорегуляторов осуществляется фракционирование тканевого экстракта, которое проводят с применением различных методов современной биохимии. Биорегуляторы данной группы имеют сложный состав. Они состоят из биологически активных пептидов, получивших название регуляторных пептидов и белков, модулирующих их биологическую активность – белков-модуляторов (Ямскова и др., 2004; Ямскова и др., 2009а,б). Показано, что ионы кальция играют принципиальную роль в образовании комплекса между регуляторными пептидами и белками-модуляторами, наноразмерное состояние которого определяет специфическую активность биорегуляторов этой группы. Кроме белков-модуляторов и пептидов в состав биорегуляторов входят липиды и углеводы (Nazarova et al., 2007; Yamskova et al., 2007).

Изучение физико-химических свойств биорегуляторов данной группы показало ряд характерных для них особенностей: в их состав входят регуляторные пептиды (молекулярная масса не более 10 кДа), обладающие устойчивостью к различным физико-химическим факторам – температуре (биологическая активность биорегуляторов не изменяется после нагревания до 100°C в течение 10 мин, а также после многократной процедуры «размораживание-оттаивание»), к воздействию хелатирующих агентов и органических растворителей, длительному пребыванию в деионизированной среде, изменению рН раствора в диапазоне от 3,0 до 10,0, (Ямсков и др., 1999; Ямсков и др., 2009).

Методом кругового дихроизма было показано преобладание во вторичной структуре МГТБ β -структур и статистического клубка. Исследование третичной структуры молекул данных биорегуляторов с помощью метода дифференциальной сканирующей калориметрии показало отсутствие на кривых исследуемых МГТБ эндотермических пиков, характеризующих кооперативный переход третичной структуры глобулярных белков. Следовательно, МГТБ не являются глобулярными белками и их молекулы отличаются исключительной конформационной подвижностью. На это также указывают данные аминокислотного анализа, показывающие значительное количество остатков глицина, которые обеспечивают шарнирную подвижность полипептидной цепи (Ямсков и др., 1999; Ямсков и др., 2009).

Данные углеводного анализа фракций биорегуляторов, полученных после ИЭФ, показали, что в их состав входит углеводная компонента, представленная N-олигоманнозидными цепями, содержащими остатки маннозы и N-ацетилглюкозамина (Ямсков и др., 1999). Предполагается, что именно олигоманнозидные структуры обеспечивают узнавание углеводного сайта, и лежат в основе мембранотропной активности биорегуляторов данной группы (Ямсков и др., 1999). Исследование состава эфирной вытяжки, полученной из фракции биорегулятора сыворотки крови, методом масс-спектрометрии показало присутствие в ней таких жирных кислот, как декановая, линолевая, холевая, дезоксихолевая и пальмитиновая (Yamskova et al., 2007). Однако, остается не известна их функциональная значимость в составе биорегуляторов. Было показано, что исследуемые биорегуляторы имеют очень высокое сродство к ионам Ca^{2+} , которое превышает таковое у других Ca^{2+} -связывающих белков (Краснов и др., 2003в). Методами динамического лазерного светорассеяния и атомно-силовой микроскопии было показано, что в растворах МГТБ присутствуют в виде наноразмерных частиц (50-200 нм) (Borisenko et al., 2007; Margasyuk et al., 2007; Krasnov et al., 2007; Nazarova et al., 2007; Yamskova et al., 2007).

Было показано, что исследуемые биорегуляторы локализованы во внеклеточном пространстве соответствующей ткани (Borisenko et al., 2007; Krasnov et al., 2007; Margasyuk et al., 2007; Nazarova et al., 2007).

Поскольку было показано, что биорегуляторы действуют в условиях сохранения организации межклеточного пространства ткани, для изучения их специфической биологической активности были разработаны новые экспериментальные модели органного культивирования для изучения специфической биологической активности МГТБ (Краснов и др., 2003а; Маргасюк и др., 2005; Borisenko et al., 2007; Margasyuk et al., 2007; Krasnov et al., 2007; Nazarova et al., 2007). Активность биорегуляторов животного происхождения данной группы характеризуется наличием тканевой, но отсутствием видовой специфичности (Краснов и др., 2003а; Ямскова и др., 2009в).

Экспериментально установлено, что биорегуляторы данной группы в СМД, стимулируют процессы восстановления и репарации в патологически измененных тканях, т.е. они способствуют восстановлению структуры этих тканей и их функции.

На различных моделях *in vitro* и *in vivo* было продемонстрировано протекторное свойство биорегуляторов в СМД, которое выражалось в их влиянии на поддержание или восстановление структуры ткани. Например, МГТБ, выделенный из пигментного эпителия глаза быка, стабилизирует адгезию и пролиферацию пигментированных клеток *in vitro* (Краснов и др., 2003а,в). МГТБ, выделенный из сыворотки быка, и МГТБ, выделенный из подорожника, способствуют восстановлению структуры ткани кожи у мыши после экспериментальной травмы *in vivo*. МГТБ, выделенный из хрусталика глаза, тормозит катарактогенез в эксперименте *in vitro*, и у человека (Краснов и др., 2005; Krasnov et al., 2007; Ямскова и др., 2009в). МГТБ, выделенный из роговицы, влияет на пролиферацию, поддерживает и стимулирует жизнеспособность клеточных источников регенерации в этой ткани (Маргасюк и др., 2005; Margasyuk et al., 2007; Маргасюк и др., 2008).

В основе действия МГТБ лежит их способность тканеспецифично активировать клеточные источники регенерации в ткани (стволовой отдел) (Маргасюк и др., 2008; Ямскова и др., 2009в; Ямскова и др., 2010). При действии МГТБ процессы заживления идут по механизму восстановления структуры ткани и ее функции, и при этом подавляется механизм развития стромального (глиального) рубца (Ямскова и др., 2010). Внеклеточно локализованные МГТБ, стабилизируют межклеточные адгезионные взаимодействия, обеспечивают поддержание структурной организации межклеточного пространства в тканях, обеспечивая, тем самым, прохождение «правильного» регуляторного сигнала, в том числе и к стволовым клеткам.

На основе МГТБ разработаны фармакологические препараты, представляющие собой стерильные, водно-солевые растворы биорегуляторов в СМД (Ямсков, Ямскова, 1998). В настоящее время разработано около 50 препаратов. МГТБ животного происхождения, оказывают влияние на ткани органов, которые являлись источником их выделения. Фармакологические препараты, созданные на основе биорегуляторов данной группы, не обладают побочным действием, не вызывают развития неблагоприятных реакций ни со стороны отдельных тканей, ни организма в целом. МГТБ в стерильных водно-солевых растворах сохраняют свою активность в течение многих лет, не изменяют ее при нагревании, замораживании-оттаивании, освещении и действии многих других физико-химических

факторов. МГТБ, выделенные из растений, проявляют их лекарственные свойства (подорожник, алоэ, чистотел).

В настоящее время разработаны и применяются в медицине фармакологические препараты, созданные на основе биорегуляторов, выделенных из сыворотки крови: Адгелон - глазные капли, для лечения кератопатий различной этиологии, особенно, при ожоговой болезни глаз, кератопластике, эрозии роговицы (Гундорова и др., 1997); Адгелон-раствор для инъекций имеет применение в травматологии и ортопедии – восстанавливает структуру гиалинового хряща, рекомендован при артрозах, хондромалициях, в реабилитационный период после артроскопии, а также травм суставов.

Также до стадии клинических испытаний прошли некоторые глазные лекарственные препараты (Ямскова и др., 2009в). На основе МГТБ, выделенного из хрусталика глаза, получен препарат Вилензин - глазные капли, который может применяться при катаракте хрусталика, начальной глаукоме, рекомендуется в качестве профилактического средства, предотвращающего помутнение хрусталика у людей пожилого возраста. На основе МГТБ, выделенного из ткани пигментного эпителия глаза, получен препарат Вимакон – глазные капли, который может применяться при макулодистрофии сетчатки глаза, для расширения поля зрения, восстановления сумеречного зрения. На основе МГТБ, выделенного из ткани сетчатки глаза, получен препарат Виретон – глазные капли, который может применяться при миопии, наследственной дистрофии сетчатки глаза, прогрессирующей близорукости. На основе МГТБ, выделенного из склеры глаза, получен препарат Висклерон – глазные капли, который может применяться при миопии (Ямскова и др., 2009в).

Применение лекарственных средств, созданных на основе МГТБ, предполагает новый подход к профилактике и лечению наиболее распространенных патологий: во-первых, данные препараты инициируют процессы саморегуляции организма, стимулируют восстановление и репарацию в патологически измененных тканях; во-вторых - МГТБ присутствуют в препаратах в СМД, что устраняет риск возникновения побочного негативного действия и аллергических реакций практически до нуля.

Список литературы:

- Гундорова Р.А., Хорошилова-Маслова И.П., Ченцова Е.В., Илатовская Л.В., Ямскова В.П., Романова И.Ю. Применение адгелона в лечении проникающих ранений роговицы в эксперименте // Вопросы офтальмологии. 1997. Т. 113. №2. С. 12-15.
- Краснов М.С., Григорян Э.Н., Ямскова В.П. Модель органотипического культивирования сетчатки вместе с тканями заднего сектора глаза тритона для изучения действия адгезивных гликопротеинов // Изв. Акад. Наук. Серия биол. 2003а. №1. С. 22-36.
- Краснов М.С., Григорян Э.Н., Ямскова В.П., Богуславский Д.В., Ямсков И.А. Регуляторные белки тканей глаза позвоночных // Радиационная биология и радиоэкология. 2003в. №3. С. 265-268.
- Краснов М.С., Гурмизов Е.П., Ямскова В.П., Гундорова Р.А., Ямсков И.А. Исследование влияния регуляторного белка, выделенного из хрусталика глаза быка, на катарактогенез у крыс *in vitro* // Вестник офтальмологии. 2005. Т. 121. №1. С. 37-39.
- Краснов М.С., Маргасюк Д.В., Ямсков И.А., Ямскова В.П. Действие новых регуляторных белков из растений в сверхмалых дозах // Радиационная биология и радиоэкология. 2003б. №3. С. 269-272.
- Маленков А.Г., Модянова Е.А., Ямскова В.П. Тканевоспецифическое ингибирование синтеза ДНК контактинами-факторами, обладающими тканеспецифической адгезионной активностью // Цитология. 1978. Т. 20. №8. С. 957-962.
- Маргасюк Д.В., Григорян Э.Н., Ямскова В.П. Исследование влияния на клеточную пролиферацию в роговице глаза тритона адгезивного белка, выделенного из роговицы глаза быка // Изв. РАН Сер. Биол. 2005. № 6. С. 738-743.
- Маргасюк Д.В., Краснов М.С., Ямсков И.А., Ямскова В.П. Роль регуляторного белка, выделенного из роговицы глаза быка, в активации клеточных источников регенерации роговицы *in vitro* // Изв. АН Сер. Биол. 2008. №6. с. 736-745.
- Ямсков И.А., Благодатских И.В., Краснов М.С., Борисенко А.В., Маргасюк Д.В., Вечеркин В.В., Скрипникова В.С., Назарова П.А., Битко С.А., Березин Б.Б., Яминский И.В., Мешков Г.Б., Грачев С.А., Серебрякова М.В., Рыбакова Е.Ю., Ямскова В.П. Физико-химические свойства биологически активных в микродозах регуляторных белков, выделенных из различных тканей млекопитающих // Изв.АН Сер. Хим. 2009. № 3. С. 623-628.
- Ямсков И.А., Ямскова В.П. Фармакологические препараты нового поколения на основе ранее неизвестных биорегуляторов-гликопротеинов клеточного микроокружения // Рос. хим. ж. (ЖРХО им. Д.И. Менделеева). 1998. Т. 42. №3. С. 85-90.

Ямсков И.А., Ямскова В.П., Даниленко А.Н., Клеменкова З.С., Антипов Б.Г., Черников Ф.Р., Гусынина М.М., Рыбакова Е.Ю. Экспериментальные доказательства роли физико-химических факторов в механизме биологического действия сверхмалых доз // Российский химический журнал (ЖРХО им. Д.И. Менделеева). 1999. Т. 43. №5. С. 34-39.

Ямскова В.П., Краснов М.С., Скрипникова В.С., Молявка А.А., Ильина А.П., Маргасюк Д.В., Борисенко А.В., Березин Б.Б., Ямсков И.А. Модуляторы активности регуляторных белков, действующих в микродозах // Цитология и генетика. 2009а. №6. С. 28-39.

Ямскова В.П., Краснов М.С., Ямсков И.А. К вопросу о механизмах, лежащих в основе процессов восстановления и репарации в тканях // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2010. № 1. С. 32-35.

Ямскова В.П., Краснов М.С., Ямсков И.А. Наноразмерные биорегуляторы тканей глаза млекопитающих как основа для фармакологических препаратов нового поколения // Изд. Макс Пресс: 2009в. 82с.

Ямскова В.П., Модянова Е.А., Левенталь В.И., Ланковская Т.П., Бочарова О.К., Маленков А.Г. Тканевоспецифические макромолекулярные факторы из печени и легкого: очистка и действие на механическую прочность ткани и клеток // Биофизика. 1977. Т. 22. С. 168-174.

Ямскова В.П., Модянова Е.А., Резникова М.М., Маленков А.Г. Высокоактивные тканевоспецифические адгезионные факторы печени и легкого // Молекулярная биология. 1977. Т. 11. №5. С. 1147-1154.

Ямскова В.П., Резникова М.М. Низкомолекулярный полипептид сыворотки крови теплокровных: влияние на клеточную адгезию и пролиферацию // Журнал общей биологии. 1991. Т. 52. №2. С. 181-191.

Ямскова В.П., Рыбакова Е.Ю., Виноградов А.А., Вечеркин В.В., Ямсков И.А. Исследование белка-инактиватора адгезивного гликопротеина из сыворотки крови млекопитающих. // Прикладная биохимия и микробиология. 2004. Т. 40. №4. С. 407-413.

Ямскова В.П., Скрипникова В.С., Молявка А.А., Ильина А.П., Краснов М.С., Маргасюк Д.В., Борисенко А.В., Березин Б.Б., Кузнецова Е.С., Буряк А.К., Ямсков И.А. Структурно-функциональные особенности нового биорегулятора, выделенного из ткани пигментного эпителия глаза быка // Биохимия. 2009б. т. 74. № 9. С. 1195-1203.

Borisenko A.V., Yamskova V.P., Krasnov M.S., Blagodatskikh I.V., Vecherkin V.V., Yamskov I.A. "Regulatory proteins from the mammalian liver that display biological activity at ultra low doses" pp. 35-45 // In the book "Biochemical Physics Frontal Research", Ed. by Varfolomeev S.D., Burlakova E.B., Popov A.A. and Zaikov G.E., Hauppauge NY, Nova Science Publishers Inc. 2007. P. 35-46.

Krasnov M.S., Gurmizov E.P., Yamskova V.P., Yamskov I.A. "Analysis of a Regulatory Peptide from the Bovine Eye Lens: Physicochemical Properties and Effect on Cataract Development in vitro and in vivo" pp. 21-33 // In the book "Biochemical Physics Frontal Research", Ed. by S.D. Varfolomeev, E.B. Burlakova, A.A. Popov and G.E. Zaikov, Hauppauge NY, Nova Science Publishers Inc, p. 127, 2007.

Margasyuk D.V., Krasnov M.S., Blagodatskikh I.V., Grigoryan E.N., Yamskova V.P., Yamskov I.A. "Regulatory Protein from Bovine Cornea: Localization and Biological Activity", pp. 49-56 // In the book «Biochemical Physics Frontal Research», Ed. by Varfolomeev S.D., Burlakova E.B., Popov A.A. and Zaikov G.E., Hauppauge NY, Nova Science Publishers Inc. 2007. P. 47-60.

Nazarova P.A., Yamskova V.P., Krasnov M.S., Filatova A.G., Yamskov I.A. "Regulatory proteins biologically active in ultralow doses from mammalian glands and their secretions", pp. 78-88 // In the book "Biochemical Physics Frontal Research", Ed. by Varfolomeev S.D., Burlakova E.B., Popov A.A. and Zaikov G.E., Hauppauge NY, Nova Science Publishers Inc. 2007. P. 73-82.

Yamskova V.P., Krasnov M.S., Rybakova E.Yu., Vecherkin V.V., Borisenko A.V., Yamskov I.A. "Analysis of regulatory proteins from bovine blood serum that display biological activity at ultra low doses: 2. Tissue localization and role in wound healing", pp. 61-70 // In the book "Biochemical Physics Frontal Research", Ed. by Varfolomeev S.D., Burlakova E.B., Popov A.A. and Zaikov G.E., Hauppauge NY, Nova Science Publishers Inc. 2007. P. 71-78.

КОНФОРМАЦИОННЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПСИХРОФИЛЬНОЙ ПРОТЕИНАЗЫ ИЗ ПСИХРОТОЛЕРАНТНОГО МИКРООРГАНИЗМА *SERRATIA* *PROTEAMACULANS*

**Гришкова М.В., Румш Л.Д., Михайлова А.Г., Горленко В.А., Гринберг В.Я.,
Гринберг Н.В., Бурова Т.В.**

Учреждение Российской академии наук Институт биоорганической химии им. акад.
М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН; Московский педагогический
государственный университет; Учреждение Российской академии наук Институт
элементоорганических соединений им. А.Н.Несмеянова РАН, Москва (Россия)

E-mail: mgrishkova@yandex.ru

Психрофильная протеиназа из грам-отрицательного микроорганизма *Serratia proteamaculans* (PSP), была недавно выделена в лаборатории химии протеолитических ферментов. Цель настоящего исследования – изучение конформационных перестроек фермента в процессе его функционирования.

С помощью метода сканирующей микрокалориметрии определена температура плавления белковой глобулы PSP. Показано, что молекула белка состоит из двух независимых структурных доменов с температурой денатурации 40,2° и 44,8°. Температурная стабильность мезофильных олигопептидаз В намного выше (температура денатурации двух доменов белковой глобулы OpdB из *Trypanosoma brucei* – 53,3° и 55,4°). Низкая температура денатурации соответствует психрофильному характеру PSP.

Методами КД и флуоресценции исследованы конформационные перестройки белковой глобулы PSP при взаимодействии с ионами кальция ($Ca^{2+} = 0$ и 50 мМ). Изменения в спектрах свидетельствуют о более упорядоченной структуре PSP в присутствии ионов кальция.

БЕЛОК RAD51 ИЗ *CHLAMYDOMONAS REINHARDTII* В РЕАКЦИИ IN VITRO

Шалгуев В.И., Сизова И.А.

Учреждение Российской академии наук Петербургский институт ядерной физики им. Б.П.Константинова РАН, Гатчина (Россия)

E-mail: shalguev@omrb.pnpi.spb.ru

Гомологичная рекомбинация (ГР) у эукариот катализируется филаментирующей ДНК-трансферазой Rad51 и рядом ее паралога, регулирующих активность рекомбинационного комплекса. Одноклеточная зеленая водоросль *Chlamydomonas reinhardtii* – популярной модельный организм для фундаментальных исследований в молекулярной биологии. Используя анализ EST- и геномной клонотек *C. reinhardtii* мы идентифицировали, реконструировали и секвенировали кДНК, кодирующие белки, гомологичные белкам Rad51, Rad51B, Rad51C человека.

Анализ биохимических свойств белков Rad51C и Rad51 из *C. reinhardtii*, показал, что эти белки способны катализировать основную реакцию ГР – реакцию замещения нити ДНК *in vitro*. Для установления молекулярного механизма рекомбинационного обмена нитей ДНК, активируемого пресинаптическим комплексом Rad51, нами разработана модельная система с использованием флуоресцентно-меченых субстратов ДНК. Дальнейшим развитием этой системы стал анализ четырехнитевого обмена нити ДНК.

Четырехнитевую реакцию обмена нити ДНК проводили следующим образом. Отжигом олигонуклеотидов был приготовлен двунитевой олигомер длиной 28 нп (флуорогенный зонд), содержащий двойную метку: 5'-конец одной из нитей был помечен флуоресцеином, а 3'-конец комплементарной нити помечен дапсилом.

Перекрытие между спектром испускания флуоресцеина и спектром поглощения гасителя приводило к гашению флуоресценции. Идентичная двуцепочечная ДНК, с которой проводилась реакция замещения, не содержала флуоресцентных меток. *In vitro* методом флуоресцентного гашения нами показано, что пресинаптический комплекс, образованный белком Rad51 из *C. reinhardtii*, способен катализировать четырехнитевую реакцию обмена нити ДНК, что может быть существенным для процесса ГР у водорослей. В контрольной реакции, как и ожидалось, было обнаружено, что пресинаптический комплекс, образованный *E. coli* RecA белком на однострессовой ДНК более эффективно катализирует реакцию замещения нити ДНК с гомологичной двунитевой ДНК, чем подобный комплекс, образованный на двунитевой ДНК.

ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРЫ АКТИВНОГО ЦЕТРА МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ-2 ТКАНИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Мотрук Н.В.

Одесский национальный университет им. И.И.Мечникова, Одесса (Украина)

E-mail: ntvl@ukr.net

Известно, что каталитическая реакция осуществляется посредством ограниченного числа функциональных групп.

Методом высаливания и гельхроматографии на сефадексе G-75 была получена матриксная металлопротеиназа-2 (ММП-2) немалигнизированной и опухолевой ткани молочной железы. Определение активности ММП-2 проводили по гидролизу 0,001% желатины (по методу Вовчук).

Для качественного определения функционально-активных группировок ММП-2 был проведен ингибиторный анализ с применением специфических ингибиторов.

Результаты исследований показали, что активность ММП-2 обеих тканей подавлялась лейпептином, что может свидетельствовать о наличии SH-групп цистеина в структуре активного центра. Существенное ингибирование обоих ферментов синтетическим ингибитором сериновых протеиназ фенилметилсульфонилфторидом (ФМСФ) свидетельствует о важном участии ОН - группы серина для проявления их активности.

Добавление возрастающих концентраций хелатных реагентов 1,10-фенантролина и ЭДТА снижало активность полученных ферментов, что свидетельствует о необходимости обязательного присутствия ионов металлов для проявления активности ферментов.

Фотоокисление гистидина метиленовой синью приводило к подавлению ферментативной активности, что предполагает присутствие этой аминокислоты в активном центре ММП-2.

Активность ММП-2 неизменной ткани молочной железы увеличивалась в присутствии цистеина, а фермент малигнизированной ткани оказался мало чувствительным к наличию этой аминокислоты.

ВЛИЯНИЕ ЗАПАСОВ РЕТИНОИДОВ В ПЕЧЕНИ НА ГИДРОКСИЛАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ ЦИТОХРОМА P-450

Копильчук Г.П., Шмараков И.А., Бучковская И.М.

Черновицкий национальный университет им. Ю.Федьковича, Черновцы (Украина)

E-mail: ivannabuchkovska@mail.ru

Система цитохром P-450-зависимых монооксигеназ (СУР), осуществляя стереоселективное гидроксילирование субстратов, обеспечивает поддержание гомеостаза за счёт выполнения двух основных функций – защиты организма от ксенобиотиков и битрансформации липофильных молекул-эндобиотиков. Ретиноиды способны индуцировать экспрессию определенных изоформ СУР через активацию промотора, содержащего RARE (retinoic acid responsive element) в комплексе с рецепторами ретиноевой кислоты (RAR, RXR) и пролифераторов пероксисом (PPAR).

С целью исследования влияния обеспеченности организма витамином А на активности компонентов клеточной системы детоксикации в экспериментах использовано трансгенных мышей, нокаутных за геном *Lrat* (экспериментальная модель мышей, не способных синтезировать ретинилэферы в печени) и дикого типа (с нормальным уровнем ретинилэфиров в печени).

Результаты проведенных нами исследований показали снижение п-гидроксилазной и N-деметилазной активностей цитохрома P-450 в микросомальной фракции печени *Lrat*^{-/-}-мышей в 2,3 и 1,3 раза соответственно по сравнению с показателями контрольных животных. Вероятно, снижение активностей СУР в микросомальной фракции печени нокаутных мышей обусловлено низким уровнем ретиноевой кислоты, вследствие отсутствия запасов витамина А, поскольку реакции гидроксילирования, происходящие при участии цитохромов P-450 (например, семейств изоформ СУР1А, СУР3А, СУР4А, СУР2С) индуцируются в основном ретиноидами.

Установленный нами факт показывает, что снижение микросомальной гидроксилазной активности исключает адекватную и своевременную инактивацию потенциально опасных эндогенных стероидов, арахидонатов, ретиноидов и ксенобиотиков и может приводить к снижению детоксицирующей функции печени как главного гомеостатического органа.

Таким образом, отсутствие запасов витамина А в печени сопровождается пониженным уровнем п-гидроксилазной и N-деметилазной активностей цитохрома P-450.

МОЛЕКУЛЯРНО-МНОЖЕСТВЕННЫЕ ФОРМЫ ЗАПАСНЫХ БЕЛКОВ СЕМЯН ТРИТИКАЛЕ ПРОДОВОЛЬСТВЕННОГО НАЗНАЧЕНИЯ

Погонец Е.В., Шаяхметов И.Ф., Цоголова Ю.Н.

Башкирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства РАСХН;
Башкирский государственный университет, Уфа (Россия)

E-mail: *lentosikk@mail.ru*

Зерно злаковых культур является важнейшим сырьем для создания продуктов питания. Поэтому все больший интерес в пищевой промышленности проявляется к культуре тритикале, которая благодаря своему уникальному сочетанию ряда биологических и хозяйственных признаков родителей (пшеницы и ржи) в последние годы находит все большее применение в пищевой промышленности. Исследование белков семян тритикале направлено на дальнейшее расширение и углубление использования метода белкового маркера в растениеводстве и является актуальной.

Целью исследований являлась идентификация селекционных линий тритикале АД-46369, АД- 51804, АД-52035, АД-54312 и сорта Башкирская короткостебельная (автор Н.И. Лещенко), полученные в лаборатории селекции и семеноводства озимых зерновых культур Башкирского НИИСХ.

Анализ компонентного состава спирторастворимых белков зерна тритикале проводили методом вертикального электрофореза в полиакриламидном геле.

Посемянной анализ компонентного состава белков показал, что изученные сортообразцы характеризовались внутрисортовой однородностью и сортовой специфичностью, которая состояла в следующем:

Электрофоретический спектр сорта Башкирская короткостебельная содержал 2 компонента в ω -зоне, 3 компонента в γ -зоне, 2 компонента в β -зоне, в α -зоне компоненты не обнаружены. В спектре амфидиплоида АД-46369 в ω -зоне компоненты отсутствовали, 2 компонента выявлены в γ -зоне, 3 компонента в β -зоне и 2 компонента в α -зоне. В электрофоретическом спектре АД-52035 выявили 3 компонента в ω -зоне, 2 компонента в γ -зоне, 2 компонента в β -зоне, в α -зоне компоненты отсутствовали. Спектр белков АД-51804 состоял из 2 компонентов ω -зоны, 1 компонента γ -зоны, 3 компонентов β -зоны. В электрофоретическом спектре АД-54312 компоненты ω -зоны отсутствовали, γ -зона была представлена 2-мя компонентами, β -зона - 3-мя компонентами, а α -зона содержала 2 компонента.

В результате изучения гетерогенности белков зерна тритикале показана возможность использования электрофоретических профилей белков этой культуры для уточнения внутрисортовой однородности коллекционных образцов и использования белковых спектров в качестве дополнительного критерия в идентификации селекционных линий.

ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ЦИТОХРОМОВ В ТРАНСФОРМИРОВАННОЙ ТКАНИ КРЫС ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЕЙ

Волощук О.Н., Мудрак М.

Черновицкий национальный университет им. Юрия Федьковича, Черновцы (Украина)

E-mail: *oxbm@mail.ru*

Известно, что рост опухоли сопровождается нарушением клеточной энергетики, в тоже время в литературе имеются обрывочные сведения о состоянии системы митохондриальных цитохромов в злокачественно перерожденной ткани.

Целью нашей работы было изучение динамики содержания цитохромов *a*, *b* и *c* в митохондриальной фракции опухолевой ткани на разных этапах роста карциномы Герена.

Результаты работы показали, что в динамике роста карциномы Герена наблюдается тенденция к снижению содержания всех исследуемых цитохромов. Так, содержание цитохрома *b* в логарифмический период опухолевого роста в 1,3 раза снижается в сравнении с латентным периодом с сохранением установленной тенденции на терминальных этапах онкогенеза. В тоже

время на терминальных этапах роста карциномы Герена содержание цитохрома *a* в 1,8 раза ниже показателей, установленных на логарифмической стадии, и в 2,2 раза ниже в сравнении с латентной стадией.

Среди исследуемых цитохромов наиболее интенсивно изменяется содержание цитохрома *c*. В период активного роста опухоли исследуемый показатель снижается в 1,9 раза, а на терминальных этапах – в 3,4 раза. Учитывая, что содержание митохондриальных цитохромов в большей степени определяется интенсивностью биосинтеза гема, то, вероятно, установленный факт можно объяснить установленным нами ранее снижением активности ключевого фермента синтеза гема – 5-аминолевулинат-синтазы. Именно на терминальных этапах роста карциномы Герена наблюдается максимальное снижение активности 5-аминолевулинат-синтазы.

В тоже время, прогрессирующий рост опухоли сопровождается повышением содержания цитохрома *c* в цитозольной фракции неоплазмы, что, вероятно, отображает его усиленный выход из внутренней митохондриальной мембраны, и может рассматриваться как еще одна из причин установленного нами снижения цитохрома *c* в митохондриях трансформированной ткани.

Таким образом, рост карциномы Герена сопровождается снижением цитохромов *a*, *b* и *c* в митохондриальной фракции опухолевой ткани, достигая минимальных значений на терминальных этапах онкогенеза.

ПРИМЕНЕНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ИНДИКАТОРА AMPLEX RED ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Белова С.П.^{1,2}, Мурзаева С.В.¹

¹Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН; ²Пушкинский государственный университет, Пушкино (Россия)

E-mail: *Swetbell@mail.ru*

Amplex Red (10-acetyl-3,7-dihydroxyphenoxazine), превращающийся при окислении в интенсивно флуоресцирующий продукт резорурфин, особенно популярен в последнее время для количественного определения H_2O_2 в биологических системах. Метод основан на измерении флуоресценции резорурфина в области эмиссии 587 нм при возбуждении светом 563 нм в системе с пероксидазой и H_2O_2 . Метод позволяет определять малые концентрации H_2O_2 (1-50 нМ), расходуемой на окисление Amplex Red. Очевидно, что конкурентное взаимодействие Amplex Red с другими восстановителями за H_2O_2 при окислении в пероксидазной системе должно сопровождаться увеличением расхода H_2O_2 и уменьшением флуоресценции резорурфина, что можно использовать для определения антиоксидантного действия изучаемых веществ.

С этой целью в настоящей работе определяли антиоксидантные свойства гипоксена и экстралайфа - известных адаптогенов, проявляющих антигипоксантное действие, активирующих работу митохондриального K_{ATP} канала и используемых в лечебной практике для предотвращения гипоксии.

Исследовали диапазон концентраций гипоксена от 2 до 13 мкг/мл и экстралайфа - от 0.005 до 10 мкг/мл. В инкубационную среду добавляли пероксидазу хрена 1 ед/мл, 10 мкМ Amplex Red и 1.4 нмоль H_2O_2 .

Результаты показали, что с увеличением концентрации гипоксена и экстралайфа уменьшается флуоресценция красителя, связанная с расходом H_2O_2 . Обнаружено, что при одних и тех же концентрациях экстралайф проявляет повышенную антиоксидантную активность по сравнению с гипоксеном (в 2-3 раза).

Из результатов сделан вывод, что высокочувствительный флуоресцентный метод определения антиоксидантной активности биологически активных веществ наиболее рационален по сравнению с тиабарбитуровым тестом. Флуоресцентный метод позволяет оценивать антиоксидантные свойства адаптогенов на ранних этапах воздействия АФК на мембраны и корректировать оптимальные концентрации антиоксидантов в лечебной практике, учитывая тот факт, что при высоких концентрациях они могут проявлять прооксидантное действие и вызывать побочные эффекты.

ВЛИЯНИЕ НИЗКОДОЗОВОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА СООТНОШЕНИЕ УБИХИНОН/УБИХИНОЛ В МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ФРАКЦИИ ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ КРЫС С ТРАНСПЛАНТИРОВАННОЙ КАРЦИНОМОЙ ГЕРЕНА

Волощук О.Н., Биндяк Л.

Черновицкий национальный университет им. Юрия Федьковича, Черновцы (Украина)

E-mail: *oxbm@mail.ru*

Восстановленная форма убихинона обладает антиоксидантными свойствами, характерной чертой которого является способность к самостоятельному восстановлению своей антиоксидантной активности. Соотношение убихинон/убихинол является одним из важных показателей антиоксидантного статуса организма. Целью нашей работы было изучение влияния предварительного облучения малыми дозами радиации на соотношение убихинон/убихинол в митохондриальной фракции опухолевой ткани крыс с трансплантированной карциномой Герена.

Результаты работы показали, что в динамике опухолевого роста наблюдается тенденция к повышению соотношения убихинон/убихинол с максимумом на терминальных этапах онкогенеза. Предварительное низкодозовое облучение опухоленосителей обуславливает повышение соотношения убихинон/убихинол в сравнении с необлученными опухоленосителями на логарифмической и стационарной стадии роста карциномы Герена.

В исследуемый период соотношение убихинон/убихинол возрастает на 20%. Повышение содержания окисленной формы убихинона на фоне снижения содержания его восстановленной формы может лежать в основе нарушения механизмов антиоксидантной защиты биомолекул митохондрий от генерируемых в них АФК в условиях онкогенеза и облучения малыми дозами. В тоже время, учитывая биологическую роль убихинона как переносчика электронов в дыхательной цепи митохондрий, следствием изменения соотношения окисленной и восстановленной форм убихинона может быть нарушение окислительного фосфорилирования, что является характерной чертой опухолевых клеток.

СВЯЗЫВАНИЕ СИНТЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА ОКТАРФИНА С НЕОПИОИДНЫМ РЕЦЕПТОРОМ БЭТА-ЭНДОРФИНА МЕМБРАН ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫСЫ

Некрасова Ю.Н., Садовников В.Б., Наволоцкая Е.В.

Филиал Учреждения Российской академии наук Института биоорганической химии им. акад. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Пущино (Россия)

E-mail: *nekr-jul@mail.ru*

Известно, что эндогенный нейропептид, β -эндорфин, взаимодействует с опиоидными (μ и δ) и неопиоидными, нечувствительными к опиоидному антагонисту налоксону, рецепторами. До настоящего времени структура и функции последних остаются малоизученными.

Нами был синтезирован пептид TPLVTLFK (авторское название – октарфин), соответствующий последовательности 12-19 молекулы β -эндорфина. Для изучения связывания октарфина с мембранами коры головного мозга крысы мы использовали меченный тритием октарфин (уд. акт. 28Ки/моль).

Показано, что [^3H]октарфин связывается с мембранами коры головного мозга крысы с высоким сродством ($K_d=2.6\pm 0.2$ нМ). Специфическое связывание [^3H]октарфина ингибирует β -эндорфин (K_i 2.4 ± 0.2 нМ), селективный агонист неопиоидного рецептора β -эндорфина синтетический пептид иммунорфин (SLTCLVKGFY) (K_i 2.9 ± 0.2 нМ) и немеченный октарфин (K_i 2.7 ± 0.2 нМ). Немеченные синтетические аналоги октарфина проявляют низкую ингибирующую способность. Налоксон, α -эндорфин, γ -эндорфин, [Met 5]энкефалин и [Leu 5]энкефалин не обладают способностью вытеснить [^3H]октарфин из лиганд-рецепторного комплекса ($K_i > 10$ μM). Наряду с этим определено, что немеченный октарфин полностью

ингибирует специфическое связывание [³H]иммунофина с мембранами коры головного мозга крысы (K_i 2.8 ± 0.2 нМ).

Таким образом, бэта-эндорфин, иммунофин и октарфин связываются с общим рецептором на поверхности мембран коры головного мозга крысы. Данный тип рецептора не чувствителен к налоксону и не связывает опиоидные агонисты, следовательно, он имеет неопиоидную природу.

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ БИОКОМПЛЕКСА ЛЕКТИН-ЭКДИСТЕРОИД К ФИТОПАТОГЕНАМ

Нургалева Э.З., Султанова А.А.

Башкирский государственный университет, Уфа (Россия)

E-mail: nurgaleewa.elina@yandex.ru

Несмотря на использование болезнестойчивых сортов, и фунгицидов потери урожая зерновых культур от болезней в последние годы имеют тенденцию к увеличению. Одна из причин объясняющих это явление заключается в том, что в условиях прессинга фитопатогенами, культурные растения не могут реализовать свой генетический потенциал устойчивости и продуктивности.

В системе защиты растений перспективным направлением рассматриваются прогрессивные технологии создания и использования менее опасных препаратов с не биоцидной активностью. Важно знать, как реализуются потенциальные возможности действующих веществ биокомплекса лектин-экдистероид при различных грибных заболеваниях, чтобы в дальнейшем на их основе создавать фунгициды не биоцидной природы. В задачи исследования входило - изучить биологическую активность биокомплекса к фитопатогенам пшеницы, выяснить их действие на абсорбцию света ХБК, содержание белков, витаминов и активность оксидоредуктаз.

Действие биокомплекса в растительном организме имеет комбинированный характер и складывается из их догеномного (фунгицидного) и геномного влияния на синтетические процессы в клетках.

Результаты исследования позволили выявить высокую биологическую эффективность лектин-экдистероидного биокомплекса, проявившуюся в существенном подавлении развития возбудителей корневых гнилей. Это говорит о том, что одной из важных составляющих биологической активности лектин-экдистероида является антимикробная активность. Важным свойством биопрепарата является и то, что он действует положительно на активность лектинов, играющих немаловажную роль в защитных реакциях растений к ржавчине.

На основе проведенных испытаний можно заключить, что лектин-экдистероиды обеспечивают устойчивость растений не только прямым путем, а через влияние на другие защитные системы, такие как активность лектинов, система пероксидазы, аскорбиновой кислоты и белка. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности применения лектин-экдистероидсодержащих биопрепаратов для снижения развития и распространения фитопатогенов.

ИНГИБИТОРЫ ПРОТЕИНАЗ *ESCHINACEAE PURPUREA* ПРОЯВЛЯЮТ АНТИКОАГУЛЯНТНУЮ АКТИВНОСТЬ

Иванов О.А.¹, Красненкова Т.П.², Афонин В.Ю.², Домаш В.И.¹

¹Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф.Купревича НАН Беларуси;

²Научно-производственный центр «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси», Минск (Беларусь)

E-mail: heleg-zero@mail.ru

Эхинацея – одно из наиболее применяемых в лечебных целях растение. В практике акцент делается на иммуномодулирующих эффектах экстрактов эхинацеи. Представляет интерес поиск новых форм биологической активности экстрактов и препаратов из этого растения. Ранее

в экстрактах корневищ и листьев *Echinaceae purpureae* (*Compositae*), а также в очищенном препарате ингибиторов была обнаружена значительная ингибиторная активность в отношении трипсина и тромбина. В настоящей работе было исследовано действие препарата ингибиторов трипсина/тромбина из корневищ *E. purpureae* (ЕрІ) при внутривенном введении крысам на показатели свертываемости крови.

Препарата ЕрІ получен в результате трехступенчатой очистки при помощи гель- и ионообменной хроматографии. Выделенный препарат обладал выраженной ингибиторной активностью в отношении трипсина и тромбина *in vitro*. В опыте 80% активности трипсина подавлялось при концентрации 26 мкг/мл ЕрІ. 92% активности тромбина в течение времени проведения теста ингибировалось при концентрации препарата 44 мкг/мл. Результаты опытов *in vitro* позволили предположить возможные антикоагулянтные эффекты ЕрІ в модельных опытах на животных.

Наибольший эффект при внутривенном введении у крыс экспериментальной группы ЕрІ оказывал на тромбиновое время, статистически значимо увеличивая его на 81% по сравнению с контрольной группой, в то время как АЧТВ увеличивается на 12%, а протромбиновое время на 11%. Исследование эффектов ЕрІ на показатели свертываемости крови крыс продемонстрировали антикоагулянтные свойства препарата в дозе 170 мкг/кг.

ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ NADH-ЦИТОХРОМ b₅-РЕДУКТАЗЫ МИКРОСОМНОЙ ФРАКЦИИ ПЕЧЕНИ КРЫС-ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЕЙ

Кеца О.В., Винничук С.М.

Черновицкий национальный университет им. Юрия Федьковича, Черновцы (Украина)

E-mail: ketsa80@mail.ru

NADH-цитохром b₅-редуктаза является универсальным донором электронов для всех изоформ цитохрома b₅. Основная функция NADH-зависимой цитохром b₅-редуктазы заключается в перенесении электронов от восстановленного NADH на цитохром b₅, который на следующем этапе передает электроны на цитохром P-450 (СУР).

Изучение каталитических свойств NADH-специфического флавопротеина в условиях роста в организме опухоли имеет большое значение для понимания механизмов транспорта электронов на СУР и процессов гидроксирования ксенобиотиков разными изоформами СУР в печени.

Цель работы – определить NADH-цитохром b₅-редуктазную активность в микросомной фракции печени крыс с трансплантированной карциномой Герена.

Исследование NADH-цитохром b₅-редуктазной активности в микросомной фракции печени крыс-опухоленосителей показали, что в латентную фазу онкогенеза активность фермента не изменяется в сравнении с контрольными показателями.

В период интенсивного роста опухоли NADH-цитохром b₅-редуктазная активность в микросомной фракции печени повышается. В то же время наблюдается снижение содержания микросомного цитохрома b₅ печени.

Повышение NADH-цитохром b₅-редуктазной активности может иметь негативные последствия, поскольку в данном случае электроны передаются не на цитохром b₅, содержания которого снижено, а на молекулярный кислород, в результате чего образуются активные формы кислорода и происходит инициация свободнорадикального окисления макромолекул в клетке.

На терминальном этапе роста карциномы Герена в организме наблюдается снижение активности микросомной NADH-зависимой редуктазы, вероятно в следствие окисления энзима, что ограничивает скорость транспорта электронов на гидроксиллазную редокс-цепь, а в частности на СУР.

Таким образом, в условиях роста в организме карциномы Герена в микросомной фракции печени наблюдается повышение NADH-цитохром b₅-редуктазной активности в латентную фазу онкогенеза со следующим снижением на терминальном этапе роста опухоли в организме.

ВЛИЯНИЕ СИМБИТЕРА® НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ГЛУТАТИОНОВОЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ ЖЕЛУДОЧНОЙ ГИПОАЦИДНОСТИ

Короткий А.Г., Тимошенко М.А., Пилипенко С.В., Гайда Л.Н., Кравченко О.А.

Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко, Киев (Украина)

E-mail: korotky@ukr.net

Длительное снижение желудочной секреции соляной кислоты вызывает развитие гипергастринемии, дисбиозов и воспалительных процессов в желудочно-кишечном тракте. В свою очередь, воспаление может сопровождаться нарушением процессов свободнорадикального окисления и функционирования системы антиоксидантной защиты. С целью лечения нарушений микробиоценоза и воспаления в желудочно-кишечном тракте широко используют пробиотики. Показано, что некоторые штаммы пробиотических микроорганизмов способны влиять на процессы перекисного окисления липидов и функционирование антиоксидантной системы.

Целью нашей работы было определение влияния мультипробиотика «Симбитер®» на содержание восстановленного глутатиона и активность глутатионзависимых ферментов в сыворотке крови крыс при длительной желудочной гипоацидности.

Гипоацидное состояние моделировали на белых нелинейных половозрелых крысах-самцах внутрибрюшинным введением 1 раз в сутки «Омега®» (ОМ) в дозе 14 мг/кг в течении 28 дней. Крысам других групп вводили 1 раз в сутки на протяжении 28 дней перорально мультипробиотик «Симбитер®» (СИМ) в дозе 0,14 мл/кг отдельно, а также совместно с ОМ. Через сутки после последнего введения препаратов в сыворотке крови крыс определяли уровень восстановленного глутатиона (ВГ), активность глутатионзависимых пероксидазы (ГП), трансферазы (ГТ) и редуктазы (ГР).

Показано, что длительная желудочная гипоацидность сопровождалась снижением содержания ВГ и активности ГР, а также увеличением активности ГП и ГТ относительно контроля. При одновременном введении ОМ и СИМ наблюдалась восстановление уровня ВГ, активности ГР и ГП, а также снижение активности ГТ относительно группы с гипоацидным состоянием. Полученные результаты свидетельствуют о том, что длительная желудочная гипоацидность приводит к нарушению функционирования глутатионовой антиоксидантной системы, в то время как, введение «Симбитера®» восстанавливает ее работу и свидетельствует об усилении адаптивно-защитных возможностей организма.

ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССОВ АДСОРБАЦИИ Н и ОН ИОНОВ НА ДЕКСТРАНЕ ПРИ ЗНАЧЕНИИ рН РАВНЫЙ ТРЁМ

Белякова И.С., Мартынов Д.В., Чухно А.С.

Санкт-петербургский государственный университет, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: martyn88@list.ru

Исследование полигликозидов типа декстрана представляет большой интерес для биохимиков и физиологов благодаря значению, которое они приобрели как заменители плазмы крови, а также осмотическим и многим другим свойствам. Декстраны - гомополисахариды, состоящие из глюкопиранозных остатков с эмпирической формулой $(C_6H_{10}O_5)_n$. Они содержат два типа гидроксильных групп проявляющих амфотерные свойства глюкозидные и глюкозные.

Изучение кислотно-основного баланса в системах декстран - водные растворы электролитов необходимо для установления коллоидно-химических свойств этих дисперсных систем, которые определяют их использования как заменителей плазмы крови, так и природных сорбентов, используемых при очистке организма от вредных веществ.

Целью данной работы является исследование влияния одно-, двух-, и трехзарядных электролитов на адсорбцию H^+ и OH^- на декстране в зависимости от концентрации электролита и рН дисперсной системы.

В работе использовались водные растворы хлоридов Na, Mg, Al с концентрациями от 10 до 10⁻⁴. рН регулировалось 10-ю стандартными буферами. Время адсорбции катионов на декстране было выбрано 30 минут. Определялись рН точки нулевого заряда (ТНЗ) методом

потенциометрического титрования, по стандартной методике. Титрование проводили с адсорбентом декстраном и без адсорбента. По экспериментальным данным были построены графики зависимости объема добавленной щелочи в мл от pH. Из графиков видно, что происходит смещение ТНЗ декстрана в ряду NaCl, MgCl₂ и AlCl₃ при концентрации равной 10 моль/л в следующем порядке 4,54,453,9, что соответственно свидетельствует о более значительной специфической адсорбции катионов Al, чем катионов Na и Mg.

СТРУКТУРА И СВОЙСТВА УГЛЕВОДНЫХ ФРАГМЕНТОВ ФЛАГЕЛЛИНА ПОЛЯРНОГО ЖГУТИКА БАКТЕРИЙ *AZOSPIRILLUM BRASILENSE*

Бурыгин Г.Л., Беляков А.Е., Селиванов Н.Ю., Матора Л.Ю., Щёголев С.Ю.

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов (Россия)

E-mail: gena@ibppm.sgu.ru

Гликозилирование белка в прокариотических организмах – относительно редкий процесс посттрансляционной модификации. Более десяти лет назад был установлен факт гликозилирования главного структурного белка полярного жгутика азоспирилл – флагеллина. Однако до сих пор отсутствуют сведения о размерах, структуре и функциях O-связанного углевода гликозилированного флагеллина полярного жгутика типового штамма *A. brasilense* Sp7, а также о наличии углеводных фрагментов в составе флагеллинов других штаммов азоспирилл.

Целью данной работы было изучение особенностей строения и антигенных свойств флагеллина полярного жгутика ассоциативных бактерий *Azospirillum brasilense*.

В работе впервые показано наличие нетипичной для бактериальных флагеллинов доли углеводных фрагментов у типового штамма *A. brasilense* Sp7, составляющая 0,25-0,3. Эти данные подтверждены при изучении состава углеводных фрагментов. Методом масс-спектрометрии определено присутствие в молекуле флагеллина *A. brasilense* Sp7 O-связанного полисахарида с молекулярной массой 7700 Да. При этом для других гликозилированных флагеллинов эубактерий характерно присутствие O-связанных моносахаридов или олигосахаридов.

Впервые установлено строение повторяющегося звена O-связанного полисахарида, входящего в состав молекулы флагеллина полярного жгутика *A. brasilense* Sp7, состоящего из остатков рамнозы, глюкозамина, фукозы и галактозы. Методом иммуноферментного анализа установлено, что антигенные детерминанты липополисахарида и углеводных фрагментов флагеллина полярного жгутика *A. brasilense* Sp7 антигенно близки и проявляют групповую серологическую специфичность. В то же время антитела на флагеллин штамма Sp7 взаимодействуют с препаратами флагеллина серологически различных штаммов азоспирилл, что свидетельствует о высокой консервативности белковых антигенных детерминант Н-антигена данных бактерий.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОВЕРХНОСТНОГО НАТЯЖЕНИЯ АМИНОКИСЛОТ И БЕЛКОВ

Латий Л.Г., Петрова Т.Н., Чухно А.С., Дмитриева И.Б.

Санкт-Петербургская химико-фармацевтическая академия, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: warma-j@rambler.ru

Наша работа посвящена исследованию адсорбции аминокислот и белков на поверхностях различной природы. Толчком к исследованию послужила необходимость поиска решения проблемы создания антитромбогенных материалов. Нас заинтересовал вопрос адсорбции белков и аминокислот на неполярных поверхностях. Как известно, белки – ВМС, мономерами которых являются аминокислоты. Можно заметить, в первичной структуре белка чередуются полярные и неполярные группы. Подобное строение вызывает сомнение в поверхностной активности. Однако, нельзя забывать о том, что обычно белок находится в состоянии глобулы

или фибриллы. Так встает вопрос: обладают ли белки поверхностной активностью и какие выводы об их строении можно сделать по их поверхностной активности? Ответ на данный вопрос был целью нашей работы.

Для измерения поверхностного натяжения мы использовали полустатический метод отрыва кольца. Суть его - в измерении угла закручивания нити тензиометра при различных концентрациях водных растворов глицина, аланина и альбумина. Так как мы использовали полустатический метод, было интересно узнать, изменяются ли измеряемые параметры во времени. Для сравнения провели опыты со свежеприготовленным глицином, и выяснилось, что отстоявшийся раствор понижает поверхностное натяжения хуже.

Было установлено, что все вещества понижают поверхностное натяжение, и процесс происходит во времени.

В работе установлено, что поверхностное натяжение водных растворов белков и аминокислот уменьшается в ряду раствор аланина > глицина > альбумина. Интересно, что аланин, несмотря на то, что содержит на одну метильную группу больше, чем глицин, снижает поверхностное натяжение воды меньше. Показано, что поверхностное натяжение исследованных систем, зависит не только от соотношения гидрофильных и гидрофобных групп в молекуле белка или аминокислоты, но и от их пространственного расположения в молекуле.

ВЛИЯНИЕ ГИПОКСИЧЕСКОГО СТРЕССА НА СОДЕРЖАНИЕ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА В РАЗЛИЧНЫХ КОМПАРТМЕНТАХ КЛЕТОК РАСТЕНИЙ СОИ

Бердникова О.С., Ершова А.Н.

Воронежский государственный педагогический университет, Воронеж (Россия)

E-mail: olgaberdn@mail.ru

В результате действия гипоксического стресса в растительных клетках происходит накопление активных форм кислорода (АФК), к которым относят свободные радикалы (супероксидные анион-радикалы, перекисные и гидроксильные радикалы) и нейтральные молекулы – синглетный кислород и пероксид водорода, являющийся самой стабильной и долгоживущей формой АФК. Было показано, что образование АФК в клетках растений гороха и сои происходило даже при действии кратковременной (3 ч) гипоксии. Исследовали скорость образования пероксида водорода в митохондриях, хлоропластах и цитоплазме 10-дневных проростков сои, подвергнутых воздействию кратковременной (3, 6, 24 ч) гипоксии и среды диоксида углерода. Содержание пероксида определяли с использованием пероксидазы. Митохондрии и хлоропласты выделяли методом дифференциального центрифугирования.

Показано, что значительное (в 3-3,5 раза) накопление пероксида происходило в хлоропластах клеток сои уже через три часа действия гипоксии и среды CO₂. В дальнейшем это накопление сохранялось и к концу опыта (24 ч) содержание пероксида превышало уровень контроля в условиях гипоксии в 2 раза, а в CO₂-среде было более значительным. В тоже время в митохондриях процесс накопления пероксида отмечался лишь через 6 часов действия CO₂-среды. К концу опыта происходило увеличение содержания пероксида на 41% в условиях гипоксии, а в CO₂-среде – на 14%. В цитоплазме не отмечалось накопления данной АФК.

Впервые исследовано содержание пероксида водорода в различных клеточных компартментах и показано, что его накопление происходило в большей степени в хлоропластах, в митохондриях оно было менее значительным, а в цитоплазме не наблюдалось. Отмечено, что это накопление пероксида в клеточных компартментах сои было менее значительным, чем у неустойчивых растений гороха. Установлено, что высокие концентрации CO₂ усиливали эффекты гипоксии на накопление пероксида водорода в клеточных компартментах.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИНАМИКА САМООРГАНИЗУЮЩИХСЯ ИОННЫХ ПЕПТИДОВ (RADA)₄ – КОМПОНЕНТОВ ИСКУССТВЕННОГО МАТРИКСА

Шадрина Т.Е.^{1,2}, Данилкович А.В.^{1,2}, Тихонов Д.А.³, Соболев Е.В.³,
Удовиченко И.П.^{1,2}

¹Филиал Института биоорганической химии им. акад. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН; ²Пушкинский государственный университет; ³Институт математических проблем биологии РАН, Пушкино (Россия)

E-mail: tshadr@rambler.ru

Самоорганизующиеся пептиды (RADA)₄ способны образовывать фибриллы протяжённостью в несколько десятков нм, которые формируют пространственную сеть волокон. Физико-химическими методами было показано, что формирующиеся волокна сложены из анти-параллельных молекул пептидов в b-конформации, которые расположены перпендикулярно продольной оси филамента.

Поскольку механизм филаментобразования с участием ионных пептидов до конца не выяснен, изучение энергетических характеристик, конформационных свойств молекул (RADA)₄ и их влияние на характер взаимодействия пептидов на начальном этапе процесса организации филамента представляет большой интерес. Эта задача особенно важна в свете решения вопроса о разработке новых искусственных наноматериалов-биомиметиков, в том числе биогелей и искусственных матриксов, имеющих значительный потенциал использования при культивировании линий клеток *in vitro* и в тканевой инженерии *in vivo*.

Для изучения мономеров (RADA)₄ в различных исходных конформациях, а также димеров пептидов вида α -helix/beta, beta/beta и Pi-helix/beta был использован метод молекулярного моделирования. В экспериментах *in silico* с использованием пакета программ AMBER (версия 11, ff03) получены сравнительные данные о конформационных состояниях модельных структур (RADA)₄ при 300К на экспериментальном отрезке времени 5-10 нс.

Показано, что мономеры ионных пептидов, вне зависимости от исходной конформации молекулы, склонны к образованию α -спирализованной структуры, что подтверждается картами Рамачандрана и значениями RMSD для атомов пептидного остова. Динамика димерных структур (RADA)₄ показывает, что сегмент бета-складчатой структуры наблюдается только в случае димера beta/beta.

Таким образом формирование инициаторного ядра филамента (протофиламента), по-видимому, происходит с участием нескольких молекул пептидов в рамках кооперативного процесса, при этом значительную роль играют межмолекулярные взаимодействия гидрофобных аминокислотных остатков. Именно образование стабильной структуры протофиламента определяет возможность самоорганизации ионных пептидов (RADA)₄ при формировании искусственного матрикса.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (ГК №02.740.11.5224 и ГК № 14.740.11.0170) в рамках федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» с использованием оборудования, предоставленного ООО «Модуль-Проекты», г. Москва.

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРОВ НА АКТИВНОСТЬ РАЗНЫХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ФОРМ β -ГЛЮКОЗИДАЗЫ РАСТЕНИЙ ГОРОХА

Баркалова О.Н., Фатуллаева А.С., Ершова А.Н.

Воронежский государственный педагогический университет, Воронеж (Россия)

E-mail: oks-bar@mail.ru

β -Глюкозидаза (ЕС 3.2.1.21) катализирует гидролиз β -гликозидной связи в β -D-арил- и олигоглюкопиранозидах, в связи с чем вовлекается в модификацию матрикса клеточной стенки растений и играет важную роль в метаболизме вторичных соединений. Ранее нами было показано, что β -глюкозидаза растений гороха существует в виде цитоплазматической и связанной с клеточной стенкой (адсорбированная, ионносвязанная) молекулярных форм. Они отличались оптимумом pH, термостабильностью, субстратной специфичностью. Для ряда

растительных β -глюкозидаз было показано ингибирование δ -глюконолактоном, но тип ингибирования в отличие от ферментов микроорганизмов, не был изучен. В связи с этим, провели исследование типа и механизма ингибирования молекулярных форм фермента мочевиной и δ -глюконолактоном.

β -Глюкозидазу выделяли из цитоплазмы клеток, а связанные с клеточной стенкой формы фермента фосфатно-цитратным буфером рН 4,8 (адсорбированная) и 1 М NaCl (ионносвязанную). Получены высокоочищенные препараты молекулярных форм фермента методом дифференциального центрифугирования, высаливанием и гель фильтрацией на G-25 и G-100. Активность фермента определяли в присутствии разных концентраций субстрата р-НФГ (0,5-10,0 мМ) и рассчитывали в ФЕ/мг белка. Использовали δ -глюконолактон (0,01-0,2 мМ) и мочевины (0,1 и 1,0 мМ), которые вносили в среду инкубации фермента.

Установлено, что в отличие от бактериальных, для растительных β -глюкозидаз величина K_i по δ -глюконолактону была значительно выше и составляла для цитоплазматической 0,92 мМ, для адсорбированной - 15,9 мМ и ионносвязанной - 8,06 мМ. Анализ полученных кривых показал, что для цитоплазматической и адсорбированной β -глюкозидаз был характерен смешанный тип ингибирования, а для ионносвязанной – конкурентный тип. Мочевина выступала в качестве конкурентного ингибитора. При этом K_i для ионносвязанной β -глюкозидазы составляла 64,1 мМ, для адсорбированной - 8,0 мМ и цитоплазматической - 3,4 мМ.

Таким образом, полученные данные по K_i (δ -глюконолактоном и мочевиной) различных молекулярных форм β -глюкозидазы подтверждают наличие существенных различий физико-химических и кинетических свойств в исследуемых ферментных препаратах.

СОДЕРЖАНИЕ ЛИПОПРОТЕИНОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ КРЫС ПРИ ГИПОТЕРМИИ

Маяхи Мохаммед Т. Джабер, Кличханов Н.К.

Дагестанский государственный университет, Махачкала (Россия)

E-mail: jamgram@mail.ru

Важным компонентом холодовой стрессорной реакции гомойотермов является активация катаболических процессов, интенсивность которых можно оценить по анализу липидных компонентов плазмы крови. Исследования показали, что острое охлаждение крыс с развитием гипотермии сопровождается существенным изменением в крови липидных компонентов. Однако неизвестно, как изменяется при гипотермии содержание липопротеинов в плазме крови. Нами исследовано влияние умеренной (температура тела 30°C) и глубокой гипотермии (температура тела 20°C) на содержание различных классов липопротеинов в плазме крови крыс.

Анализ липопротеинов плазмы крови методом электрофореза в агарозном геле показал, что при гипотермии существенное изменение происходят в содержании ЛПОНП. При кратковременной (30 мин) и пролонгированной (3 ч) умеренной гипотермии, а также при глубокой гипотермии содержание ЛПОНП в плазме крови возрастает примерно в 2 раза. Содержание ЛПВП при гипотермии изменяется в меньшей степени. Гипотермия различной глубины и длительности не оказывает влияния на содержание ЛПНП. ЛПОНП синтезируются в печени и, в основном, участвуют в транспорте в клетки насыщенных и моноеновых жирных кислот через апо-Е/В-100 рецепторы; часть ЛПОНП превращаются ЛПНП.

Поскольку содержание ЛПНП при гипотермии не изменяется, то можно предположить, что повышение содержание ЛПОНП в условиях гипотермии связано с ингибированием их рецептор-зависимого транспорта в клетки. При блокаде активного транспорта в крови накапливаются ЛПОНП, активируется гидролиз триацилглицеролов ЛПОНП и освобождаются жирные кислоты. При гипотермии обнаружено повышение уровня незэстерифицированных жирных кислот в плазме крови.

ВЛИЯНИЕ ГИПОТЕРМИИ НА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В МОЗГЕ КРЫС

Магомедов К.Г., Исмаилова Ж.Г., Дибиргаджиева П.Ш., Раджабова З.Г., Сулейманова П.И., Мейланов И.С., Кличханов Н.К.

Дагестанский государственный университет, Махачкала (Россия)

E-mail: *jamilja@mail.ru*

Для гомойотерных животных снижение температуры тела является экстремальным состоянием. Одним из повреждающих факторов при гипотермии является стрессорная активация свободнорадикальных процессов (СРП) в тканях. Нейроны головного мозга особенно чувствительны к активным формам кислорода и первыми повреждаются в условиях окислительного стресса.

Для оценки возможности активации СРП в мозге и их влияния на клетки мозга нами исследована интенсивность окислительной модификации липидов и белков мембран синапсом из коры головного мозга крыс при гипотермии разной глубины и длительности. Кратковременная умеренная гипотермия (30°C) стимулирует окислительную модификацию как липидов, так и белков мембран синапсом. При этом степень окислительной модификации мембранных белков (по анализу карбонильных групп и дисульфидных связей) выше, чем липидов.

Пролонгирование гипотермии 30°C в течение 3-х ч. приводит к существенному снижению интенсивности СРП в синапсомах. При глубокой гипотермии (20°C) степень окислительной модификации липидов и белков существенно не отличается от контроля. Внутривентрикулярное введение опиоидного пептида даларгина в дозе 0,5 мг/кг за 30 мин до холодового воздействия полностью предотвращает перекисное окисление липидов, но не влияет на степень окислительной модификации белков мембран синапсом при кратковременной гипотермии 30°C.

Таким образом, начальные этапы гипотермии стимулируют СРП в мозге, а введение даларгина частично предотвращает развитие окислительного стресса.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНП №2.1.1/1605.

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ СИНТЕЗА И РАСПАДА ГЕМА В ПЕЧЕНИ КРЫС С ТРАНСПЛАНТИРОВАННОЙ КАРЦИНОМОЙ ГЕРЕНА

Кеца О.В., Зла А.В.

Черновицкий национальный университет им. Юрия Федьковича, Черновцы (Украина)

E-mail: *ketsa80@mail.ru*

Источниками пополнения пула свободного гема в гепатоцитах являются тканевые гемопротейны и гем, синтезированный *de novo*. Свободный гем является прооксидантным и его накопление в клетках вызывает изменения антиоксидантно-прооксидантного статуса. Скорость образования гема с одной стороны зависит от активности ключевого фермента синтеза гема - 5-аминолевулинатсинтазы (АЛК), а с другой - накопление свободного гема в ткани определяется скоростью его разрушения гемоксигеназой.

Цель работы – изучение активности ферментов синтеза и распада гема в печени крыс с трансплантированной карциномой Герена.

Результаты проведенных исследований показали, что в латентную и логарифмическую фазы онкогенеза значения ферментативной активности гемоксигеназы снижаются в 1,6 и 1,9 раза соответственно в сравнении с контрольными показателями. Снижение гемоксигеназной активности в печени крыс-опухоленосителей в период начального и интенсивного роста в организме карциномы Герена может быть следствием повышения процессов окислительной модификации белков, приводящих к нарушению структуры фермента и его постепенной инактивации.

Наблюдаемое повышение активности АЛК может быть предопределено интенсивным использованием новообразованного свободного гема в клетке на построение микросомальных и митохондриальных гемопротейнов.

На терминальном этапе роста карциномы Герена в организме наблюдается последующее снижение гемоксигеназной и 5-аминолевулинатсинтазной активности в печени в сравнении с контролем.

Результатом постепенной инактивации гемоксигеназы печени в организме-опухоленосителя может быть накопление свободного гема в клетках, образующегося при разрушении микросомальных и митохондриальных гемопротеинов. Поскольку свободный гем - активный прооксидант, усиливающий свободнорадикальные процессы в клетке, то его накопление может привести к окислительной модификации белков, а в следствии и к инактивации гемоксигеназы и АЛК.

Таким образом, развитие в организме карциномы Герена приводит к постепенному снижению активности ферментов синтеза и распада гема в печени крыс-опухоленосителей в сравнении с показателями интактных животных.

АКТИВНОСТЬ И ИЗОФЕРМЕНТНЫЙ СОСТАВ ИЗОЦИТРАТЛИАЗЫ В СЕМЕНАХ АМАРАНТА РАЗНЫХ СОРТОВ

Сальников А.В., Епринцев А.Т., Ассиль М. Хаба, Хамвитала Макмиллан
Воронежский государственный университет, Воронеж (Россия)

E-mail: *biolog1987@rambler.ru*

Длительное время изучается глиоксилатный цикл растений, обеспечивающий конверсию запасных липидов в интермедиаты конструктивного метаболизма. Изоцитратлиаза (ИЦЛ, КФ 4.1.3.1), являясь одним из центральных ферментов глиоксилатного цикла, играет значительную роль в обеспечении процесса конверсии запасных липидов в форму углеводов, что делает возможным построение клеточных компонентов в период, когда интенсивность фотосинтеза низка и необходимы эндогенные источники углеводов.

Целью данной работы являлось определение динамики активности и изоферментного состава ИЦЛ в семенах амаранта разных сортов. В качестве объекта исследования служили семена амаранта разных сортов (Гигант, Рыжик, Воронежский), выращенные гидропонным способом при $t = 25^{\circ}\text{C}$. Амарант является нетрадиционной продовольственной культурой и по сбору белка, аминокислот, витаминов, макро- и микроэлементов с единицы площади превосходит традиционные зерновые и зернобобовые культуры.

Динамика активности исследуемого фермента в процессе прорастания семян амаранта разных сортов в течение 10 дней показало, что в сухих семенах наблюдается ферментативная активность ИЦЛ, однако, уже через двое суток активность данного фермента увеличивается до максимального значения у всех исследуемых сортов и составляет для Гиганта – 0,55 Е/г.с.м., для Рыжика - 0,328 Е/г.с.м., для сорта Воронежский – 0,135 Е/г.с.м. С третьего дня прорастания семян происходит снижение скорости функционирования ИЦЛ, что, видимо, связано с уменьшением количества запасных липидов.

Полученные данные по динамике активности ИЦЛ и изоферментному составу показывают, как изменяется скорость функционирования глиоксилатного цикла и чем обусловлено повышение активности изоцитратлиазы на начальных этапах онтогенеза. При прорастании семян амаранта осуществляется синтез двух изоформ ИЦЛ, что позволяет с большей интенсивностью протекать конструктивному и энергетическому обмену. Обсуждается корреляция изменения активности ИЦЛ и других ферментов, участвующих в глюконеогенетических реакциях.

АКТИВНОСТЬ ГЕКСОКИНАЗЫ, ФОСФОФРУКТОКИНАЗЫ, ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ И Na,K-АТФАЗЫ В ЭРИТРОЦИТАХ ПРИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Тихонова Л.А., Белоушко Е.Е., Каминский Ю.Г., Косенко Е.А.
Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН; Пушкинский государственный университет, Пушкино (Россия)

E-mail: *ljudasik09@rambler.ru*

Патологические изменения в мозге при болезни Альцгеймера (БА) наиболее часто объясняются на основе каскадной амилоидной гипотезы, согласно которой накапливающиеся бета-амилоиды (бетаА) инициируют нейродегенеративные процессы в нейронах. При этом подразумевается, что аналогичные изменения при старении организма не происходят. Кроме того, начальные стадии и, следовательно, патогенез БА совершенно не изучены, участие других органов и клеток, отличных от мозга и нейронов, в патогенезе БА и других формах деменции фактически игнорируется.

Недавно мы изучали гликолитическую систему энергообеспечения в эритроцитах человека *in vitro* и нашли, что бетаА(25-35) вызывает лизис эритроцитов и параллельно снижает активность гликолитических ферментов лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и фосфофруктокиназы (ФФК) и транспортной Na,K-АТФазы, а ингибитор гликолиза фторид натрия и ингибитор Na,K-АТФазы убаин резко усиливают эритротоксичность бетаА(25-35).

В данной работе мы выясняли, изменяется ли активность гексокиназы, ФФК, ЛДГ и Na,K-АТФазы *in vivo* в эритроцитах при болезни Альцгеймера путем сравнения активности ферментов в эритроцитах пациентов с БА, пожилых здоровых лиц такого же возраста и молодых добровольцев. Оказалось, что активность всех трех гликолитических ферментов и транспортной Na,K-АТФазы достоверно снижена в эритроцитах пожилых контрольных лиц, при сравнении с показателями молодого контроля, и почти в 2 раза (кроме ЛДГ) выше у пациентов, чем у пожилых лиц. Активность всех четырех ферментов в эритроцитах пациентов достоверно выше, чем в клетках молодых добровольцев: ГК на 84%, ФФК на 49%, ЛДГ на 42% и Na,K-АТФазы на 31%. Содержание АТФ снижено на 20-30% и в равной степени в эритроцитах пожилых лиц и пациентов с БА.

Результаты свидетельствуют о том, что при БА нарушается ионный гомеостаз по обе стороны мембраны эритроцита, повышается активность Na,K-АТФазы для восстановления баланса и адаптивно усиливается гликолиз для энергообеспечения транспорта ионов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 09-08-00420.

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ УГЛЕРОДА НА СТРУКТУРНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ КЛЕТКИ

Бордей Н.С., Дмитриева И.Б., Соболева Е.Н., Чухно А.С.

Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия,
Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: a430@yandex.ru

Целью работы была оценка влияния углеродных наночастиц на некоторые структурные элементы клетки, а также возможности пассивного перемещения наночастиц углерода через биологические барьеры клетки.

В качестве наночастиц углерода использовались фуллерены C₆₀ в виде водной суспензии и в растворенном в неполярных растворителях состоянии, в концентрациях от 10⁻⁶ до 10⁻³ моль/л.

Объектами исследования служили аминокислоты, белки, жирное масло, метилцеллюлоза, а также их комбинации.

Результаты оптических (ИК и УФ-спектроскопии) и реологических исследований свидетельствуют о том, что в присутствии фуллеренов аминокислоты, белки (альбумин и желатин) и метилцеллюлоза прочно связываются с ними, образуя крупные агрегаты, которые со временем оседают.

Методом ИК-спектроскопии и потенциометрического титрования было установлено отсутствие связывания по амино- и карбоксильным группам белка. Вероятно, связывание идет по гидрофобным участкам полимера.

Опыты по эмульгированию и анализ изменения поверхностного натяжения растворов в присутствии C₆₀ показали, что аминокислоты не стабилизируют или дестабилизируют эмульсии как в присутствии, так и в отсутствии фуллеренов, а полимеры, такие как МЦ, альбумин и желатин стабилизируют эмульсии, причем прослеживается тенденция к улучшению стабилизации при наличии в масляной фазе фуллеренов.

Водную фазу эмульсий фуллерены не переходят, что было подтверждено спектрофотометрически.

Результаты опытов на таких моделях структурных элементов клеток говорят о том, что фуллерены не способны пассивно проникать через них и, наиболее вероятно, через реальные биобарьеры, т.к. связываются со всеми исследованными биополимерами в прочный комплекс. При попадании в неполярную фазу в дальнейшем не переходят в полярную.

Ряд работ все же подтверждает возможность проникновения наночастиц углерода через клеточные барьеры, что позволяет предположить существование переносчика в реальных биомембранах, который связывается с наночастицами и транспортирует их внутрь клетки.

ПРИМЕНЕНИЕ ТЕРМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОПТИМАЛЬНЫХ ТЕМПЕРАТУР ХРАНЕНИЯ КРОВЕЗАМЕНИТЕЛЕЙ

Сорокина А.С., Токарева К.А., Бахолдина Л.А, Чухно А.С.

Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия,
Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: ksenyatokareva@mail.ru

Многие лекарственные препараты в своем составе содержат аминокислоты, пептиды, липиды, полисахариды, ионогенные ПАВ, т.е. такие вещества при растворении которых в определенных условиях образуются золи и гели (лиотропные жидкие кристаллы). К ним относятся плазмозамещающие растворы и средства для парентерального питания или кровезаменители. Широкое применение из них получили желатиноль и препараты на основе декстрана: реополиглокин и полиглокин.

Целью данной работы являлось изучение возможности применения термического анализа для определения оптимальных температур хранения кровезаменителей.

Изучение зависимости температуры фазового перехода, растворимости и других свойств от состава системы, проводится при помощи метода термического анализа.

В основе метода термического анализа лежит исследование скорости изменения температуры системы по мере ее охлаждения или нагревания. Исследуемыми растворами являлись 10% реополиглокин и 8% желатиноль. По построенным графикам зависимости температур систем от времени в ходе охлаждения (нагревания), так называемым кривым охлаждения (нагревания), находили точки излома, определяли соответствующие им температуры начала фазового перехода. Строили диаграмму состояния системы вода - вещество, откладывая по оси ординат температуры фазового перехода растворов кровезаменителей различной концентрации, а по оси абсцисс- состав смесей. По полученной фазовой диаграмме определяли области существования кровезаменителей, как истинных растворов, так и их состояние в форме золя и геля.

На основании полученных результатов показана возможность применения термического анализа для определения температур фазового перехода, а также выбора оптимальных температур хранения кровезаменителей:

- реополиглокина(10% раствор) от +10°C до +25°C.
- желатиноля (коллоидный 8% раствор) от+4,5°C до +20°C.

ЛИПИДНЫЙ ОБМЕН ТИМОЦИТОВ ПРИ ИСКУССТВЕННОМ ГИПОБИОЗЕ КРЫС

Быкова О.В., Маркевич Л.Н., Коломийцева И.К.

Институт биофизики клетки РАН, Пущино (Россия)

E-mail: lelechek@list.ru

Искусственный гипобиоз – обратимое снижение жизнедеятельности незимоспящих млекопитающих, сопровождающееся резким угнетением интенсивности метаболизма, снижением температуры тела, подвижности и электрической активности головного мозга, которое можно достигнуть путем охлаждения организма с использованием гипоксигиперкапнических газовых сред. В возникновении теплокровности большая роль приписывается фазовым переходам мембранных липидов, в этой связи представляет большой

интерес исследование липидного состава тканей млекопитающих в состоянии искусственного гипобиоза. Известно, что состояние искусственного гипобиоза увеличивает устойчивость млекопитающих к действию повреждающих агентов и стимулирует иммунитет.

Поэтому в качестве объекта исследования были выбраны клетки тимуса – важного органа иммунной системы. Опыты проводили на крысах-самцах Wistar массой 190-220 г. Для охлаждения использовали метод гипоксии-гиперкапнии. Крыс выдерживали в герметичной камере объемом 5 л при t° среды 1-2 $^\circ\text{C}$ в течение 3,5-4 ч. Крыс декапитировали согласно принятым в ИБК РАН правилам в состояниях нормотермии (t° тела 37 $^\circ\text{C}$) и искусственного гипобиоза – гипотермии (t° тела 15-18 $^\circ\text{C}$), извлекали тимусы, при получении суспензии тимоцитов суммировали материал от 3-х животных. В суспензию тимоцитов в Кребс-Рингер фосфатном буфере (рН 7,2) вносили 10 мкКи/мл 2- ^{14}C -ацетата и инкубировали в течение 30 мин при 37 $^\circ\text{C}$. Клетки отмывали от избытка меченого ацетата, аликвоты использовали для определения количества и радиоактивности индивидуальных нейтральных липидов и фосфолипидов. Для статистической обработки использовали Т-тест по Стьюденту.

У крыс в состоянии искусственного гипобиоза происходил рост количества свободных жирных кислот, увеличивалось количество фосфатидилхолина, фосфатидилинозитола и фосфатидилэтаноламина тимоцитов. Показана тенденция к увеличению включения 2- ^{14}C -ацетата в сфингомиелин и уменьшение включения в фосфатидилэтаноламин, интенсивность включения в нейтральные липиды и остальные исследуемые фосфолипиды не изменялась.

Работа поддержана грантом РФФИ № 09-04-00993-а, 2009 г.

ИЗОФЕРМЕНТНЫЙ СОСТАВ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ИЗ КУЛЬТУРЫ БАКТЕРИЙ *SPHAEROTILUS NATANS* ШТАММ Д-507

Бу Т.Л., Селиванова Н.В., Федорин Д.Н., Епринцев А.Т.

Воронежский государственный университет, Воронеж (Россия)

E-mail: vtloan37@yahoo.com

Одной из ключевых реакций цикла Кребса, сопряженной с запасанием энергии, является окисление сукцината до фумарата, катализируемое сукцинатдегидрогеназой (СДГ, КФ 1.3.99.1), единственным ферментом, встроенным во внутреннюю мембрану митохондрий. СДГ, являясь модулируемым многими факторами ферментом, занимает ключевое положение в регуляции дыхания митохондрий и играет важную роль в обеспечении взаимодействия клеточных органелл. Однако данный фермент не охарактеризован у бесцветных серобактерий. В связи с этим, целью работы явилось получение высокоочищенных препаратов СДГ из бактерий *Sphaerotilus natans* с помощью многостадийной очистки и изучение их свойств. Объектом исследования служили матообразующие бактерии рода *Sphaerotilus natans* штамм Д-507, выращенные в условиях органотрофного роста.

С помощью электрофореза в 7,5% ПААГ с последующим специфическим окрашиванием на активность СДГ в бесцветных серобактериях были обнаружены две изоформы фермента с различной электрофоретической подвижностью. Множественные формы СДГ были описаны ранее, по крайней мере для эукариот.

Для получения гомогенного препарата сукцинатдегидрогеназы из *Sphaerotilus natans* штамм Д-507 была проведена 5-стадийная очистка. Параметры препаратов фермента из бактерий составляли: удельная активность для СДГ₁ равнялась 22 Е/мг белка, при этом степень очистки составила 81,48 раз; для СДГ₂ значение удельной активности - 0,59 Е/мг белка, а степень очистки – 54,63 раз. Электрофоретический анализ очищенных препаратов показал, что при универсальном окрашивании на белки обнаруживалось по одной белковой полосе.

Таким образом, было установлено, что у бесцветных серных бактерий *Sphaerotilus natans* штамм Д-507 присутствуют две формы фермента, имеющие разную электрофоретическую подвижность: СДГ₁ с $R_f = 0,10$ и СДГ₂ с $R_f = 0,34$.

СОРБЦИЯ ЭЛЕКТРОЛИТОВ И СЛОЖНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ**Кергенцев А.А., Эрдни-Гаряев С.Э., Дмитриева И.Б., Чухно А.С.**Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия,
Санкт-Петербург (Россия)E-mail: anton_kergencev@mail.ru

С давних времен одним из главных адсорбентов является активированный уголь. В современном мире адсорбенты используются при интоксикациях и доставке лекарственных веществ в нужные отделы желудочно-кишечного тракта. В работе мы решили найти другой более универсальный адсорбент, в качестве адсорбента был взят декстран.

Из теории известно, что на гидрофобных веществах адсорбируются неполярные соединения, а на гидрофильных - полярные. Декстраны - гомополисахариды, состоящие из глюкопиранозных остатков с эмпирической формулой $(C_6H_{10}O_5)_n$.

В данной работе проведено исследование сорбционных свойств декстрана в зависимости от природы и концентрации адсорбатов, значений pH среды и времени адсорбции. В качестве неорганических электролитов выбраны водные растворы $CoSO_4$, $CuSO_4$ и $KMnO_4$. Органические соединения представлены аспарагиновой и уксусной кислотами.

Сорбцию проводили из растворов с $pH < pH_{ТНЗ}$ (точки нулевого заряда) - 3,9 и 4,5, и $pH > pH_{ТНЗ}$ - 5,1 и 5,8. Исследование сорбции катионов Co^{+2} и Cu^{+2} при значениях pH от 3,9 до 4,5 (в этой области pH декстран заряжен положительно), показало, что, несмотря на увеличение концентрации, при приближении к ТНЗ происходит снижение адсорбции. После чего была проведена сорбция Cu^{2+} при более высоких значениях pH (pH=5.1), в этой области декстран имеет отрицательный заряд, в связи с чем, сорбция катионов Cu^{2+} резко увеличилась. Аналогичные результаты получены при исследовании адсорбции перманганата калия ($KMnO_4$), хорошо сорбирующегося на положительном заряженном декстране, так как ион MnO_4^- заряжен отрицательно.

Таким образом, мы установили, что адсорбция электролита на декстране в большей степени определяется положением ТНЗ, и зависит не только от концентрации ионогенных веществ, но и от наличия различных функциональных групп, как на поверхности адсорбента, так и в молекуле адсорбата.

ОЛИГОМЕРНЫЕ ФОРМЫ МАЛОГО БЕЛКА ТЕПЛООВОГО ШОКА***ACHOLEPLASMA LAIDLAWII*****Вишняков И.Е.¹, Левицкий С.А.², Снигиревская Е.С.¹, Комиссарчик Я.Ю.¹,
Борхсениус С.Н.¹**¹Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург (Россия)²Научно-исследовательский институт физико-химической медицины ФМБА,
Москва (Россия)E-mail: innvish@gmail.com

Большинство малых белков теплового шока α -кристаллинового типа (α -БТШ) бактерий формирует олигомеры из 24 субъединиц, где строительным блоком является димер. Предполагают, что способность к мультимеризации определяется наличием на N-конце молекулы α -БТШ относительно консервативного мотива (W/F)(D/F)PF. В структуре некоторых α -БТШ присутствуют два WDPF-мотива. Последовательность аминокислот, напоминающая сдвоенный WDPF-мотив (FDDFFEDF) есть и в N-концевой области α -БТШ (IbpA) из микоплазмы *A. laidlawii*.

Нами показано, что очищенный рекомбинантный белок IbpA спонтанно формирует олигомеры разного размера (от 3 до 20 нм) *in vitro* (1 мг/мл в PBS, pH 7,0). Молекулярную массу олигомеров оценивали методом гель-фильтрации в PBS на колонке Superdex-200 PrepGrade Tricorn 10/30 (GE Healthcare, США) со скоростью 1 мл/мин. Для калибровки колонки использовали набор белков-маркеров молекулярной массы (Sigma, США).

Сразу после выделения рекомбинантного белка из клеточного экстракта штамма-продуцента *Escherichia coli* и его очистки на выходе из колонки наблюдали три

хроматографических пика. Пик 1 соответствовал фракции мономеров, пик 2 представлял тетрамеры, а пик 3 был сформирован из олигомеров, состоящих из 12 субъединиц. При анализе того же образца спустя 24 часа (+ 4°C) почти полностью исчезала фракция мономеров; интенсивность пиков 2 и 3 значительно уменьшалась; при этом до 80% от общего количества белка формировало пик 4 (24 субъединицы на 1 олигомер). При длительном хранении IbrA (-20°C, 3 мес) с однократной заморозкой/разморозкой основная фракция представляла собой олигомеры, состоящие из 12 субъединиц, а 24-субъединичных комплексов было совсем мало. Возможно, это связано с дестабилизацией определённых участков молекул IbrA. Кроме того, в растворе присутствовали тетрамеры и димеры. Вероятно, существует динамическое равновесие между олигомерными формами рекомбинантного IbrA.

ЗАМЕДЛЕНИЕ РОСТА КРЫС, ВЫЗВАННОЕ СОЛЯМИ СЕРЕБРА, ДОБАВЛЕННЫМИ В КОРМ

Ильичева Е.Ю.

Учреждение Российской академии медицинских наук Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: ikaterina2705@yandex.ru

Лабораторные крысы являются ценными объектами для экспериментального изучения метаболической системы меди (МСМ), так как их метаболизм меди наиболее близок к человеку. В свою очередь ионы Ag(I) очень удобны при исследовании роли статуса меди в различных процессах, так как они являются изоэлектронными аналогами Cu(I) и могут связываться с сайтами для Cu(I).

Известно, что у взрослых крыс добавление солей серебра в пищу вызывает падение оксидазной активности ЦП в 100 раз. Однако в печени у таких крыс (Ag-крыс) экспрессия генов медьтранспортных белков и купроэнзимов, удельное содержание меди, а также ферментативная активность внутриклеточных купроэнзимов не меняются через месяц содержания на Ag-диете.

Для изучения последствий длительного содержания на Ag-диете нами были сформированы 4 группы животных, 3 из которых на различных этапах онтогенетического развития получали AgCl. Эксперимент длился 6 месяцев. Содержание AgCl в корме составляло 50 мг на 1 кг массы тела животных в сутки. Все животные получали корм и водопроводную воду без ограничения.

Оказалось, что кормление животных серебром в течение 6 месяцев приводит к увеличению концентрации серебра в сыворотке крови, печени и мозге, снижению оксидазной активности только в 2 раза. При этом у грызунов не происходит развития острого дефицита меди, изменения психо-эмоционального состояния и метаболизма меди в печени и мозге. Заметно отличается масса тела крыс, получавших с пищей хлорид серебра 6 месяцев. Она в 2 раза меньше, чем у контрольных животных и соответствует массе двухмесячных грызунов.

Полученные данные являются ценными для выработки рекомендаций по возможности употребления ионов серебра в пищу, оценки их в качестве экологического фактора, а так же для создания различных животных моделей.

ШАПЕРОННЫЕ СВОЙСТВА РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА ИВРА ИЗ МИКОПЛАЗМЫ

Вишняков И.Е., Рунов А.Л., Борхсениус С.Н.

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: innvish@gmail.com

Малые белки теплового шока α -кристаллинового типа (α -БТШ) обладают общими свойствами: наличием α -кристаллинового домена; способностью к формированию олигомеров; шаперонной активностью олигомерной формы. В условиях стресса α -БТШ связываются с частично денатурированными белками, предотвращая их необратимую денатурацию и агрегацию. α -Кристаллиновый домен был найден в аминокислотной последовательности белка

IbrA из микоплазмы *Acholeplasma laidlawii*, и установлено, что рекомбинантный IbrA спонтанно формирует олигомеры *in vitro*.

Мы исследовали влияние очищенного рекомбинантного IbrA на денатурацию и агрегацию бычьего инсулина, спровоцированную добавлением в реакционную смесь дитиотриетолола, при разных температурах. Рекомбинантный IbrA как при 25°C, так и при 43°C не агрегировал. BSA (контрольный белок) не агрегировал при 25°C, тогда как при 43°C происходила постепенная агрегация BSA, очевидно, связанная с тепловой денатурацией. Интересным фактом явилось отсутствие ожидаемой агрегации инсулина при 25°C в составе смеси с BSA, тогда как при 43°C она происходила. Это можно объяснить образованием комплексов, устойчивых к денатурации при комнатной температуре. Повышение температуры, вероятно, способствовало их диссоциации, что приводило к высвобождению инсулина и его агрегации.

Рекомбинантный IbrA, наоборот, слабо подавлял агрегацию инсулина при 25°C, тогда как при 43°C и молярном соотношении, близком к 1:1, полностью препятствовал его денатурации и агрегации. Различие в характере влияния IbrA и BSA на агрегацию модельного субстрата указывает на наличие специфической, температурно-зависимой шаперонной активности у исследуемого белка. Влияние IbrA на агрегацию инсулина зависело и от концентрации шаперона, причём при 43°C эта зависимость была заметнее. В целом шаперонные свойства IbrA напоминают таковые для α -БТШ (Hsp26) из *Saccharomyces cerevisiae*, эффективного только в условиях повышенной температуры. Можно предположить, что эти два шаперона обладают сходным температурно-зависимым механизмом действия.

СДВИГИ В СОСТАВЕ НЕЙТРАЛЬНЫХ ЛИПИДОВ ХРОМАТИНА ПРИ *in vivo* ВОЗДЕЙСТВИИ ЦИСПЛАТИНА

Оганесян А.Г., Акопян Н.Р., Хачатрян Г.Н., Явроян Ж.В., Геворкян Э.С.
Ереванский государственный университет, Ереван (Армения)

E-mail: agapi@parliament.am

Известно, что ядро является ареной активного метаболизма липидов, что, по всей вероятности, играет важную роль в передаче сигналов на ядерном уровне. Хотя основным месторасположением липидов в ядрах является ядерная мембрана, примерно 10% ядерных липидов выявляется в составе хроматина в качестве минорных компонентов. Доказана важная регуляторная роль хроматиновых липидов как при пролиферации и дифференциации, так и при апоптозе клеток.

В свете вышеизложенного представляется интересным выявление чувствительных к воздействию цисплатина липидов хроматина.

Данная работа посвящена изучению состава и содержания нейтральных липидов хроматина клеток печени крыс после 24 ч. *in vivo* воздействия противоопухолевого препарата цисплатина.

Состав нейтральных липидов исследуемых препаратов был установлен методом микротонкослойной хроматографии. Количественную оценку разделенных и специфически окрашенных фосфолипидов проводили по специальной компьютерной программе FUGIFILM Science Lab., 2001, Image Gauge V4.0, предназначенной для денситометрирования.

Результаты указывают на снижение содержания тотальных нейтральных липидов примерно на 10% после воздействия противоопухолевого препарата. Отдельные фракции нейтральных липидов хроматина по разному реагируют на воздействие цисплатина. Содержание свободных жирных кислот увеличивается на 13%, примерно на 17% сокращается содержание триацилглицеридов, в то время, как количество холестерина и его эфиров остается неизменным.

Обсуждается возможная регуляторная роль хроматиновых нейтральных липидов при проявлении противоопухолевого воздействия цисплатина.

РНК-АПТАМЕРЫ К ДНК-ПОЛИМЕРАЗЕ ЙОТА КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ АГЕНТЫ ДИАГНОСТИКИ И ТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОГО ПЕРЕРОЖДЕНИЯ

Лахин А.В., Казаков А.А., Макарова А.В., Тарантул В.З., Генинг Л.В.

Институт молекулярной генетики РАН, Москва (Россия)

E-mail: lahin9@mail.ru

ДНК-полимераза йота (Pol ι) относится к Y-семейству ДНК-полимераз и является самой неточной среди всех известных ДНК-полимераз эукариот. Нами с помощью процедуры *in vitro* SELEX (Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment) был получен РНК-аптамер с очень высокой аффинностью к Pol ι человека, обозначенный как аптамер IKL5.

Показано, что аптамер IKL5 связывается с Pol ι и осуществляет эффективное ингибирование ДНК-полимеразной активности этого фермента. В то же время аптамер IKL5 не связывается и не ингибирует ДНК-полимеразы бета и каппа человека, демонстрируя тем самым высокую специфичность ингибирования по отношению только к Pol ι . Благодаря данным свойствам аптамер IKL5 в дальнейшем может быть использован для регуляции активности Pol ι в клетке и предотвращения ее потенциального мутагенного действия, а также для диагностики количественных изменений Pol ι в норме и при различных патологиях.

Показано, что аптамер IKL5 при взаимодействии с экстрактами клеток образует специфические комплексы, характерные для определенного типа тканей. Изучение этих комплексов позволит выяснить механизмы участия Pol ι в репликации и репарации ДНК и ее потенциального влияния на злокачественное перерождение клеток млекопитающих и человека.

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ СОЕДИНЕНИЙ, СОДЕРЖАЩИХ 2-АЗАСПИРО[4,5]ДЕКАНОВЫЙ ФРАГМЕНТ

Свиридецкая Е.А., Аникина Л.В.

Пермский государственный технический университет; Институт технической химии УрО РАН, Пермь (Россия)

E-mail: katerinka347@mail.ru

Незначительная часть кислорода, поступающего из воздуха в организм, превращается в активные формы – свободные радикалы, обладающие высокой химической активностью, вызывающие окисление белков, липидов, нуклеиновых кислот. Чаще всего окислению подвергается липидный слой биологических мембран. Такое окисление называется перекисным окислением липидов (ПОЛ) и осуществляется цепной реакцией свободнорадикального окисления, результатом чего становится дегенерация клеточных мембран.

Одной из групп антиоксидантов прямого действия являются вещества, способные выступать в роли доноров протона – соединения с фенольной группой и азотсодержащие гетероциклы, кроме того, эффективными антиоксидантами могут быть соединения с ненасыщенными двойными связями. В данной работе определяли антиоксидантную активность производных, содержащих 2-азаспиро[4,5]декановый фрагмент.

Антиоксидантную активность соединений определяли по способности их ингибировать гемолиз эритроцитов, вызванный перекисью водорода, и перекисное окисление липидов мембран, вызванное железом-аскорбатным способом. Перекисное окисление липидов определяли на клетках печени мышей. Влияние соединений на гемолиз эритроцитов, вызванный перекисью водорода, проводили на суспензии эритроцитов мыши. На основании полученных данных можно сделать следующие выводы.

Соединения Кх-12-2 и Кх-16 проявили антиоксидантную активность в обоих тестах.

Соединения Кх-13, Кх-21, Кх-18 проявили активность только в тесте железом-аскорбат индуцированного ПОЛ. Можно предположить, что данное соединение может улавливать по фенольному фрагменту свободные радикалы, образовавшиеся в культуральной среде при искусственном добавлении ионов железа.

Соединения Кх-17и Кх-11 проявили активность в тесте гемолиза. В связи с тем, что данный производные не оказывает эффекта в тесте железо-аскорбат индуцированного ПОЛ, имеет положительный заряд и легко растворим в воде, можно предположить, что его действие связано с мембраностабилизирующими свойствами.

АДСОРБЦИЯ ЭЛЕКТРОЛИТОВ И СЛОЖНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ НА УГЛЕ

Давыдова В.Л., Смирнова М.А., Дмитриева И.Б., Чухно А.С.

Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия,
Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: vikulyadavydova@rambler.ru

Когда у нас нарушается процесс пищеварения, мы часто принимаем активированный уголь. Этот старый, но порой совершенно незаменимый препарат принимали еще наши бабушки и дедушки. С тех пор было изобретено много новых высокоэффективных препаратов, но многие до сих пор предпочитают именно активированный уголь. Адсорбционную способность активированного угля обусловлена, прежде всего, его высокой удельной поверхностью и её гидрофобным характером. Интересно оценить насколько хорошо будут сорбироваться на активированном угле полярные соединения.

Целью нашей работы является определение адсорбционных свойств активированного угля в растворах соединений разной полярности. Мы определяли адсорбцию неорганических электролитов: перманганат калия, медный купорос, сульфат кобальта (II); адсорбцию органических электролитов: уксусная и аспарагиновая кислота. Выявили зависимость адсорбционной способности адсорбатов от полярности адсорбата, его концентрации и времени адсорбции.

Количество адсорбированных соединений определяли по убыли их концентрации в растворе. Концентрацию исследуемых растворов до адсорбции и после адсорбции определяли фотометрическим методом (CoSO_4 , KMnO_4 , CuSO_4) или методом кислотно-основного титрования (уксусная и аспарагиновая кислоты).

В работе установлено, что на поверхности активированного угля из водных растворов лучше всего адсорбируются дифильные органические соединения (ПАВ), они закрепляются на поверхности вследствие гидрофобного эффекта, ориентируясь неполярным углеводородным радикалом к поверхности сорбента, а полярной группой в объём раствора. Установлено, что аспарагиновая кислота сорбируется слабее, чем уксусная, так как у уксусной кислоты на две гидрофобные группы приходится одна полярная группа, у аспарагиновой – три и их пространственное расположение частично экранирует гидрофобные участки молекулы. В работе показано, что на угле способны адсорбироваться и многие электролиты, по-видимому, за счет наличия кислотных центров на поверхности угля, возникающие в результате процессов окисления углерода при его производстве.

ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ И ИЗОФЕРМЕНТНЫЙ СОСТАВ ФУМАРАТГИДРАТАЗЫ ПРИ ПРОРАСТАНИИ СЕМЯН КУКУРУЗЫ

Селиванова Н.В., Федорин Д.Н., Селезнева Е.А., Потемкина Н.А., Махмуд Али С.

Воронежский государственный университет, Воронеж (Россия)

E-mail: kir2202@yandex.ru

ЦТК - один из метаболических путей, функционирующих в митохондриях, несущий большую функциональную нагрузку в метаболизме растительной клетке. Одним из маркерных ферментов митохондрий является фумаратгидратаза (ФГ, КФ 4.2.1.2), участвующая в работе конструктивного и энергетического метаболизма. В связи с этим, целью данной работы явился анализ активности и изоферментного состава фумаратгидратазы при прорастании семян кукурузы.

Показано, что активность ФГ при прорастании семян кукурузы неоднородна: в первые дни происходит увеличение работы фермента, достигая максимума на четвертый день прорастания. С 5-го дня наблюдается снижение активности, которое стабилизируется на уровне 20% от максимума после восьмого дня прорастания. В условиях гетеротрофного питания растения осуществляют мобилизацию запасных веществ с большей интенсивностью. Происходит резкая активизация всех метаболических процессов, в том числе и ЦТК. Данный факт подтверждается активной работой исследуемого фермента, свидетельствующей о высокой скорости функционирования ЦТК. Однако в дальнейшем необходимое количество АТФ для жизнедеятельности растений обеспечивает фотосинтетический аппарат клетки. При этом, небольшой уровень активности ФГ сохраняется, свидетельствуя о функционировании ЦТК в проростках для обеспечения протекания биосинтетических реакций.

Электрофоретический анализ в ПААГ выявил, что на четвертый день прорастания в щитках кукурузы обнаруживаются две формы фумаратгидратазы с $R_f = 0,28$ и $0,30$, что коррелирует с увеличением активности исследуемого фермента в данный период. Ранее сообщалось о наличии множественных форм для других ферментных систем на начальных этапах развития растительного организма.

Т.о., обнаружено, что при прорастании семян кукурузы осуществляется экспрессия двух форм фумаратгидратазы. Высокая скорость функционирования исследуемого фермента на начальных этапах развития может быть обусловлена необходимостью обеспечения интенсивного протекания энергетического и конструктивного метаболизма в щитках кукурузы.

ТРАНСПОРТ ИОНОВ КАК ФАКТОР РЕГУЛЯЦИИ РАЗОБЩАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ

Марчик Е.И., Рыбакова С.Р., Самарцев В.Н.

Марийский государственный университет, Йошкар-Ола (Россия)

E-mail: samvic56@mail.ru

В митохондриях печени разобщающее действие жирных кислот в отсутствие ионов кальция осуществляется при участии ADP/АТФ антипортера, аспартат/глутаматного антипортера и чувствительной к циклоспорину А структуры. Механизм разобщающего действия жирных кислот при участии переносчиков состоит из зависимого от $\Delta\Psi$ переноса аниона жирной кислоты с внутреннего монослоя мембраны на наружный монослой и зависимого от ΔpH переноса протона жирной кислотой в противоположном направлении (Skulachev, 1998). Превращение ΔpH в $\Delta\Psi$ может быть индуцировано неорганическим фосфатом (P_i) или K^+/H^+ -антипортером нигерицином.

В настоящей работе исследовано влияние P_i и нигерицина в митохондриях печени крыс на удельную разобщающую активность пальмитиновой кислоты (V_U) и на ее составляющие: чувствительную к карбоксиатрактилату (V_A), чувствительную к аспартату (V_G) и чувствительную к циклоспорину А (V_{Cs}). P_i и нигерицин были применены в концентрациях 5 мМ и 20 нМ соответственно; показано, что в этих концентрациях они в максимальной степени индуцируют превращение ΔpH в $\Delta\Psi$. Установлено, что P_i снижает V_U на 34%, V_A на 49% и V_G на 47%, но при этом увеличивает V_{Cs} на 31%. При аналогичных условиях нигерицин снижает V_U на 30%, V_A на 55% и V_G на 48%, но увеличивает V_{Cs} на 68%.

Таким образом, индуцированное P_i или нигерицином превращение ΔpH в $\Delta\Psi$ приводит к ингибированию разобщающей активности пальмитиновой кислоты при участии ADP/АТФ- и аспартат/глутаматного антипортеров и к усилению ее разобщающей активности при участии чувствительной к циклоспорину А структуры. Следовательно, одним из факторов регуляции разобщающего действия жирных кислот в митохондриях печени является трансмембранный транспорт ионов, вызывающий превращение ΔpH в $\Delta\Psi$ на внутренней мембране.

ВЛИЯНИЕ АДРЕНАЛЭКТОМИИ НА МЕТАБОЛИЗМ МЕДИ В ПЕЧЕНИ И ПОЧКАХ

Василенко Ю.А., Ильичева Е.Ю.

Институт экспериментальной медицины РАМН, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: yulvasilenko@gmail.com

В процессах неоваскуляризации и перепрограммирования энергетического метаболизма в опухолях медь исполняет роль фактора Либиха. Поэтому одно из развивающихся направлений в терапии опухолей связано с попытками влиять на обмен меди в организме, выращивающем опухоль. Для этого используют различные токсичные хелаторы меди, которые оказывают негативное влияние на все стороны метаболизма меди.

Мы разработали и применили способ изменять уровень меди в циркуляции. Он заключается в добавлении в корм лабораторных животных Ag(I), который является электронным двойником Cu(I). Ион Ag(I) всасывается, поглощается печенью, включается в церулоплазмин (ЦП) и в виде Ag-церулоплазмينا секретируется в кровоток. Развивается дефицит меди, ассоциированной с ЦП, однако уровень купроэнзимов и их активность в печени не изменяются.

Изучение распределения меди и серебра в органах животных показало, что серебро, как и медь, поступает в печень и аккумулируется в матриксе митохондрий. В легких, сердце, почках, селезенке, целом мозге, скелетных мышцах, тестикулах, а также в отделах мозга (в коре, гиппокампе, амигдале, мозжечке, гипофизе и гипоталамусе) содержание серебра соответствует уровню меди. В этих отделах признаков накопления серебра не выявлено. В то же время в надпочечниках удельное содержание меди и серебра превышает таковое в печени в 5 и 2 раза соответственно. У адrenaлэктомированных крыс, без ограничения получавших раствор, содержащий 0.15 М NaCl, 0.8 М KCl и 0.18 М глюкозу, через 10 дней после операции уровень оксидазной и ферроксидазной активности достоверно повышался примерно на 20% по сравнению с ложно-оперированными животными. Уровень экспрессии генов медьтранспортных белков в печени и почках не менялся.

Обсуждается существование механизма, контролирующего гомеостаз меди на уровне организма.

Работа поддержана грантами РФФИ 09-04-01165 и 09-04-01406.

РАЗЛОЖЕНИЕ МОНО- И ДИГИДРОКСИЛИРОВАННЫХ БЕНЗОЙНЫХ КИСЛОТ ШТАММОМ *RHODOCOCCUS OPACUS* 1CP

Субботина Н.М., Коломыцева М.П., Головлева Л.А.

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

E-mail: natysubbotina@rambler.ru

Моно- и дигидроксилированные бензойные кислоты широко распространены в природе и являются ключевыми интермедиатами разложения широкого спектра ксенобиотиков, среди которых фенол, бензол, бензоат, а также их замещенные производные. Основную нагрузку по разложению моно- и дигидроксибензоатов в природе несут микроорганизмы. Как правило, начальные этапы аэробного разложения моно- и дигидроксибензоатов проходят при участии оксигеназ. Биodeградация моно- и дигидроксибензоатов в основном изучена на примере граммотрицательных микроорганизмов с использованием в качестве модельных субстратов для разложения 4-гидроксибензоата (4-ГБК) и протокатеховой кислоты. Значительно меньше внимания уделено путям биodeградации других моно- и дигидроксибензоатов.

Целью данной работы являлась оценка способности штамма *R. opacus* 1CP разлагать моно- и дигидроксилированные производные бензойной кислоты.

Выбор штамма обусловлен его способностью к полному разложению широкого спектра органических соединений, среди которых: фенол, бензоат, *n*-толуат, *n*-крезол, 4-хлор-, 2-хлор-, 2,4-дихлор, 2,4,6-трихлорфенолы. В качестве ростовых субстратов нами протестировано 9 представителей ряда моно- и дигидроксибензойных кислот (салицилат (2-гидроксибензоат), 3-гидроксибензоат (3-ГБК), 4-ГБК, 2,3-дигидроксибензоат, 2,4-дигидроксибензоат, гентизат (2,5-

дигидроксibenзоат), протокатехат (3,4-дигидроксibenзоат), 3,5-дигидроксibenзоат и 2,6-дигидроксibenзоат) в концентрациях 50-100 мг/л. Выявлена способность штамма использовать в качестве единственного источника углерода и энергии 3-ГБК, 4-ГБК, гентизат, протокатехат, что позволило в дальнейшем исследовать динамику разложения данных соединений, динамику образования интермедиатов, а также получить из активной биомассы штамма, выращенного на 3-ГБК гомогенные препараты ключевых ферментов: гентизат 1,2-диоксигеназы, катехол 1,2-диоксигеназы, малеилпируват изомеразы и малеилпируват гидролазы.

ПРИМЕНЕНИЕ КОНДУКТОМЕТРИИ И ТЕРМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ С ИОНАМИ МЕДИ

Морозова В.А., Бахолдина Л.А., Чухно А.С.

Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия,
Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: vikki_1990@mail.ru

Лекарственные препараты, содержащие меркапто- и тиоксо группы, а также аминокислоты и комплексообразующие вещества (трилон-Б, тетаин-кальция) образуют с ионами меди внутриклеточные соединения.

Обзор литературы показал, что механизм комплексообразования с ионами меди недостаточно исследован. Принципиальное улучшение измерительной аппаратуры позволяет использовать кондуктометрию для изучения механизма комплексообразования, используя диаграммы удельная электрическая проводимость – состав системы.

Криоскопия также позволяет исследовать комплексообразование в растворах.

Целью работы являлось изучение возможности применения кондуктометрии и термического анализа для изучения механизма комплексообразования с ионами меди (II).

Термический анализ основан на построении кривых охлаждения, определении по ним точек излома, т.е. температур начала фазового перехода, температур замерзания и понижения температуры замерзания, как для индивидуальных веществ, так и для их смесей. На основании полученных данных строится диаграмма состояния температура – состав системы. Анализ диаграммы состояния позволяет судить о механизме процесса, в частности о комплексообразовании.

В качестве модельного объекта исследования выбрана система: 0,05 М раствор оксалата натрия и реакционноспособный, высокочувствительный 0,05 М раствор сульфата меди (II). Построены диаграммы состояния данных систем: температура фазового перехода растворов (понижение температуры замерзания) – состав системы и удельная электрическая проводимость – состав.

На основании полученных результатов показана возможность применения двух независимых методов кондуктометрии и термического анализа для изучения комплексообразования с ионами меди (II). Установлено, что образованный комплекс имеет состав 1:1.

ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СПЕКТР ЛИПИДОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ КРЫС ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ГИПОАЦИДНОМ СОСТОЯНИИ

Сенин С.А., Дворщенко Е.А., Береговая Т.В., Остапченко Л.И.

Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко, Киев (Украина)

E-mail: sergejsen@yandex.ru

В клинической практике для лечения гиперацидных состояний, таких как, функциональная диспепсия, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки используют ингибиторы протонной помпы (ИПП). Длительное использование ИПП вызывает гипергастринемию, которая как известно может привести к развитию опухоли желудка. Развитие патологического процесса, в том числе длительной гипоацидности – это следствие истощения и нарушения адаптационных механизмов организма и важную роль в этом играют липиды, поскольку изменения функционального состояния биомембран связаны с процессами

свободнорадикального окисления, где главным субстратом выступают преимущественно полиненасыщенные жирные кислоты (ЖК).

Целью нашей работы было определить состав жирных кислот липидов сыворотки крови крыс при длительной желудочной гипохлоргидрии.

Эксперименты проводили на белых нелинейных крысах-самцах. Гипоацидное состояние моделировали внутрибрюшинным введением 14 мг/кг 1 раз в сутки омепразола (Sigma, USA) на протяжении 28 дней. В качестве контроля использовали крыс, которым на протяжении 28 суток вводили внутрибрюшинно 0,2 мл воды для инъекций. Определение жирнокислотного состава проводили биохимическим методом, в основе которого лежит экстракция липидов из сыворотки крови крыс, метилирование и газохроматографический анализ. Для количественной оценки спектра ЖК использовали метод нормирования площадей.

Показано, что у крыс после длительного угнетения желудочной секреции соляной кислоты омепразолом в сыворотке крови уменьшалось количество стеариновой ЖК ($C_{18:0}$) – на 21%, при этом повышался уровень олеиновой ЖК ($C_{18:1}$) – на 19%, линолевой ЖК ($C_{18:2}$) – на 28%, линоленовой ЖК ($C_{18:3}$) – на 74% и эйкозапентаеновой ЖК ($C_{20:5}$) – на 80% относительно контроля. В этих же условиях установлено снижение количества таких полиненасыщенных ЖК липидов сыворотки крови: арахидоновой ЖК ($C_{20:4}$) – на 21%, докозатриеновой ЖК ($C_{22:3}$) – на 17%, докозатетраеновой ЖК ($C_{22:4}$) – на 37% и докозапентаеновой ЖК ($C_{22:5}$) – на 87% относительно контрольной сыворотки крови.

Таким образом, изменения жирнокислотного состава липидов сыворотки крови крыс при длительной желудочной гипохлоргидрии свидетельствует об структурно-функциональных перестройках липопротеидов высокой и низкой плотности, что может быть связано с интенсификацией процессов свободнорадикального окисления.

ПОКАЗАТЕЛИ УГЛЕВОДНОГО И ПУРИНОВОГО ОБМЕНА В ПЛАЗМЕ КРЫС ПРИ СТРЕССЕ, ВЫЗВАННОМ ГИПОКСИЕЙ И СКЭНАР-ВОЗДЕЙСТВИЕМ

Вечканов Е.М., Сорокина И.А., Лукаш А.И., Булгакова А.А., Парибек И.М., Алилуев И.А.

Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону (Россия)

E-mail: *evechka@rambler.ru*

Частота патологий, связанных с гипоксией, определяет актуальность поиска средств и методов повышения резистентности организма к гипоксии эндо- и экзогенного происхождения. Особенно перспективны в этом отношении неинвазивные и немедикаментозные методы. К числу последних относится электроимпульсная терапия высокоамплитудными коротковолновыми низкочастотными электрическими сигналами (СКЭНАР-терапия). В связи с расширяющимся применением СКЭНАР-терапии актуальным представляется изучение биохимических последствий СКЭНАР-воздействия на модельный организм.

Проводилось изучение систем углеводного и пуринового обмена на белых крысах самках массой 180-200 г в возрасте 9 месяцев при СКЭНАР-воздействии, в ходе моделирования гипоксического состояния путём контролируемой гипобарии, в режиме 230 мм. рт. ст. Определяли уровень глюкозы, молочной кислоты, мочевой кислоты, пировиноградной кислоты (ПВК) и ксантина в плазме крови крыс.

Особенностью обменных процессов крыс в остром периоде гипоксического синдрома является аварийная перестройка метаболизма углеводов, направленная на восстановление энергетического баланса клеток и тканей в условиях резкого дефицита кислорода за счёт альтернативного синтеза АТФ путём субстратного фосфорилирования. В плазме крови формируется комплекс изменений характерных для гипоксических поражений, одним из которых является, нарушение пуринового обмена, активация гликогенолиза.

В ходе эксперимента выяснилось, что в случае преадаптации животных СКЭНАР-воздействием, в условиях острой гипоксии, в плазме крови крыс отмечено формирование протекторного влияния электроимпульсной терапии на такие биохимические показатели, как уровень ксантина, лактата, ПВК и мочевой кислоты, что свидетельствует о снижении тяжести гипоксического состояния у экспериментальных животных.

ВЛИЯНИЕ ПРЕДИСТОРИИ ПОПУЛЯЦИИ НА СВОЙСТВА МЕТАЛЛОТИОНЕИНОВ КАРАСЯ ПРИ ДЕЙСТВИИ НА ОРГАНИЗМ ХЛОРООРГАНИЧЕСКОГО БИОЦИДА

**Фальфушинская Г.И., Гнатишина Л.Л., Осадчук О.И., Шулдик О.А., Турта О.А.,
Бажура Я.В., Грицай И.И., Жук М.В., Столяр О.Б.**

Тернопольский национальный педагогический университет им. Владимира Гнатюка,
Тернополь (Украина)

E-mail: halynka.f@gmail.com

Металлотионеины (МТ) являются металл-депонирующими белками, экспрессия которых активируется под воздействием различных экстремальных факторов. Поэтому МТ рыб включены в число рекомендованных биомаркеров токсичности среды. Вместе с тем, соотношение металл-депонирующей функции (МТ-Ме) и антиоксидантного потенциала (МТ-SH) этих белков в условиях реальных экологических угроз практически не изучено.

Целью нашей работы было оценить влияние хлороорганического пестицида Аполло (2 и 10 мкг·л⁻¹) на свойства МТ карася *Carassius auratus gibelio*, в зависимости от предистории популяции. Экземпляры рыбы отлавливали в чистой (З) и загрязненной (Б) местности и подвергали воздействию пестицида на протяжении 14 суток. МТ из печени и жабер получали методами гель-хроматографии и ионо-обменной хроматографии. Определяли состав металлов в МТ и ткани, содержание МТ-Ме, МТ-SH и относительную металл-депонирующую способность (МТ-Ме/Ме_{общ.}) МТ.

Сравнение рыб из двух популяций показало, что в тканях рыб группы Б содержание МТ-SH в два–три раза выше, а МТ-Ме ниже, чем в группе З. У рыб группы Б отмечено нарушение аккумуляции эссенциальных металлов цинка, меди и марганца в тканях, что сочетается с повышенным содержанием кадмия. В результате действия пестицида содержание МТ-SH в тканях возрастает в обеих группах, особенно в печени у рыб группы Б. У рыб группы З наблюдается уменьшение МТ-Ме и МТ-Ме/Ме_{общ.}, а в группе Б – их увеличение. Влияние препарата на организм приводит к увеличению гетерогенности МТ при хроматографии.

Таким образом, длительное пребывание рыб в условиях комплексного загрязнения обеспечило определенные преимущества на уровне молекулярных детоксицирующих систем жабер, что согласуется с информацией о других морфологических и метаболических адаптациях карася, обеспечивающие его уникальную толерантность к условиям существования.

Работа выполнена при поддержке МОНМС Украины (М/256-2008, М/567-2009).

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНАЯ СИСТЕМА ЭРИТРОЦИТОВ В ДИНАМИКЕ ЗИМНЕЙ СПЯЧКИ СУСЛИКОВ

Абдуллаев В.Р., Мамедова Э.М.

Дагестанский государственный университет, Махачкала (Россия)

Институт «ЮЖДАГ», Дербент (Россия)

E-mail: vagab@mail.ru

Состояние «зимнего покоя» возникает у многих видов млекопитающих, весьма отличные по морфологическим, физиологическим и экологическим особенностям. Зимняя спячка мелких грызунов является прерывистым процессом. Каждые 10-15 дней животные пробуждаются и через короткое время снова входят в спячку. Изменение физиологического состояния в эти периоды сопровождается ишемией, реперфузией, повышением потребления кислорода, интенсификацией активных форм кислорода (АФК). АФК вызывает повреждение нуклеиновых кислот, белков и запускают цепную реакцию перекисного окисления липидов (ПОЛ). Однако известно, что гибернация является нормальным физиологическим процессом, из чего можно допустить наличие в тканях эффективной антиоксидантной системы.

Перед впадением в зимнюю спячку и в течении месячной зимней спячки содержание первичных и вторичных продуктов ПОЛ в эритроцитах достоверно снижается. За время 3-х, 6-ти месячной зимней спячки исследуемые показатели повышаются до контрольного уровня. На начальном этапе спячки скорость индукции ПОЛ в эритроцитах пероксидом водорода

существенно не изменяется, при 3-х, 6-ти месячной спячке снижается и достигает контрольного уровня через 2 недели после выхода животных из торпидного состояния.

Высокая устойчивость липидов мембран эритроцитов гибернирующих животных к перекисидации, видимо, связана с обеспеченностью их антиоксидантами. За время подготовки к зимней спячке активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, низкомолекулярных гидрофильных компонентов в эритроцитах повышается. При кратковременной, месячной, 3-х месячной зимней спячке активность СОД снижается, а каталазы и гидрофильных компонентов остается повышенной. Восстановление активности антиоксидантных ферментов и уровня низкомолекулярных гидрофильных компонентов в эритроцитах крови наблюдается через 2 недели после выхода животных из состояния зимней спячки.

Полученные нами результаты свидетельствуют, о том, что в динамике зимней спячки сохраняются и успешно выполняются основные функции крови за счет регуляции АФК, устойчивости мембранных элементов крови к перекисидации и повышения ёмкости компонентов антиоксидантной системы.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ – НЕЙРОМЕДИАТОРОВ В СУБКЛЕТОЧНЫХ ФРАКЦИЯХ МОЗГА СУСЛИКОВ ПРИ ЗИМНЕЙ СПЯЧКЕ

Абдуллаев В.Р., Абдуллаев Р.А.

Дагестанский государственный университет, Махачкала (Россия)

Институт «ЮЖДАГ», Дербент (Россия)

E-mail: vagab@mail.ru

Длительное угнетение жизнедеятельности гетеротермных животных при зимней спячке и удивительно быстрое восстановление функциональной активности организма после пробуждения от неё является уникальной моделью для изучения глубокого торможения и возбуждения центральной нервной системы (ЦНС) без применения грубых нефизиологических воздействий. Несмотря на значительное снижение температуры тела, во время зимней спячки сохраняется регуляторное и координирующее влияние ЦНС на все функции организма, которые в значительной степени связаны с поддержанием синаптической медиации.

Перед впадением и после длительной зимней спячки в цитоплазме и митохондриальной фракции больших полушарий мозга сусликов содержание глутаминовой, аспарагиновой кислот, аланина достоверно снижается, а концентрации глутамин, ГАМК, таурина и глицина повышается. В аминокислотном пуле ядерной фракции мозга сусликов на этапах гибернации существенные изменения не наблюдаются, за исключением глутаминовой кислоты и таурина, содержание которых повышается.

На этапах гибернации в синаптосомальной фракции мозга сусликов при не существенном изменении концентрации глутамин, аспарагиновой кислоты и аланина, достоверно снижается уровень глутаминовой кислоты и повышается содержание ГАМК, глицина и таурина.

Восстановление исходного уровня медиаторных аминокислот в исследуемых фракциях головного мозга наступает на 3-е сутки после выхода животных из состояния зимнего оцепенения.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОДЕЛИ Ag-ГРЫЗУНОВ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ МЕХАНИЗМОВ ТРАНСПОРТА ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА ЦИСПЛАТИНА

Затуловский Е.А., Скворцов А.Н.

Санкт-Петербургский государственный политехнический университет,

Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: zatulovskye@mail.ru

Цисплатин – широко используемый в клинической практике противоопухолевый препарат на основе платины. Его транспорт в клетки осуществляется, главным образом, с помощью трансмембранного медьтранспортного белка CTR1. Основная функция этого белка – это

импорт ионов Cu(I) в клетку. Однако координационная химия платины Pt(II) существенно отличается от Cu(I), и поэтому цисплатин не может транспортироваться в клетки по тому же механизму, что и медь.

В данной работе мы исследовали, каким образом белок CTR1 осуществляет перенос цисплатина и обнаружили связь между его транспортом и статусом меди в организме. Для этого в работе были использованы мыши, которые получали с пищей хлорид серебра («Ag-мыши»), в результате чего у них было снижено содержание меди в сыворотке крови на 60%. Мы обнаружили, что при снижении концентрации внеклеточной меди, поступление платины в клетки существенно замедляется.

Кроме того, мы показали, что добавление ионов серебра в культуральную среду также снижает цитотоксическое действие цисплатина. На основе этих данных и анализа аминокислотных последовательностей белков CTR1 и координационных свойств медьсвязывающих мотивов внеклеточного домена N-конца CTR1, мы предлагаем модель медьзависимого механизма транспорта цисплатина в клетку через белок CTR1.

Обнаруженные данные по взаимосвязи транспорта цисплатина со статусом меди в организме могут быть использованы при разработке более эффективных протоколов для противораковой терапии. А модель Ag-грызунов может оказаться весьма полезной для работы в этом направлении, поскольку она даёт возможность надёжно и контролируемо создавать обратимый дефицит меди в сыворотке крови подопытных животных.

ДЕЙСТВИЕ ЦИСПЛАТИНА НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПЕЧЕНИ КРЫС

**Мельникова-Шарова М.А., Арцруни И.Г., Матинян К.С., Саркисян Э.Г.,
Геворкян Э.С.**

Ереванский государственный университет, Ереван (Армения)

E-mail: *melnikova.sharova@ysu.am*

Уничтожение раковых клеток является первоочередной задачей химиотерапии независимо от формы их гибели. Усиленный синтез полимеров АДФ-рибозы (ПАР) может инициировать апоптотический и некротический пути клеточной смерти. С этой точки зрения целенаправленная регуляция активности ПАРП-1 в пораженных раком органах может значительно увеличить эффективность противоопухолевой терапии и одновременно позволит снизить токсическое действие многих антинеопластических препаратов на здоровые ткани и органы.

Цисплатин, один из наиболее эффективных антиопухолевых препаратов, может проявлять цитотоксическое действие, индуцируя как апоптоз, так и некроз. Ранее нами было показано, что при однократном введении подопытным животным цисплатина (10мг/1000г веса), через 48 часов наблюдается резкое снижение активности ПАРП-1 в ядрах клеток печени. При этом мы не наблюдали интернуклеосомальной фрагментации ДНК, что, наряду с инактивацией ПАРП-1, является маркерным биохимическим показателем апоптоза.

Нам представилось интересным исследовать, является ли наблюдаемая резкая инактивация ПАРП-1 следствием некроза печеночных клеток. С этой целью мы провели гистохимическое исследование срезов печени через 48 и 72 ч после внутривенного введения 10мг/1000г цисплатина.

На основании проведенных морфологических и гисто-энзиматических исследований печени удалось установить, что при однократном введении подопытным животным цисплатина в дозе 10мг/1000г через 48 и 72 часа в печени доминировали процессы белково-липидной дистрофии гепатоцитов и формирования очагов микронекроза. В пользу временных региональных расстройств некротического характера свидетельствовала также высокая активность кислой фосфатазы и лактатдегидрогеназы.

Таким образом, данные, полученные в результате гисто-энзиматического исследования печени крыс показали, что инактивация ПАРП 1, наблюдаемая через 48ч и 72 ч после введения цисплатина, является следствием локальных некротических процессов в печени.

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА НА ПРОЦЕСС ТЕРМОАГРЕГАЦИИ РЕКОМБИНАНТНОЙ АСПАРТАМИНОТРАНСФЕРАЗЫ

Бондарюк Е.В., Салем А.Э.

Белорусский государственный университет, Минск (Беларусь)

E-mail: *bondev@mail.ru*

В последние годы активно развивается направление нанотехнологии. Одним из аспектов этого перспективного направления является применение наночастиц металлов в биологии. Имеются работы по изучению действия наночастиц титана на рефолдинг белков, в которых показано, что наночастицы могут играть роль шаперонов, адсорбируя на своей поверхности молекулы денатурированного белка, что предотвращает их агрегацию и способствует приобретению нативной конформации.

Аспаратаминотрансфераза (L-аспартат: 2-оксоглутарат аминотрансфераза, КФ 2.6.1.1), ключевой фермент азотистого обмена всех живых организмов, используется в качестве модельного объекта для изучения влияния окислительного стресса на процессы агрегации белка в клетке, имеющие место при ряде нейродегенеративных заболеваний. В связи с тем, что выделение АспАТ из тканей животных является чрезвычайно трудоемкой процедурой, нами был использован препарат рекомбинантной АспАТ с высокой степенью чистоты ~ 99% и молекулярной активностью 70 У/мг.

АспАТ предварительно инкубировали с H₂O₂, гидроперекисями t-Butyl и Cumene в концентрации 1 мМ в течение часа при комнатной температуре и изучали кинетику термоагрегации нативного и окисленного белка в присутствии наночастиц золота при 53,8°С и рН 6,0.

Из кинетических кривых термоагрегации АспАТ видно, что в присутствии наночастиц скорость агрегации увеличивается. Причем, если в отсутствие наночастиц в среде инкубации образование крупных видимых невооруженным взглядом белковых конгломератов наступает через 10 минут инкубации, то в присутствии наночастиц их образование наблюдается уже через 5 минут. Скорость и степень агрегации предварительно окисленного H₂O₂ и гидроперекисями t-Butyl и Cumene белка в присутствии наночастиц больше по сравнению с таковой нативного белка. Наибольший эффект на скорость и степень агрегации белка оказывает предварительная обработка АспАТ гидроперекисью t-Butyl, наименьший - гидроперекисью Cumene.

ВЛИЯНИЕ ШАПЕРОНОВ GROEL НА ПРОЦЕСС ТЕРМОАГРЕГАЦИИ РЕКОМБИНАНТНОЙ АСПАРТАМИНОТРАНСФЕРАЗЫ

Бондарюк Е.В.

Белорусский государственный университет, Минск (Беларусь)

E-mail: *bondev@mail.ru*

Аспаратаминотрансфераза (L-аспартат: 2-оксоглутарат аминотрансфераза, КФ 2.6.1.1) является ключевым ферментом азотистого обмена в клетке, как для животных, так и для растений и микроорганизмов. Гомогенный препарат фермента используется в качестве модельного объекта для изучения влияния окислительного стресса на внутриклеточный обмен веществ.

В связи с тем, что выделение АспАТ из тканей животных является чрезвычайно трудоемкой процедурой, нами был использован препарат рекомбинантной АспАТ с высокой степенью чистоты ~ 99% и молекулярной активностью 70 У/мг. Состояние окислительного стресса характеризуется повышенной продукцией активных форм кислорода, в том числе H₂O₂ и органических перекисей, которые могут окислять макромолекулы, особенно белки и ферменты. Окисление белков может приводить к увеличению их склонности к агрегации, вызванной повышением температуры. Белки теплового шока (шапероны) защищают белки от воздействия повышенной температуры, предотвращая их агрегацию.

Мы изучали влияние бактериальных шаперонов GroEL на процессы термоагрегации рекомбинантной АспАТ, как нативной, так и предварительно окисленной H₂O₂, гидроперекисями t-Butyl и Cumene.

Было обнаружено, что окисление различными перекисями в концентрации 1 ммоль/л рекомбинантной АспАТ в течение часа при комнатной температуре практически не влияет на кинетику ее термоагрегации при 53,8°C. В присутствии в среде инкубации 14-кратного молярного избытка мономеров GroEL степень термоагрегации нативной АспАТ снижалась на ~88%. Степень термоагрегации АспАТ, окисленной H₂O₂ и t-Butyl в присутствии GroEL снижалась на 80 и 82% соответственно, в то время как для АспАТ, предварительно окисленной гидроперекисью Cumene, эта величина была порядка 54%.

ИЗОФОРМЫ ЛАККАЗЫ ГРИБА *CERRENA UNICOLOR* ВКМ F-3196 – ПРОДУКТЫ РАЗНЫХ ГЕНОВ

Лисова З.А., Лисов А.В., Леонтьевский А.А.

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии
микроорганизмов им. Г.К.Скрябина РАН, Пушкино (Россия)

E-mail: zoyapozhid@rambler.ru

При культивировании на жидкой среде с ионами Cu²⁺ в качестве индуктора базидиомицет *C. unicolor* ВКМ F-3196 продуцировал лакказу в виде двух изоформ, названных LacC1 и LacC2. Явление множественности изоформ очень распространено среди продуцентов лакказы. Среди причин множественности изоформ известны посттрансляционные модификации, например, гликозилирование, продукта одного и того же гена, либо наличие множественных генов лакказы в грибных геномах.

Молекулярные массы LacC1 и LacC2 составляли 75 кДа и 67 кДа, соответственно. Лакказа - гликопротеин. Исследование влияния различных гликозидаз на LacC1 и LacC2 показало, что углеводные остатки представлены линейными маннозными структурами, которые связаны с белковыми цепями через остатки Asn в сайтах Asn-X-Ser/Thr, т.е. для обеих изоформ характерен N-тип гликозилирования. Молекулярные массы LacC1 и LacC2 после удаления углеводных остатков были одинаковыми и составляли 63 кДа. Следовательно, изоформы лакказы гриба *C. unicolor* ВКМ F-3196 могут быть продуктами одного гена, а их различие обусловлено разной степенью гликозилирования общего белкового предшественника. Однако пептидные карты двух изоформ, полученные с помощью MALDI TOF MS анализа, были разными. Для однозначного ответа на вопрос о причине множественности изоформ лакказы *C. unicolor* были определены нуклеотидные и соответствующие аминокислотные последовательности лакказ.

Нуклеотидные последовательности генов лакказ различались на 10,3%. Аминокислотные последовательности LacC1 и LacC2, полученные в результате компьютерной трансляции нуклеотидных последовательностей в программе Vector NTI Advance™ v. 10, различались между собой на 13 аминокислотных остатков, что доказывает, что изоформы LacC1 и LacC2 – продукты двух разных генов.

ЭСТЕРАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ АЛЬБУМИНА ПО Р-НИТРОФЕНИЛАЦЕТАТУ И ЕГО ВКЛАД В ДЕТОКСИКАЦИЮ ЗОМАНА

Шмурак В.И., Надеев А.Д., Прокофьева Д.С., Гончаров Н.В.

Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека,
Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: vladimir.shmurak@gmail.com

Механизм острого токсического действия фосфорорганических соединений (ФОС) на организм обусловлен главным образом ингибированием ацетилхолинэстеразы (АХЭ, КФ 3.1.1.7) в нервно-мышечных синапсах и нервной системе. Известно, что основными ферментами участвующими в детоксикации ФОС являются параоксоназа (КФ 3.1.8.1) и карбоксилэстеразы (КЭ, КФ 3.1.1.1.).

Сывороточный альбумин не относят к числу эстераз несмотря на то, что его эстеразная активность обнаружена достаточно давно и показана для различных субстратов. Свою

максимальную эстеразную активность человеческий сывороточный альбумин (ЧСА) проявляет по отношению к специфическому для карбоксилэстеразы субстрату - *p*-нитрофенилацетату (НФА). Исследования с применением сайт-специфического мутагенеза выявили, что Arg-410 и, особенно, Tyr-411 важны для эстеразной активности ЧСА по НФА. В то же время, активный сайт ЧСА по отношению к НФА является также и сайтом связывания фосфорорганических веществ.

В данной работе было проведено исследование эстеразных свойств альбумина человека по отношению к *p*-нитрофенилацетату и гидролитической активности альбумина по отношению к зоману. В эксперименте по определению зависимости *p*-нитрофенилацетатной активности альбумина от концентрации субстрата рассчитана константа Михаэлиса. Проведен анализ активности альбумина по отношению к *p*-нитрофенилацетату после взаимодействия белка со специфическим ингибитором КЭ - бис-4-нитрофенилфосфатом, и фосфорорганическим отравляющим веществом - зоманом. В эксперименте *in vitro* оценен вклад альбумина в детоксикацию зомана.

МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА К ПРОПЕПТИДУ В, КОМПОНЕНТУ ПРЕДШЕСТВЕННИКА ЭНДОПЕПТИДАЗЫ AlpB, СЕКРЕТИРУЕМОЙ *LYSOBACTER SP.*

**Сухаричева Н.А.^{1,3}, Видягина Е.О.^{1,3}, Шувалова О.П.², Красовская Л.А.²,
Степная О.А.², Руденко Н.В.³**

¹Пушинский государственный университет; ²Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им Г.К.Скрябина РАН; ³Филиал Учреждения Российской академии наук Института биоорганической химии им. акад. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Пушкино (Россия)

E-mail: natasha-sukharicheva@yandex.ru

Моноклональные антитела являются общепризнанным инструментом для исследования и идентификации компонентов различных биологических объектов. В настоящей работе получены и охарактеризованы моноклональные антитела против пропептида В, входящего в состав предшественника эндопептидазы AlpB, секретируемой *Lysobacter sp. XL1*, с целью исследования путей секреции этого фермента - потенциального компонента современных антимикробных лекарственных средств.

Моноклональные антитела получали гибридизацией иммунных спленоцитов с миеломной линией клеток SP2/0 с помощью полиэтиленгликоля. Скрининг положительных клонов проводили методом непрямого иммуноферментного анализа по взаимодействию с иммобилизованным нативным пропептидом В. Полученные антитела были охарактеризованы: определены типы тяжелых и легких цепей, вычислена степень аффинности. Задача по отбору антител значительно усложнялась высокой степенью гомологии между аминокислотными последовательностями белков, секретируемых *Lysobacter sp. XL1*.

Так, моноклональное антитело ProB-1 эффективно взаимодействовало с нативным препаратом пропептида В с константой аффинности, равной $2 \times 10^8 \text{M}^{-1}$, не проявляя при этом перекрестной иммунореактивности по отношению к другим секретируемым компонентам. При анализе же взаимодействия ProB-1 с денатурированными белками методом иммуноблоттинга было выявлено, что оно эффективно взаимодействует не только с денатурированной формой «родного» антигена, но и, в значительно меньшей степени, со зрелыми формами эндопептидаз AlpA и AlpB. Это позволило теоретически вычислить эпитоп антитела. ProB-1 использовали для идентификации пропептида В в различных препаратах *Lysobacter sp. XL1*.

СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ НАХОДЯЩИХСЯ НА ХРОНИЧЕСКОМ ГЕМОДИАЛИЗЕ

Поляков Д.С.

Учреждение Российской академии медицинских наук Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины Северо-Западного отделения РАМН,

Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: ravendoctor@mail.ru

Больные с терминальной стадией хронической почечной недостаточности нуждаются в замещении утраченных функций почек. Наиболее распространенным методом заместительной терапии таких больных является хронический гемодиализ – процедура, продлевающая жизнь таким пациентам на годы.

Хронический гемодиализ сопровождается осложнением, которое известно как β 2-микроглобулиновый амилоидоз. При этом в костях, связках и суставах откладывается амилоид состоящий из белка β 2-микроглобулина. Причины развития данного амилоидоза до сих пор окончательно не установлены. С целью выяснения роли воспалительных реакций в патогенезе β 2-микроглобулинового амилоидоза было определено содержание IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, GM-CSF, IFN- γ , TNF- α в плазме крови больных на хроническом гемодиализе. Обнаружено, что концентрация всех исследованных цитокинов у больных на гемодиализе достоверно выше содержания цитокинов в контрольной группе практически здоровых людей. Группа больных, получающих процедуру стандартного гемодиализа, отличалась от группы на гемодиализации только по уровню GM-CSF ($p < 0,04$). По остальным цитокинам статистически значимых различий между группами не выявлено.

С увеличением срока, в течение которого больные подвергались процедуре хронического диализа, уровень IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, GM-CSF, IFN- γ , TNF- α увеличивался или, по крайней мере, не уменьшался. При этом содержание IL-10 было снижено после трех лет диализа до уровня, статистически не различающегося с нормой. В плазме крови больных на гемодиализации с увеличением срока диализа уровень IL-2, IL-4, IL-8, GM-CSF, IFN- γ , TNF- α не уменьшался. Содержание же IL-6 и IL-10 снижалось после трех лет диализа практически до нормального уровня.

Полученные результаты, на наш взгляд, позволяют предложить IL-10 и IL-6 для дальнейшего изучения в качестве потенциальных маркеров-кандидатов β 2-микроглобулинового амилоидоза.

ИЗУЧЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ КОМПЛЕКСА МЕЖДУ БЕЛКОМ И АЗОЛОМ

Мартынов Д.В., Чухно А.С.

Санкт-петербургский государственный университет, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: martyn88@list.ru

Изучение процессов комплексообразования между белком и азолом имеет большое значение для медицины и фармации. Исследование закономерностей взаимодействия этих веществ даст полную картину процессов, происходящих в организме при действии лекарственных препаратов на основе азола.

Азолы входят в состав биологически важных объектов. Многие лекарственные препараты (например, анальгин, дибазол) являются производными азолов группы диазола. С химической точки зрения азолы – пятичленные гетероциклические соединения, содержащие в качестве еще одного или более гетероатомов – азот.

Альбумины – водорастворимые глобулярные белки, входящие в состав сыворотки крови, цитоплазмы клеток животных и растений. Наиболее известны сывороточный и яичный альбумины.

Яичный белок по своим свойствам близок к сывороточному, а именно сывороточный белок осуществляет в организме транспорт низкомолекулярных веществ, например жирных кислот, аминокислот. Он связывает также почти все лекарственные средства и таким образом пролонгирует их действие.

Целью данной работы являлось изучение образования комплекса между белком и азолом.

В работе использовался метод кондуктометрического титрования. В данной работе проводилось титрование 0,01М и 0,001М растворов диазола растворами соляной кислоты. При добавлении кислоты измерялась удельная электрическая проводимость раствора. Затем таким же методом был оттитрован раствор диазола с яичным альбумином. Молярная масса альбумина была определена вискозиметрическим методом и составила 276.694 г/моль. По

экспериментальным результатам были построены графики зависимости удельной проводимости раствора от объема добавленного титранта. Для растворов диазола графики имели вид кривых со множеством изломов. Кривая титрования раствора диазола с белком имела схожий вид, но была несколько смещена вниз по оси ординат.

Таким образом, исследовав зависимость удельной проводимости раствора чистого диазола и раствора диазола с белком можно сделать вывод о том, что имеет место процесс комплексообразования.

АКТИВНОСТЬ ГЛУТАТИОНРЕДУКТАЗЫ В РАЗНЫХ ОРГАНАХ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ИНСУЛЬТА

Торгало Е.А., Остапченко Л.И.

Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко, Образовательно-научный центр «Институт биологии», Киев (Украина)

E-mail: *alisa210@meta.ua*

Глутатионовая антиоксидантная система, препятствует накоплению токсических продуктов пероксидного окисления липидов (ПОЛ), также играет важную роль в детоксикации, деградации и выведении из организма чужеродных органических субстанций. Важной составляющей выше указанной системы является глутатионредуктаза (ГР) - ключевой фермент в механизмах защиты клеток от воздействия экзогенных и эндогенных свободных радикалов, возникающих в ответ на геморрагический инсульт. Применяя липосомальную форму - Липофлавон, можно избежать данной проблемы.

Цель: изучить влияние липофлавона на активность глутатионредуктазы в тканях мозга, селезенки и почек при экспериментальном геморрагическом инсульте.

В опыте использовали белых крыс массой 180 ± 10 г, которых содержали на стандартном рационе вивария. Геморрагический инсульт у крыс вызывали путем введения во внутреннюю капсулу головного мозга аутогенной крови (Ярош, 2005). Липофлавон вводили внутривенно (10 мг/кг) в течение 7 суток. Активность фермента выражали в мкмоль НАДФН на 1 г белка в мин. (Власова, 1990).

При геморрагическом инсульте происходит снижение активности ГР, что может быть одной из причин нарушения пролиферации клеток. После введения липофлавона активность ГР возобновлялись до контрольных значений в мозге и почках, а также повышалась в селезенке почти в 4 раза по сравнению с группой животных, которым не вводили препарат.

В условиях геморрагического инсульта происходит интенсификация процессов ПОЛ, о чем свидетельствует повышение содержания их продуктов и снижение активности антиоксидантных ферментов. Введение кверцетина и липофлавона приводит к нормализации состояния системы ПОЛ, а именно, к снижению содержания продуктов ПОЛ и активации ферментов антиоксидантной защиты.

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ИЗОФЕРМЕНТОВ ПИРУВАТКИНАЗЫ БИОФЛАВОНОИДАМИ IN VITRO

Губич О.И., Исачкин О.В., Посредник Д.В.

Белорусский государственный университет, Минск (Беларусь)

E-mail: *Hubich_Oksana@tut.by*

Пируваткиназа (ПК) – гликолитический фермент, участвующий в реакции субстратного фосфорилирования АДФ. В организме человека фермент представлен 4 изоформами (L-, M₁-, M₂-, R-) различающимися по особенностям регуляции биокатализа и локализации в тканях. При злокачественной трансформации клеток изоферменты ПК димеризуются в опухолевую Tu-ПК, молекулярно-биохимические особенности функционирования которой окончательно не установлены.

Биофлавоноиды и куркуминоиды – полифенольные биологически активные соединения растений, активно используемые в качестве лекарственных препаратов и биодобавок. Между

тем, в доступной литературе отсутствует информация о возможности регуляции ими энергетических процессов в нормальных и раковых клетках.

Таким образом, целью настоящей работы явилось изучение влияния куркумина и некоторых биофлавоноидов на активность различных изоферментов ПК.

Исследование активности изоферментов ПК проводилось в цитозольных фракциях скелетной мускулатуры (M_1 -ПК), легких (M_2 -), печени (L-), эритроцитов крыс (R-). Активность Ту-ПК определялась в гомогенатах клеток линии Kasumi -1 (острый миелоидный лейкоз человека).

В ходе работы установлена способность флавоноидов и куркумина регулировать протекание гликолиза нормальных клеток путем ингибирования пируваткиназной реакции. Максимально эффективными оказались концентрации, равные $1 \cdot 10^{-7}$ – $1 \cdot 10^{-9}$ моль/л. По силе ингибиторного действия природные полифенолы образовали следующий ряд эффективности:

для M_1 -ПК: кверцетин > морин \geq куркумин > хризин \gg гесперидин = 0.

для L-ПК: морин \geq кверцетин > гесперидин > хризин > куркумин.

для M_2 -ПК: кверцетин > морин \gg куркумин > хризин > гесперидин = 0.

для R-ПК: морин \geq кверцетин = 0.

В отношении Ту-ПК слабое ингибиторное действие оказывали только гесперидин (10^{-5} моль/л) и куркумин (10^{-5} – 10^{-6} моль/л).

Примечательно, что в присутствии 5 ммоль/л аланина наблюдалось подавление наблюдаемого ингибиторного эффекта.

АНАЛОГИ ПРОСТАГЛАНДИНОВ ГРУППЫ В КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ЦИТОПРОТЕКТОРНЫЕ СРЕДСТВА

Губич О.И., Шевчук Е.С.

Белорусский государственный университет, Минск (Беларусь)

E-mail: *Hubich_Oksana@tut.by*

Простагландины (ПГ) – мультифункциональные молекулярные регуляторы различных физиологических функций. Наличие у ПГ гепатопротекторных свойств позволяет рассматривать их как потенциальные хемотерапевтические средства. Однако лабильность и неселективность природных ПГ ограничивают возможность их практического использования. Поэтому создание высокоактивных синтетических простаноидов является удачной альтернативой использованию их природных прототипов.

Настоящая работа посвящена сравнительной характеристике цитопротекторных свойств простаноидов группы В на клеточной модели повреждения печени хлороформом. Исследование выполнено с использованием 9 аналогов ПГВ, синтезированных Лабораторией химии простагландинов Института биоорганической химии Беларуси.

Работа проводилась на первичной суспензии гепатоцитов крыс. Простаноиды в концентрациях (10^{-10} – 10^{-6} моль/л) добавляли к опытным пробам через 30 минут после 0,14% хлороформа. Цитопротекторные свойства изучаемых соединений оценивали по их способности предотвращать утечку лактатдегидрогеназы из цитозоля, кислой фосфатазы – из лизосом и глутаматдегидрогеназы – из митохондрий гепатоцитов.

Установлено, что обработка клеток исследованными простаноидами вызывает развитие достоверного дозозависимого защитного эффекта. Максимально эффективными оказались концентрации, равные $1 \cdot 10^{-7}$ – $1 \cdot 10^{-8}$ моль/л. По силе протекторного действия простаноиды образуют следующий ряд эффективности: **Л6К** (-99,0% к контролю) = **Л1К** (-98,5%) \geq **Л7М** (-97%) > **М3Г** (-89%) = **М2Ц** (-89%) > **ПГ₂** (-57%) \geq **М1Ц** (-55,8%) > **М8К** (-36%) > **М3Ц** (-24,1%) > **Л6М** (-19,9%).

Максимальный эффект наблюдался в присутствии соединений, обладающих 2-тиенил-пропиловым фрагментом (Л6К, Л7М), метоксикарбонильной группой (Л1К) или бензольным кольцом (М2Ц, М3Г) в α -цепи. Действие этих соединений превосходило эффект широко используемого в клинической и экспериментальной практике ПГ₂.

Работа выполнена в рамках ГПНИ Республики Беларусь «Фундаментальная и прикладная медицина и фармация» (№ задания 4.36).

УРОВЕНЬ РЕГУЛЯТОРНЫХ ПЕПТИДОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ СПОРТСМЕНОВ ПРИ ФИЗИЧЕСКОЙ РАБОТЕ

Соловьев В.Б., Юматова Е.В., Бегутов М.М., Киселев М.А., Пчеляков А.В.
Пензенский государственный педагогический университет им. В.Г.Белинского,
Пенза (Россия)

E-mail: *solowew@rambler.ru*

В биохимии спорта огромное внимание уделяется поиску тех ключевых факторов регуляции метаболизма, воздействие на которые позволит значительно улучшить спортивный результат. Наиболее перспективной мишенью для воздействия является пептидергическая система. Нейропептиды играют важную роль в адапционных процессах, участвуют в формировании пищедобывательного и полового поведения, регулируют состояние практически всех регуляторных систем.

Цель нашей работы – исследование уровня регуляторных пептидов в сыворотке крови спортсменов и людей, не занимающихся спортом, а также изучение путей их образования и инактивации в норме и при физической работе.

Результаты нашего исследования показывают, что наибольшую роль в адаптации к физической работе у спортсменов высокой квалификации играют такие регуляторные пептиды, как АКТГ, инсулин, глюкагон и лептин, регулирующие обмен основных энергетических молекул, а также вещество P, обладающее широким спектром действия. Уровни соматотропина, ИФР-1, люлиберина и тропных половых гормонов не отличались у спортсменов и неспортсменов в норме и при физической работе. Однако существенное повышение концентрации этих веществ при систематических нагрузках играет значительную роль в адапционных процессах. В свою очередь, одним из механизмов регуляции уровня регуляторных пептидов при физической работе является изменение активности ферментов их обмена – пептидилдипептидазы А, карбоксипептидазы N и лейцинаминопептидазы.

Таким образом, пептидергическая система активно вовлечена в адаптивные процессы к физической работе и перестройки в ее функционировании являются одними из тех факторов, от которых зависит спортивный результат.

ИЗУЧЕНИЕ МЕТАБОЛИЗМА РЕГУЛЯТОРНЫХ ПЕПТИДОВ В МАТОЧНОМ МОЛОЧКЕ И ЛИЧИНКАХ ПЧЕЛ

Соловьев В.Б., Юматова Е.В., Бегутов М.М., Киселев М.А., Пчеляков А.В.
Пензенский государственный педагогический университет им. В.Г.Белинского,
Пенза (Россия)

E-mail: *solowew@rambler.ru*

Продукты пчеловодства являются перспективным источником биологически-активных веществ для биотехнологии и медицины. Данные исследований последних лет свидетельствуют о достаточно высоком содержании регуляторных пептидов в маточном молочке и гомогенате личинок маток и трутневого расплода пчёл. Поскольку биологически активные пептиды влияют практически на все физиологические процессы и регулируют деятельность всех регуляторных систем, перспективным направлением является изучение пептидного спектра пчелопродуктов с целью создания новых лекарственных препаратов на их основе.

Изучение содержания уровней пептидов в образце не дает достаточно точных представлений о его биологической роли. Более информативным является изучение процессов синтеза и трансформации пептидов, поскольку концентрация биологически активных пептидов зависит от активности ферментов их обмена.

Целью нашей работы являлось выделение и изучение свойств пептидов из маточного молочка и гомогената личинок пчёл, а также изучение процессов ферментативного метаболизма регуляторных пептидов на разных этапах онтогенеза личинок пчел.

Была установлена выраженная динамика изменения активности ферментов процессинга и деградации регуляторных пептидов в процессе созревания личинок маток и трутней пчел. Процесс развития личинок сопровождался также заметной динамикой изменения содержания пептидных фракций. Наши результаты свидетельствуют о зависимости развития особи от

активности пептидергической системы. Индивидуальные пептиды и их фракции показали выраженный эффект увеличения выносливости белых беспородных крыс в эксперименте по удержанию на плаву с грузом.

Таким образом, наши результаты показывают перспективность дальнейшего изучения регуляторных пептидов пчёл с целью создания новых лекарственных препаратов и биологически-активных добавок на их основе.

МЕТАБОЛИЗМ ВИТАМИНА С В ОРГАНАХ ЧЕРНОМОРСКИХ МИДИЙ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* ПОД ДЕЙСТВИЕМ ЛИПОВОЙ КИСЛОТЫ

Скупой С.А., Толкаченко Д.С.

Одесский национальный университет им. И.И.Мечникова, Одесса (Украина)

E-mail: rac2009@rambler.ru

Содержание витаминов и их функции у беспозвоночных, в отличие от позвоночных, изучено недостаточно и рассматривается только с точки зрения пищевой ценности этих организмов. В связи с этим у черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* обычно исследуют содержание жирорастворимых витаминов, аминокислот, жирных кислот. Публикаций, посвященных механизмам функционирования витамина С и липоевой кислоты в тканях мидий, в литературе нет.

В связи с вышеизложенным, целью нашей работы было исследовать действие липоевой кислоты на содержание витамина С и его метаболитов в органах черноморских мидий в динамике. Черноморских мидий размером 3-4 см собирали сентябре 2009 года в прибрежной части акватории Одесского залива. Их помещали в аквариумы из расчета 1 мидия на 1 дм³ морской воды, адаптировали при искусственной аэрации в течение 2 суток. Далее в водную среду добавляли липоевую кислоту (натриевая соль) из расчета 1 ммоль/л. Через 30 минут, 1, 2, 4 и 24 часа мидий брали в опыт и в их органах (жабры, мантия, гепатопанкреас, нога) определяли содержание и соотношение метаболитов аскорбиновой кислоты: сумму аскорбиновой, дегидроаскорбиновой и дикетогулоновой кислот, собственно аскорбиновую кислоту, дегидроаскорбиновую кислоту, дикетогулоновую кислоту по *Соколовскому, Лебедевой, Лиэлуп, 1974*.

Было получено, что липоевая кислота уменьшает содержание метаболитов витамина С в органах мидий и изменяет их соотношение на 30-ю и 60-ю минуты опыта. Вероятно такой эффект может быть объяснен общим увеличением расхода метаболитов витамина С, а также повышенным окислением собственно аскорбиновой кислоты под действием липоевой кислоты.

СЕКРЕЦИЯ БЕЛКА ТЕПЛОВОГО ШОКА HSP90 КЛЕТОЧНЫМИ КУЛЬТУРАМИ ВНК-21 И VERO

Красикова Л.С., Снигирева А.В., Скарга Ю.Ю., Врублевская В.В., Моренков О.С.

Учреждение Российской академии наук Институт биофизики клетки РАН,

Пущино (Россия)

E-mail: wind-silfall@mail.ru

Белки теплового шока (heat shock proteins, Hsp) являются внутриклеточными белками, играющими важную роль в выживании клетки при различного рода стрессовых воздействиях. Недавно было установлено, что разные типы клеток способны секретировать некоторые Hsp во внеклеточную среду, где они могут участвовать в регуляции работы иммунной системы. Целью данной работы было изучение секреции белка Hsp90, одного из представителей семейства Hsp, клетками двух клеточных культур - ВНК-21 и Vero.

Содержание внеклеточного Hsp90 оценивали с помощью Вестерн-блот анализа. Впервые показана секреция клетками белка Hsp90 во внеклеточную среду. Доказано, что появление Hsp90 во внеклеточной среде является активным процессом, не связанным с клеточной гибелью. При инкубации клеток с брэфелдином (20 мкг/мл), ингибитором классического пути секреции белков, не наблюдалось уменьшения секреции Hsp90; более того, в случае с ВНК-21, уровень секреции Hsp90 повышался в присутствии ингибитора. Инкубация клеток с метил-β-

циклодекстрином (25 мкг/мл), ингибитором липидных рафтов, приводила к снижению уровня секреции Hsp90 в экспериментах на обеих культурах; в случае с Vero ингибирование секреции было более выражено (в 1,5-2 раза), чем случае с ВНК-21.

Таким образом, на двух клеточных культурах ВНК-21 и Vero впервые обнаружена секреция клетками белка Hsp90, секреция осуществляется по неклассическому (ЭПР/Гольджи-независимому) пути при участии липидных рафтов. Сходный характер действия ингибиторов на секрецию Hsp90 на двух клеточных культурах позволяет предположить существование общего механизма секреции Hsp90 различными типами клетками.

СЕКЦИЯ «Биофизика клетки, органов и систем»

ДЕЙСТВИЕ ПРЕПАРАТА «ДИМЕФОСФОН» НА ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ЭРИТРОЦИТОВ ГОЛУБЯ ПРИ РАЗВИТИИ АПОПТОЗА

Грузнов М.А., Девяткин А.А., Ревин В.В.

Мордовский государственный университет им. Н.П.Огарева, Саранск (Россия)

E-mail: *miphodii@mail.ru*

Формирование и поддержание структурно-функционального постоянства тканей и органов биологических систем определяется сбалансированностью процессов отмирания и обновления клеток.

Гибель клеток играет важную роль в формировании и функционировании многоклеточных организмов. Основной причиной апоптоза является нерегулируемое перекисное окисление липидов (ПОЛ) крови и фосфолипидов биомембран. Одним из возможных путей решения данной проблемы, является поиск эффективных антиоксидантов среди различных препаратов, одним из которых является димефосфон.

Целью нашей работы было исследование влияния препарата димефосфон на жирнокислотный состав эритроцитов голубя.

Для исследования использовали, стабилизированную гепарином, кровь голубя. Инкубацию крови проводили в пробирках следующим образом: помещали в пробирки 3 мл стабилизированной крови, приливали водный раствор цианистого калия до концентрации 20 мМ, ПОЛ индуцировали H_2O_2 до 20 мМ и ингибировали добавлением димефосфона. Пробирки помещали в термостат при 25°C и 40°C при постоянном перемешивании. Отбор аликвот крови проводили через 6, 12, 24 часа после воздействия индуктора и ингибитора.

Основным субстратом при ПОЛ являются ненасыщенные жирные кислоты (ЖК). Димефосфон, являясь антиоксидантом, должен приводить микровязкость в норму. В процессе работы были получены суммы насыщенных и ненасыщенных ЖК у индивидуальных фракций фосфолипидов и рассчитана константа насыщения. В норме она равна от 1,467 у ФЭА до 1,932 у СМ. В пробах с H_2O_2 константа возрастает: максимальное изменение наблюдается у ФЭА – в 3,2 раза, минимальное у СМ – в 1,7 раз. При увеличении времени инкубации до 12 ч константа еще более возрастала максимально у ФЭА – в 2,6 раза, минимально у ФИ – в 1,7 раз. При добавлении препарата «Димефосфон» наблюдается снижение насыщенности и она становится близка к норме.

ЭКЗОГЕННЫЙ БЕЛОК ТЕПЛОВОГО ШОКА БТШ70 ЗАЩИЩАЕТ КЛЕТКИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ОТ ДЕЙСТВИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПАТОГЕНОВ

Антонова О.Ю., Юринская М.М., Винокуров М.Г.

Учреждение Российской академии наук Институт биофизики клетки РАН;

Пушинский государственный университет, Пушино (Россия)

E-mail: *antonovaolga07@rambler.ru*

Ключевую роль в патогенезе сепсиса играют бактериальные патогены (БП), в частности, компоненты клеточных стенок грамотрицательных - липополисахариды (LPS) и грамположительных бактерий – липотейхоевая кислота (LTA). При сепсисе и других воспалительных заболеваниях основными мишенями БП в организме являются миелоидные клетки (нейтрофилы, моноциты и макрофаги). Под действием БП происходит изменение функциональной активности этих клеток: изменение продукции активных форм кислорода (АФК), экспрессии рецепторов адгезии, нарушаются механизмы регуляции апоптоза этих клеток. При различных видах стресса (в том числе и при воспалительных процессах) увеличивается экспрессия белков теплового шока (БТШ), и, в частности, БТШ70, который участвует в активации и регуляции иммунных клеток.

Известно, что структура LPS влияет на патогенетические механизмы сепсиса, но влияние различных хемотипов LPS изучено значительно меньше, чем влияние S-хемотипа.

Целью данной работы являлось исследование действия экзогенного рекомбинантного БТШ70 на активацию миелоидных клеток при действии бактериальных патогенов. Предварительная инкубация нейтрофилов с БТШ70 оказывала защитный эффект на индуцируемое S- LPS ингибирование апоптоза и экспрессию CD11b рецепторов. LPS - зависимая продукция АФК нейтрофилами и макрофагами зависела от длины полисахаридной цепи LPS, по степени активации хемотипы LPS можно расположить в ряд: S- LPS > Ra- LPS > Re- LPS \geq Rc- LPS, в то время как продукция АФК моноцитами была максимальной при их активации Ra- формой LPS. Показано, что защитное действие БТШ70 коррелирует с размером молекулы хемотипов LPS.

Исследование эффекта толерантности LPS на продукцию АФК макрофагами показало, что низкие концентрации LPS вызывают защитный эффект, подавляя образование АФК.

СЕКРЕЦИЯ МЕДИАТОРА ПО ТИПУ KISS-AND-RUN В НЕРВНО-МЫШЕЧНОМ СИНАПСЕ ЛЯГУШКИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ГИПЕРОСМОТИЧЕСКИХ РАСТВОРОВ

Григорьев П.Н.

Казанский государственный медицинский университет Росздрава, Казань (Россия)

E-mail: *grigpavel@mail.ru*

В опытах на нервно-мышечных препаратах кожно-грудинной мышцы лягушки *Rana Ridibunda* с использованием электрофизиологического (внутриклеточная регистрация постсинаптических сигналов) и оптического (флуоресцентная конфокальная микроскопия) подходов исследовались секреция медиатора и процессы экзо-эндоцитоза синаптических везикул при увеличении осмотичности внеклеточного раствора.

Обнаружено, что добавление полиэтиленгликоля ($M_r \approx 3350$) или сахарозы в раствор Рингера дозозависимо увеличивало осмотичность и частоту миниатюрных потенциалов концевой пластинки. Стимуляция секреции медиатора гиперосмотическими растворами полиэтиленгликоля (11-30 мМ) или сахарозы (20-100 мМ) продолжительностью 1-5 мин в присутствии флуоресцентного красителя FM 1-43 (6 мкМ) не приводила к эффективному захвату красителя.

В контрольных препаратах при стимуляции секреции медиатора гиперкалиевым раствором ($[K]_o = 40$ мМ) продолжительностью 3-5 мин в присутствии FM 1-43 отмечались увеличение интенсивности свечения нервных окончаний и появление в них интенсивно флуоресцирующих пятен, что свидетельствует о рециклировании синаптических везикул посредством экзоцитоза/эндоцитоза. Экспозиция в гиперосмотических растворах предварительно окрашенных FM 1-43 нервных окончаний не вызывала значимых изменений морфологии пятен, в то время как последующая экспозиция гиперкалиевых растворов приводила к быстрому падению свечения и исчезновению флуоресцирующих пятен.

Полученные данные позволяют предполагать секрецию медиатора в гиперосмотических растворах сахарозы и полиэтиленгликоля по механизму kiss-and-run. Исследование поддержано грантами РФФИ 11-04-00568-а и НШ-5250.2010.4.

ВЛИЯНИЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО УЛЬТРАЗВУКОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ПРОНИЦАЕМОСТЬ БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕМБРАН ЛЕЙКОЦИТОВ

Овчинникова С.О., Садилова П.Ю.

Ижевский государственный технический университет, Ижевск (Россия)

E-mail: *p_sadilova@mail.ru*

За последние десятилетия в различных отраслях биофизики и медицины широкое распространение получило терапевтическое ультразвуковое излучение, используемое для воздействия на биологические объекты и системы с целью необходимой коррекции процессов функционирования биоструктур. Несмотря на наличие широкого спектра существующей медицинской физиотерапевтической аппаратуры, и достигнутые в последние годы успехи, вопрос об эффективности и безопасности проведения указанных процедур остается открытым.

Целью данной работы явилось проведение экспериментального исследования действия терапевтического ультразвукового излучения с различными режимами интенсивности на проницаемость биологических мембран лейкоцитов. В качестве источника ультразвуковых волн был использован ультразвуковой терапевтический аппарат УЗТ-1.01Ф, применяемый с различными физиотерапевтическими целями в медицинской практике. Номинальное значение частоты УЗ колебаний, генерируемых аппаратом $f = 880$ кГц, режим генерации: непрерывный. Для каждого режима облучения создавались контрольная и четыре опытные группы.

При воздействии терапевтического ультразвукового излучения интенсивностью $I = 0,4$ Вт/см² в течение 1, 3 и 10 минут количество лейкоцитов составило 8,1; 7,3; 6,5 соответственно, что на 26, 32, 41% меньше контрольной группы (количество лейкоцитов 11). Дальнейшее увеличение интенсивности $I = 1$ Вт/см² УЗ излучения усиливает его повреждающее действие, так при 1, 3 и 10 минутной экспозиции количество лейкоцитов составило 6,2; 5,9; 4 соответственно, что меньше на 43, 46 и 63% по сравнению с контрольным образцом.

Таким образом, терапевтическое УЗ излучение оказывает разрушающее действие на биологические мембраны лейкоцитов, что непременно должно учитываться в практической медицине.

КЛАССИФИКАЦИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ПРОСТРАНСТВЕННЫХ СТРУКТУР G-БЕЛОК СОПРЯЖЕННЫХ РЕЦЕПТОРОВ

Новиков Г.В., Сивожелезов В.С.

Институт биофизики клетки РАН, Пущино (Россия)

E-mail: *own3r@bk.ru*

На данный момент считается общепринятой идентичность всех известных пространственных структур водорастворимых (глобулярных) белков, полученных при помощи различных методов (кристаллография, микроскопия, ЯМР). Это дало основание предположить, что данные структуры должны быть так же идентичными в условиях *in vivo*. В ряде работ было показано, что для трансмембранных белков, в частности G-белок сопряженных рецепторов (GPCR), - это не так. Типичный пример этого - родопсин в своём основном (невозбужденном) состоянии, полученный при помощи кристаллографии и ЯМР. В данном случае регистрировались заметные отличия в пространственных структурах рецептора: например, у ЯМРной формы трансмембранные спирали были заметно согнуты, по сравнению с кристаллом. В литературе каждая вновь полученная структура обычно сравнивается лишь с небольшим числом уже известных структур.

В рамках же данной работы было проведено сравнение всех структур со всеми. В результате была получена филогенетическая классификация всех известных пространственных структур GPCR в форме деревьев. В ходе данной работы был проведен поиск ответа на два поставленных вопроса. В первую очередь, исследователей интересовало, определяется ли пространственная структура GPCR-белков их аминокислотной последовательностью, либо же она больше зависит от экспериментального метода, при помощи которого данная структура была получена? В связи с этим возникал второй вопрос: можно ли экспериментальными методами отличить активное состояние рецептора от неактивного?

В результате проведенной структурной классификации было показано, что кристаллографические структуры каждого из GPCR, полученные разными методами, группировались совместно. Было так же показано, что структуры родопсина, полученные методом ЯМР, выпадали из общей классификации данных рецепторов. В этой связи можно предположить, что точность метода растворного ЯМР недостаточна для структурных исследований GPCR белков. Наконец, на основании анализа некоторых кристаллографических структур GPCR (в частности, структур Родопсина и Бета-2-адренергического рецептора), были обнаружены отличия (на уровне движения целых спиралей) активных от неактивных форм данных рецепторов.

Было показано, что активные формы Родопсина группировались отдельно от неактивных. Помимо этого, единственная, известная на данный момент, активная форма Бета-2-адренергического рецептора так же выпадала из общего числа прочих (инактивированных) форм данного рецептора. В случае же ЯМР-структур родопсина, а так же лишенного лиганда

опсина, подобные отличия непосредственно связать с процессом активации рецептора не удалось. Так, в первом случае трансмембранные участки (альфа спирали) активной формы белка были значительно искажены, обладая более сильным сходством с внеклеточными участками (петлями). Во втором же случае, сайт связывания лиганда-ретинала был полностью доступен растворителю.

Таким образом, на основании результатов проведенного исследования, можно сделать вывод, что для изучения механизмов активации GPCR, руководствоваться одной лишь информацией о структуре данных рецепторов недостаточно. Помимо этого нужны так же данные о движении спиралей, полученные экспериментальными физическими методами (например, флуоресцентными), а так же методами молекулярного моделирования.

ТЕРМОДЕНАТУРАЦИЯ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ СИНАПТИЧЕСКИХ МЕМБРАН МОЗГА КРЫС

Тикра Х.М., Джафарова А.М., Кличханов Н.К., Мейланов И.С.
Дагестанский государственный университет, Махачкала (Россия)

E-mail: *thikra_biochem@yahoo.com*

Исследована кинетика тепловой денатурации ацетилхолинэстеразы синаптических мембран мозга крыс. Скорость денатурации определялась по уменьшению каталитической активности фермента. Кинетика денатурации состоит из двух участков – начального быстрого и второго - медленного. Константа скорости первой стадии примерно в 10 раз больше, чем второй: $K_1 = 0.477 \text{ мин}^{-1}$, $K_2 = 0.0386 \text{ мин}^{-1}$ (при температуре денатурации 48°C).

Исследована также температурная зависимость констант скорости денатурации фермента в диапазоне $42\text{-}52^\circ\text{C}$. В Аррениусовских координатах эти зависимости имеют вид прямой. Это позволяет оценить эффективные энергии активации первой и второй стадий денатурации. Энергия активации быстрой стадии меньше энергии активации второй стадии. В присутствие глицерина в концентрации 2% константы денатурации уменьшаются, а энергии активации увеличиваются. Доля быстрой стадии в общей кинетике денатурации при 48°C в присутствие глицерина уменьшается.

Таким образом, на пути от нативного состояния к денатурированному или частично денатурированному состоянию имеется промежуточное состояние, которое отделено от нативного и денатурированного состояний достаточно высокими барьерами и которое обладает каталитической активностью. Природа промежуточного состояния неизвестна. Однако поскольку в этом состоянии каталитическая активность сохраняется, структура его, видимо, близка к структуре нативного состояния. Тот факт, что глицерин приблизительно одинаково повлиял на энергии активации первой и второй стадий тоже говорит в пользу этого предположения.

Ацетилхолинэстераза синаптических мембран в мозге млекопитающих представлена тетрамерами, мы предполагаем, что первая стадия денатурации может быть связана с движением протомеров в тетрамере друг относительно друга, а вторая стадия связана с разворачиванием третичной структуры молекулы и переходом в состояние расплавленной глобулы.

$\Delta p\text{Cl}^-$ -ЗАВИСИМЫЙ ПЕРЕНОС ПРОТОНОВ ЧЕРЕЗ МЕМБРАНЫ КЛЕТОК КОРНЯ ГАЛОФИТА *SUAEDA ALTISSIMA*

Шувалов А.В., Орлова Ю.В.

Учреждение Российской академии наук Институт физиологии растений
им. К.А.Тимирязева РАН, Москва (Россия)

E-mail: *laursen1243@mail.ru*

Исследовали Cl^-/H^+ -обмен через мембраны клеток корня галофита *Suaeda altissima*. Эксперименты проводили на мембранной фракции, обогащенной везикулами плазмалеммы (ПМ). Фракцию получали центрифугированием суспензии микросом в ступенчатом градиенте плотности сахарозы. Перенос H^+ через мембрану регистрировали с помощью $\Delta p\text{H}$ -индикатора

акридинового оранжевого (АО) и рН-индикатора пиранина, загруженного в везикулярный люмен. Генерацию отрицательного трансмембранного электрического потенциала ($\Delta\psi$) внутри везикул регистрировали с помощью $\Delta\psi$ -индикатора, сафранина О. Регистрацию дифференциальной абсорбции АО и сафранина О проводили на двухволновом спектрофотометре «Hitachi 557», а параметров флуоресценции пиранина на спектрофлуориметре «Hitachi 850».

Концентрационный градиент Cl^- на мембране, направленный внутрь везикул, инициировал защелачивание везикулярного люмена. При этом происходила генерация $\Delta\psi$, отрицательного внутри везикул. ΔpCl -зависимое защелачивание люмена зависело от величины ΔpCl и трансмембранного электрического потенциала. Значение $\Delta\psi$ на мембране задавали соответствующим диффузионным потенциалом ионов K^+ в присутствии валиномицина. С увеличением ΔpCl и смещением $\Delta\psi$ в область положительных значений защелачивание усиливалось. ΔpCl -зависимый перенос H^+ через мембрану, сопровождавшийся генерацией отрицательного $\Delta\psi$ при наложении на мембрану концентрационного градиента Cl^- , указывает на наличие в мембране Cl^-/H^+ -антипортера. Вторично-активный трансмембранный перенос Cl^- , по-видимому, нужен для удаления этого иона из цитоплазмы в условиях засоления среды. Кроме того, деполяризация мембраны, сопровождающая функционирование Cl^-/H^+ -антипортера, стимулирует работу H^+ -АТФазы и снижает движущую силу пассивного транспорта Na^+ в цитоплазму.

Работа поддержана грантом РФФИ № 09-04-00-709-а.

РАСЧЕТ СПЕКТРОВ МРН ДЛЯ МОДЕЛЕЙ СУПЕРНУКЛЕОСОМНОЙ СТРУКТУРЫ ХРОМАТИНА

Илатовский А.В.^{1,2}, Лебедев Д.В.¹, Филатов М.В.¹, Григорьев М.³,
Петухов М.Г.^{1,2}, Исаев-Иванов В.В.¹

¹Петербургский институт ядерной физики им. Б.П.Константинова РАН,
Гатчина (Россия)

²Санкт-Петербургский государственный политехнический университет,
Санкт-Петербург (Россия)

³CNRS-Universite Paul-Sabatier, Toulouse (France)

E-mail: andreyi@omrb.pnpi.spb.ru

Известно, что ДНК эукариотических организмов *in vivo* плотно упакована и первым уровнем компактизации являются нуклеосомы. С помощью рентгеноструктурного анализа получены пространственные структуры нуклеосом высокого разрешения. Организация структур хроматина высших порядков является предметом дискуссии. В ОМРБ ПИЯФ получены данные по малоугловому рассеянию нейтронов (МРН) на различных клеточных ядрах.

Для интерпретации спектров МРН в структурных терминах была построена модель супернуклеосомной структуры хроматина. В работе разработаны и программно реализованы: (1) алгоритм построения геометрии супернуклеосомных структур хроматина (до миллиона нуклеосом); (2) алгоритм расчета спектра МРН и функции распределения парных расстояний (ФРПР) методом Монте-Карло для физической модели нуклеосомы на основе полноатомной структуры нуклеосомы. Нуклеосома считается твердым телом. В режиме свободной генерации параметры интерфейса выбираются случайным образом, с запретом самопересечений; режим генерации в объеме накладывает еще одно ограничение, сферическую или кубическую стенку с бесконечным потенциалом. В результате моделирования получается структура, состоящая из копий физической модели нуклеосомы, расположенных в соответствии с координатами геометрической модели.

Для полученных супернуклеосомных структур хроматина были рассчитаны спектры МРН и ФРПР и исследована их зависимость от геометрических параметров. Для ряда моделей рассчитанные спектры МРН находятся в удовлетворительном согласии с экспериментальными данными.

ГЕНЕРАЦИЯ РЕЦЕПТОРНЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ ВЫСШИМИ РАСТЕНИЯМИ НА ПРИМЕРЕ ПРОРОСТКОВ ТЫКВЫ (*CUCURBITA PEPO L.*)

Неруш В.Н.

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

E-mail: panzerblitz@mail.ru

Известно, что потенциалы действия (ПД) растительных организмов могут участвовать в передаче сигналов о внешних воздействиях и таким образом способствовать адаптации растений к изменяющимся условиям среды. Для харовых водорослей и некоторых локомоторных высших растений показана определяющая роль рецепторных потенциалов (РП) в генерации ПД. РП является градуальным и способен вызывать генерацию ПД при достижении некоторой пороговой величины мембранного потенциала.

В настоящее время у нелокомоторных высших растений крайне слабо изучено возникновение РП в ответ на стимулы различной природы и роль РП в индукции ПД, что обуславливает актуальность таких исследований. В естественных условиях растения наиболее часто сталкиваются с такими факторами, как охлаждение и механическое воздействие, поэтому изучение механизмов восприятия данных стимулов представляется особенно актуальным.

Эксперименты проводили на 3-4-недельных проростках тыквы (*Cucurbita pepo L.*), выращенных гидропонным способом. Использовали дозированное холодное и механическое раздражение стебля, электрические реакции регистрировали внеклеточно.

Было показано, что с увеличением интенсивности стимула амплитуда электрических реакций возрастает, однако, при достижении некоторого порога наблюдается генерация электрических ответов по типу ПД, и дальнейшее увеличение интенсивности воздействия не приводит к увеличению амплитуды электрических реакций.

Максимальная амплитуда РП – 31-38 мВ. При дальнейшем увеличении интенсивности стимулов происходит генерация ПД. Средняя амплитуда механо- и холодоиндуцированных РП равна $37,1 \pm 0,59$ мВ и $34,86 \pm 1,37$ мВ, скорость деполяризации $14,81 \pm 0,93$ мВ/с и $7,46 \pm 0,49$ мВ/с, длительность фазы деполяризации $2,57 \pm 0,17$ с и $4,79 \pm 0,36$ с соответственно.

Таким образом, для высших растений на примере проростков тыквы показана способность генерировать РП в ответ на холодовой и механический стимулы, определена величина порога, превышение которой приводит к генерации ПД, проведено измерение и сопоставление параметров РП, индуцированных механическим раздражением и охлаждением.

АНАЛИЗ ИНГИБИТОРНОГО ВЛИЯНИЯ АСПАРАГИНОВОГО ПРОИЗВОДНОГО 1,4-НАФТОХИНОНА НА АКТИВНОСТЬ Na^+ , K^+ -АТФАЗЫ ЗАРОДЫШЕЙ ВЬЮНА

**Генега А.Б., Мандзинец С.М., Бура М.В., Новиков В.П., Маринцова Н.Г.,
Санагурский Д.И.**

Львовский национальный университет им. Ивана Франко, Львов (Украина)

E-mail: anastasiyah2@gmail.com

Исследование влияния новых препаратов на зародышевые объекты является актуальной задачей молекулярной биофизики, а также фармакологии. Препараты на основе производных 1,4-нафтохинона эффективно применяются при лечении расстройств функции головного мозга и обладают высокой антиоксидантной, цитолитической и цитостатической активностями. Зародыши рыб в период раннего эмбриогенеза является адекватной тест-системой для исследования влияния фармакологических факторов на организм. Цель работы заключалась в исследовании влияния калиевой соли 2-аспарагин-3-хлор-1,4-нафтохинону (в диапазоне $10^{-5} \div 10^{-10}$ М) на активность Na^+ , K^+ -АТФазы на разных этапах развития вьюна.

Исследования проведены на зародышах вьюна (*Misgurnus fossilis L.*) в период от оплодотворения до 6 часов развития. Овуляцию стимулировали внутримышечным введением самкам хориогонического гонадотропина (500 ед.). Икру получали через 36 ч после стимуляции и оплодотворяли в чашках Петри суспензией спермиев по Нейфаху.

Определение констант полуингибирования I_{50} в модифицированных координатах Хилла позволило проанализировать чувствительность Na^+ , K^+ -АТФазы к воздействию исследуемого производного в течение синхронных делений бластомеров. Самые высокие значения констант полуингибирования I_{50} , обнаружены на стадии 2 бластомеров для аспарагинового производного. Возможно, это связано со способностью молекул производных 1,4-нафтохинона создавать крепкие комплексы с молекулами других веществ, что усложняет их прохождение сквозь плазматическую мембрану. Следует отметить, что ингибиторное влияние аспарагинового производного зависит от стадии развития зародышей и от концентрации действующего вещества в среде инкубации.

Работа выполнена за поддержки Государственного Фонда Фундаментальных Исследований Украины (Ф.25.5/075).

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЗАРЯЖЕННЫХ МИКРОКАПСУЛ С ФАГОЦИТАМИ

**Кочеткова О.Ю., Юринская М.М., Дубровский А.В., Шабарчина Л.И.,
Винокуров М.Г.**

Институт биофизики клетки РАН; Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино (Россия)

E-mail: *The-kocha@rambler.ru*

В настоящее время сепсис, несмотря на многолетние исследования, остаётся одной из главных причин смертности в отделениях интенсивной терапии (более чем 30% случаев при тяжёлом сепсисе и более 50% при септическом шоке). В основе граммотрицательного сепсиса лежит взаимодействие клеток врожденного иммунитета (нейтрофилов и макрофагов) с липополисахаридами (LPS) - компонентами клеточной стенки граммотрицательных бактерий).

Одним из путей лечения сепсиса может стать адресная доставка лекарственных препаратов в клетки, в частности, с помощью микрокапсул. Это позволит повысить эффективность действия лекарственных препаратов и значительно снизить побочные эффекты от их применения.

Микрокапсулы получали методом послойной адсорбции противоположно заряженных полиэлектролитов (полиалиламина и полистеролсульфоната) на CaCO_3 ядре, с последующим его растворением. Микрокапсулы были мечены флуоресцентным зондом FITC для корректного определения фагоцитоза.

В качестве объекта исследования были использованы человеческие нейтрофилы, которые, как известно, являются первичными эффекторными клетками острого воспаления, а также макрофаги человека (THP-1) и мыши (RAW264.7).

В данной работе было изучено взаимодействие положительно- и отрицательно-заряженных микрокапсул с нейтрофилами и макрофагами.

В результате выполненных экспериментов были подобраны оптимальные условия: получения микрокапсул, времени инкубирования с клетками, соотношения микрокапсулы : клетки (2:1).

Установлено, что исследованные микрокапсулы не оказывали токсического воздействия на клетки в широком диапазоне концентраций. Фагоцитоз макрофагов составлял ~ 40-50% и практически не зависел от заряда микрокапсул.

Эффективность фагоцитоза нейтрофилами увеличивалась в присутствии LPS примерно на $75 \pm 10\%$ (для отрицательно-заряженных микрокапсул) и на $100 \pm 20\%$ (для положительно-заряженных микрокапсул) по сравнению с фагоцитозом контрольных клеток.

Полученные результаты могут быть использованы в качестве модельной системы для дальнейшего изучения и применения микрокапсул, как способа адресной доставки различных веществ и лекарственных препаратов в клетки.

ВЛИЯНИЕ МАЛЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ТРИТЕРПЕНОВОГО ГЛИКОЗИДА КУКУМАРИОЗИДА A2-2 НА ИОННУЮ ПРОВОДИМОСТЬ МЕМБРАНЫ МАКРОФАГОВ

Соколов Р.А., Асташев М. Е., Аминин Д.Л.

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

Институт биофизики клетки РАН, Пущино (Россия)

Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, Владивосток (Россия)

E-mail: *crazy_hedgehog89@mail.ru*

Известно, что гликозид кукумариозид A2-2 из голотурии *Cucumaria japonica* способен перфорировать мембрану эукариотических клеток и токсичен в концентрациях > 1 мкг/мл. На основе данного гликозида созданы иммуностимулирующие препараты. Найден Ca-ответ у макрофагов на аппликацию этого гликозида в токсических и нетоксических концентрациях.

Нами исследовался Ca-ответ перитониальных макрофагов мыши линии balb в ответ на нетоксические концентрации A2-2. Был использован метод точечной фиксации потенциала в конфигурации «whole-cell». Исследовались как свежeweделенные макрофаги, так и первичная культура макрофагов 2х и 3х дневной культивации. Ответственными за искомый Ca-ответ должны быть образованные гликозидом поры а так же потенциалнезависимые рецепторуправляемые Ca^{2+} каналы, предположительно P2X и GTP рецепторы.

Показано наличие ответа у свежeweделенных макрофагов и отсутствии ответа у культивируемых. Подбирается новый протокол культивирования и планируется более плотная работа со свежeweделенными, дающими ответ, клетками.

ВЛИЯНИЕ НЕОРГАНИЧЕСКОГО ПОЛИФОСФАТА НА Ca^{2+} ГОМЕОСТАЗ В КЛЕТКАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Баев А.Ю.¹, Левицкая Ю.В.¹, Абрамов А.Ю.²

¹Национальный университет Узбекистана, Ташкент (Узбекистан)

²UCL, Institute of Neurology

E-mail: *baev89@mail.ru*

Неорганические полифосфаты – полимеры образованные остатками фосфорной кислоты, соединенные между собой макроэргическими фосфоангидридными связями. В организме у млекопитающих полифосфаты преимущественно выполняют регуляторную роль, также выяснилось, что они регулируют активность ферментов в раковых клетках, стимулируют коагуляцию крови, регулируют ионный транспорт в митохондриях и регулируют активность дыхательной цепи.

В целях изучения влияния неорганических полифосфатов на Ca^{2+} гомеостаз, нами был проделан ряд экспериментов на первичных культурах нейронов и астроцитов среднего мозга и коры больших полушарий мозга крыс. В эксперименты использовались полифосфаты со степенью полимеризации 14 и 70. Добавка полифосфата в концентрации 10-50 мкМ вызывала значительное увеличение концентрации Ca^{2+} в цитозоле ($[Ca^{2+}]_i$), вне зависимости от степени полимеризации.

Однако, изменение концентрации Ca^{2+} в цитозоле, в свою очередь, зависело от вида полифосфата, его концентрации, и от вида клеток. Так, в культуре клеток среднего мозга полифосфат (70) вызывал дозозависимое увеличение $[Ca^{2+}]_i$ в астроцитах и отсутствие ответа в нейронах по отношению к $[Ca^{2+}]_i$ в покое. В культуре клеток коры больших полушарий мозга полифосфат (70) вызывал увеличение $[Ca^{2+}]_i$ на 51% в концентрации 20 мкМ в астроцитах и нейронах (что не было отмечено в клетках среднего мозга). Действие полифосфата на уровень цитозольного кальция было независимо от внешнего Ca^{2+} и наблюдалось в безкальциевой среде. Классический ингибитор Ca^{2+} -АТФазы ретикулума - тапсигарагин, полностью подавлял полифосфат стимулированное повышение $[Ca^{2+}]_i$.

Таким образом, полифосфат способен повышать $[Ca^{2+}]_i$ в нейронах и астроцитах за счет выхода Ca^{2+} из эндоплазматического ретикулума.

ЦИТОТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ИОНОВ УРАНИЛА

Гармаш С.А., Гудков С.В.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН; Пушинский
государственный университет, Пушкино (Россия)

E-mail: daradysha@rambler.ru

В настоящее время обедненный уран (ОУ) используется для изготовления бронебойных снарядов, в качестве балласта в судах, самолетах, а также для придания цвета стеклу и керамике. Кроме того, опубликовано несколько работ, в которых показано, что обедненный уран может являться причиной повреждения ДНК, мутагенеза и канцерогенеза, а также болезней неясной этиологии.

Исследовано влияние широкого диапазона концентраций уранил нитрата – 0,01; 0,1; 0,2; 0,5; 1 мкМ на выживаемость клеток her2 – карциномы гортани человека. Через 48 ч после начала воздействия на клетки уранил нитрата культуральная среда заменялась на раствор Хенкса (рН=7,4 при 28°C) с 5 мкг/мл реактива Хест 33372 и 1 мкг/мл пропидиум йодида, инкубировались в течение 20 мин при 37°C, затем дважды отмывались раствором Хенкса, не содержащего красителей.

С помощью флуоресцентной микроскопии для каждой лунки планшета получали 5 отдельных изображений в трех каналах (Хест, пропидиум йодид, проходящий свет) и сохраняли в формате 8-bit zvi. Результаты оценивали путем подсчета процентного содержания клеток, находившихся в состоянии нормы, апоптоза или некроза.

Концентрация уранил нитрата 1 мМ приводит к гибели около 95% клеток. Минимальный цитотоксический эффект зафиксирован при концентрации уранил нитрата 10 мкМ.

Работа поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований 10-04-01265-а.

ВЛИЯНИЕ ЭМИ КВЧ НА СТРУКТУРУ ХРОМАТИНА ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ И ПЕРИТОНЕАЛЬНЫХ НЕЙТРОФИЛОВ МЫШИ ПРИ ВОСПАЛЕНИИ

Романова Н.А., Гапеев А.Б.

Пушинский государственный университет; Учреждение Российской академии наук
Институт биофизики клетки РАН, Пушкино (Россия)

E-mail: nromanova_11@mail.ru

Литературные данные свидетельствуют о том, что электромагнитное излучение крайне высоких частот (ЭМИ КВЧ) способно влиять на состояние хроматина различных клеток, изменять структуру и функции хромосом, клеточную устойчивость к мутагенам и повреждающим воздействиям. Учитывая возможность влияния ЭМИ КВЧ на структуру хроматина клеток, есть основания полагать, что механизмы противовоспалительных эффектов излучения могут быть связаны со структурными изменениями хроматина эффекторных клеток воспаления.

Цель работы заключалась в исследовании реакции хроматина лейкоцитов периферической крови и перитонеальных вызванных нейтрофилов мыши на воздействие низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ на фоне воспалительного процесса. Мышей облучали ЭМИ КВЧ (42.2 ГГц, 100 мкВт/см², 20 мин) через 1 ч после индукции воспаления. Анализ повреждений ДНК в клетках проводили с помощью метода «комета-тест» по процентному содержанию ДНК в «хвосте комет» (%ТДНК).

Обнаружено, что после индукции воспалительного процесса зимозаном наблюдался значительный рост уровня %ТДНК в лейкоцитах крови и перитонеальных вызванных нейтрофилах. Облучение животных низкоинтенсивным ЭМИ КВЧ снижало уровень повреждений ДНК в лейкоцитах крови мышей в среднем на 23,4±7,7% ($p < 0,05$) по сравнению с уровнем у необлученных животных при оценке через 1,5, 2, 3 и 4 ч после индукции воспаления. У облученных животных уровень повреждений ДНК в перитонеальных нейтрофилах оказался ниже на 42,7±13,8% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем.

Полученные результаты позволяют предположить, что под действием ЭМИ КВЧ происходит снижение уровня окислительных повреждений ДНК в клетках за счет уменьшения образования свободных радикалов и/или повышения активности антиоксидантных систем. Это, в свою очередь, свидетельствует о снижении активности клеток воспаления и интенсивности воспалительной реакции под действием излучения.

УГНЕТАЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ ГИПОХЛОРИТА НАТРИЯ НА АКТИВНОСТЬ Na^+ , K^+ -АТФАЗЫ ЗАРОДЫШЕЙ *MISGURNUS FOSSILIS* L.

Зынь А., Головчак Н., Мандзинец С., Бура М., Санагурский Д.

Львовский национальный университет им. Ивана Франко, Львов (Украина)

E-mail: avolina@yandex.ru

Антибактериальные и дезинфицирующие свойства гипохлорита натрия (ГХН) хорошо изучены. Однако механизм влияния ГХН на функциональное состояние органов, систем, клеток и его истинное профилактическое действие остается малоизученным. Адекватной тест-системой для исследования влияния фармакологических препаратов являются зародышевые объекты, в частности зародыши рыб в период раннего эмбриогенеза, что было целью исследования.

Na^+ , K^+ -АТФазе (АТФ-гидролаза, убаинчувствительная Na^+ , K^+ -АТФаза, Na^+ , K^+ -насос, ЕС 3.6.1.37) принадлежит особая роль в обеспечении функциональной активности сократительных и подвижных клеток репродуктивной системы - миоцитов матки и сперматозоидов. Функциональная роль Na^+ , K^+ -АТФазы в генерации потенциалов, а также в раннем эмбриогенезе довольно велика, поэтому изучение влияния на нее ГХН имеет важное теоретическое и прикладное значение для медицинской биофизики.

Установлено влияние ГХН в низких (0,5 и 1 мг/л) и высоких (12,5 мг/л) концентрациях на активность Na^+ , K^+ -АТФазы мембран зародышей вьюна *Misgurnus fossilis* L. в период раннего эмбриогенеза. Показано, что ГХН на всех исследуемых стадиях раннего эмбриогенеза вызывает угнетение активности АТФазы. В частности, высокие концентрации ГХН приводят к значительному снижению активности АТФазы ($72,8 \pm 11,8\%$), в сравнении с влиянием ГХН в низких концентрациях ($17,5 \pm 8,9\%$, $23,5 \pm 9,9\%$).

Вероятно, такие изменения активности Na^+ , K^+ -АТФазы связаны с сильной окислительной способностью ГХН, что приводит к повреждению липидов и белков мембран.

ВЗАИМОВЛИЯНИЕ БЛОКАТОРОВ NMDA РЕЦЕПТОРОВ С РАЗНЫМ МЕХАНИЗМОМ ДЕЙСТВИЯ

Нагаева Э.И., Барыгин О.И., Тихонов Д.Б.

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М.Сеченова РАН,

Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: eline00111@gmail.com

Ионотропные рецепторы глутамата NMDA типа играют ключевую роль в эффектах синаптической пластичности в ЦНС. На данный момент известно множество различных блокаторов NMDA рецепторов. Одним из способов классификации блокаторов открытых каналов является их деление на 2 группы: препятствующие закрытию канала (foot-in-the-door механизм действия) и не препятствующие (trapping механизм). В настоящее время неизвестно, связываются ли блокаторы этих двух типов с одним или с разными сайтами в канале NMDA рецептора.

В данной работе проведён анализ взаимовлияния 9-аминокридина, работающего по механизму «foot-in-the-door», и «trapping» блокатора ИЭМ-1925 при их одновременном связывании. Работа выполнена методом локальной фиксации потенциала на нативных рецепторах пирамидных нейронов гиппокампа крысы. Для анализа взаимовлияния блокаторов были разработаны специальные протоколы, использующие различие в кинетике их действия.

Показано, что при совместной аппликации в равнодействующих концентрациях, 9-аминокридин уменьшает эффект ловушки ИЭМ-1925. В то же время ИЭМ-1925 заметно

уменьшает хвостовой ток (проявление foot-in-the-door механизма) 9-аминоакридина. Полученные данные свидетельствуют, что, несмотря на различия в механизмах действия, оба типа блокаторов связываются в одном и том же сайте канала NMDA рецептора.

КСАНТОЗИН ПРОЯВЛЯЕТ РАДИОЗАЩИТНЫЕ СВОЙСТВА ПРИ ВВЕДЕНИИ ЕГО МЫШАМ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Асадуллина Н.Р., Гудков С.В., Брусков В.И.

Учреждение Российской академии наук Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино (Россия)

E-mail: *micronelly@rambler.ru*

Целью работы было изучение новых радиозащитных веществ обладающих терапевтическим действием среди природных пуриновых соединений.

При внутрибрюшинном введении через 15 мин после воздействия рентгеновского излучения в летальной дозе 7 Гр ксантозин существенно увеличивает выживаемость самцов мышей Kv:SHK. При введении ксантозина в концентрации ~45 мкг/г, оставались живыми в течение 30 дней приблизительно 35% животных при 100% гибели в контроле. При этом ксантозин уменьшал тяжесть радиационной лейко- и тромбопении и восстанавливал эритропоз, увеличивая количество форменных элементов в крови облученных животных. С помощью микроядерного теста исследовано влияние ксантозина на образование микроядер (МЯ) в полихроматофильных эритроцитах (ПХЭ) красного костного мозга мышей. Ксантозин при внутрибрюшинном введении его после воздействия рентгеновского излучения в дозе 1,5 Гр приводит к значительному уменьшению количества ПХЭ с МЯ в костном мозге мышей (на ~35%).

Таким образом, показано, что ксантозин проявляет радиозащитные свойства при введении его облученным животным, увеличивая их выживаемость, снижая тяжесть радиационной лейко- и тромбопении, а так же защищает клетки костного мозга мышей от цитогенетических повреждений вызванных воздействием рентгеновского излучения. Следовательно, ксантозин может быть одним из эффективных терапевтических средств защищающих организм от радиационного повреждения.

Работа поддержана грантами РФФИ (10-04-00949-а; 10-04-00800-а) и Президента РФ для поддержки молодых российских ученых (МК-108.2010.4).

РОЛЬ ДОЛГОЖИВУЩИХ РАДИКАЛОВ БЕЛКА В ПРОДЛЕНИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА IN VIVO ПРИ ДЕЙСТВИИ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Карп О.Э., Гудков С.В., Брусков В.И.

Учреждение Российской академии наук Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино (Россия)

E-mail: *olgakarp1@gmail.com*

Исследована способность долгоживущих радикалов белка (ДЖРБ) и смеси аминокислот (гидролизата казеина), индуцированных рентгеновским излучением, продлевать окислительный стресс и вызывать окислительные повреждения в ДНК *in vivo*. Методом микроядерного теста исследовано влияние облученного крысиного сывороточного альбумина при внутривенном введении его самцам крыс.

Установлено, что введение облученного белка (1 мкг/г) приводит к увеличению количества полихроматофильных эритроцитов (ПХЭ), содержащих микроядра (МЯ) в клетках красного костного мозга, в 2,5 раза по сравнению с контролем. При скормливания в течение суток мышам обезжиренного и обезвоженного творога, облученного в дозе 100 Гр, происходит увеличение числа ПХЭ с МЯ, эквивалентное количеству, образуемому при тотальном облучении животных в дозе близкой к 0,2 Гр. Этот факт свидетельствует о способности ДЖРБ сохранять свой окислительный потенциал и при переваривании пищи. Действительно, при

внутрибрюшинном введении мышам облученного в дозе 100 Гр гидролизата казеина (0,2 мкг/г) происходит увеличение ПХЭ с МЯ в 1,3 раза по сравнению с контролем. При приеме с питьевой водой в течение суток природных антиоксидантов 5 мМ растворов инозина, L-триптофана, L-метионина и витамина С наблюдалось снижение величины цитогенетических повреждений.

Таким образом, установлено, что долгоживущие продукты белков и аминокислот способны приводить к цитогенетическим повреждениям ДНК в клетках красного костного мозга млекопитающих.

Работа поддержана грантами Российского фонда фундаментальных исследований (10-04-00949-а; 10-04-00800-а) и Президента Российской Федерации для поддержки молодых российских ученых (МК-108.2010.4).

ПЕРСПЕКТИВА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА РАДИОБИОЛОГИЧЕСКОГО ХРАНИЛИЩА ТКАНЕЙ

Слукинова Ю.В., Ревина В.С.

ФГУП Южно-Уральский институт биофизики, Озерск (Россия)

E-mail: zakharova@subi.su

Для устранения противоречий при оценке отдаленных последствий действия радиационного фактора с применением современных и развивающихся сверхчувствительных научных технологий исключительно ценным ресурсом обладают унифицированные банки биологического материала организмов, подвергшихся длительному воздействию радиации. С целью сохранения уникального биоматериала работников ядерного предприятия ПО «Маяк», их потомков и других жителей г. Озерска в ФГУП ЮУрИБФ создано радиобиологическое хранилище тканей человека.

В хранилище при оптимальных условиях содержатся образцы различных тканей, полученных при операциях по медицинским показаниям (опухолевые и неопухолевые ткани) или при аутопсии, образцы цельной периферической крови и ее компонентов (клетки, сыворотка, плазма), клеток щечного эпителия и индуцированной мокроты, образцы ДНК периферической крови (всего около 6000 регистрантов).

В процессе производственной деятельности часть работников предприятия подвергалась длительному облучению от источников внешнего γ -излучения и α -излучения депонированного в организме плутония, причем в ряде случаев накопленные дозы облучения от этих источников существенно превышали допустимые для персонала уровни. На каждого регистранта хранилища имеется дозиметрическая, профессиональная и медицинская информация, содержащаяся в нескольких электронных базах данных.

В настоящее время проводится инвентаризация и систематизация обширного архивного биоматериала ЮУрИБФ, состоящего из образцов тканей животных (преимущественно крысы и мыши), подвергавшихся в условиях эксперимента острому или хроническому α -, β - и γ -облучению, а также комбинированному радиационному воздействию (руков. проекта – Любчанский Э.Р.). Архивные образцы представлены препаратами различных тканей в парафине, в виде слайдов (гистологических, гематологических, цитологических) или в формалине, полученными приблизительно от 25000 экспериментальных животных. Для каждого архивного случая имеется документальное сопровождение в виде записей в рабочих журналах и «паспортах» клетки для содержания особей, которые планируется в дальнейшем перевести в электронную форму.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ АЦЕТАМИДА НА СТАТИСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭЭГ КРЫС ПРИ ГИПОТЕРМИИ

Ибрагимова У.Н., Абдурахманов Р.Г., Пашаева З.Г., Мейланов И.С.

Дагестанский государственный университет, Махачкала (Россия)

E-mail: radik72@mail.ru

Температура – один из важнейших факторов, определяющих скорость химических, физических и биологических процессов. От температуры зависит также стабильность биологических структур и, прежде всего, стабильность молекулярных структур.

Температура тела у гомойотермных животных поддерживается терморегуляторными механизмами в узком температурном диапазоне при значительном изменении температуры окружающей среды. Поддержание температуры на высоком уровне позволяет сохранять физиологическую активность вне зависимости от температуры окружающей среды, что в свою очередь обеспечивает селективное преимущество. В экстремальных условиях (гипоксия, отравление, переохлаждение) температура тела гомойотермов может существенно изменяться из-за того, что терморегуляторные механизмы не справляются со своей гомеостатической функцией. Снижение температуры тела гомойотермного животного называется гипотермией. Глубокая гипотермия является экстремальным состоянием и может приводить к поражению нервной ткани при согревании. В связи с этим разрабатываются различные схемы охлаждения и подбираются вещества, снижающие повреждающее действие гипотермии.

Согласно нашим данным, мочевины снижает критическую температуру тела, при которой электроэнцефалограмма (ЭЭГ) становится плоской. В связи с этим нами предпринято исследование влияния структурного аналога мочевины – ацетамида в дозе 1, 3 и 6 мМ/100г живого веса.

В качестве объекта исследования были взяты белые беспородные крысы (самцы). Ацетамид вводили внутривенно. Для снижения температуры тела животное укладывали на сухой пакет с колотым льдом (ледяную подушку). Анализ ЭЭГ производили с помощью пакета «STATISTICA». Вычисляли функции автокорреляции и спектральной плотности.

Все опыты проведены температуры тела крыс под тиопенталовым наркозом 40 мг/кг живого веса. В контроле ЭЭГ становится плоской при ректальной температуре 19-20⁰С. Введение ацетамида снижает критическую температуру в среднем до 14⁰С. Наибольший эффект наблюдался при дозе 3мМ/100г живого веса. Частотная зависимость спектральной плотности (СП) ЭЭГ закономерно изменяется по мере снижения температуры тела (t_r). При $t_r = 33-32^{\circ}\text{C}$ на частотном спектре СП появляется изолированная полоса в области 7-8 Гц. По мере понижения t_r положение этой полосы смещается в сторону низких частот. Согревание животных после глубокой гипотермии приводит к обратным изменениям. Однако имеет место гистерезис, так как восстанавливается ЭЭГ при значительно более высоких температурах тела.

Таким образом, замена аминогруппы в молекуле мочевины на метильную группу не привела к потере протекторных свойств. Одним из звеньев протекторного действия мочевины может быть улучшение осморегуляции в клетках мозга.

АНАЛИЗ СПЕКТРАЛЬНОЙ ПЛОТНОСТИ ЭЭГ КРЫС ПРИ ГИПОТЕРМИИ

Джамалудинова К.Д., Рабаданова З.Г., Абдурахманов Р.Г., Мейланов И.С.

Дагестанский государственный университет, Махачкала (Россия)

E-mail: radik72@mail.ru

Умеренная гипотермия (35-33⁰С) оказывает нейропротективное действие при гипоксических и ишемических состояниях мозга и используется в хирургии при операциях на сердце и мозге. Гипотермия снижает электрическую активность мозга, потребление кислорода тканью мозга. Снижение электрической активности мозга при гипотермических состояниях, возможно, является ключевым фактором её защитного действия при ишемических состояниях. Однако механизм подавления электрической активности мозга при снижении температуры тела не выяснен.

В связи с этим нами предпринято исследование спектральной плотности электроэнцефалограммы (ЭЭГ) крыс при общем охлаждении организма. Регистрация ЭЭГ осуществлялась макроэлектродами, имплантированными в соматосенсорную кору. Опыты проведены под тиопенталовым наркозом. Животных охлаждали постепенно до полного подавления электрической активности. ЭЭГ регистрировали каждые 2⁰С. Температуру тела регистрировали ректально. Уже при умеренной гипотермии (35-33⁰С) в спектре мощности начинает доминировать тета-ритм. По мере дальнейшего снижения температуры тела частота тета-ритма закономерно снижается. При температуре 20-18⁰С ЭЭГ становится плоской.

Предполагается, что уже при умеренной гипотермии (35-33°C) в коре мозга крыс происходит арест ионных каналов корковых нейронов, что приводит к синхронизации электрической активности коры и уменьшению потребности мозга в энергии при гипотермических состояниях.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ LA³⁺ И ZN²⁺ С ЭРИТРОЦИТАМИ ЧЕЛОВЕКА

Поповичева А.Н., Левин Г.Я., Шереметьев Ю.А.

Нижегородский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии,
Нижний Новгород (Россия)

E-mail: ya.sher@rambler.ru

Фотометрическим методом показано, что La³⁺ и Zn²⁺ индуцируют агрегацию отмытых эритроцитов (0.5% суспензия клеток в 10 mM трис-HCl, 146 mM NaCl, pH 7.4) человека. Агрегация эритроцитов начинается при концентрации лантана, равной 40 мкМ, в то время как цинк стимулирует агрегацию клеток при концентрации, равной 1250 мкМ. При концентрациях металлов, индуцирующих агрегацию эритроцитов, происходит трансформация их формы: эритроциты из дискоцитов превращаются в стоматоциты.

Показано, что агрегация отмытых эритроцитов, хранящихся при 4°C в течение 24 и 48 ч, индуцированная ионами лантана и цинка, существенно отличается от агрегации интактных клеток. Изменяется и агрегационная способность эритроцитов, инкубированных при 37°C в течение 24 и 48 ч в безглюкозной среде. Установлено, что ионы лантана не вызывают полного слияния (объединения содержимого) интактных клеток. Эритроциты, хранящиеся при 4°C, уже через 24 ч хранения, начинают сливаться. Сливаются через 24 ч и инкубированные при 37°C эритроциты. Показано, что в процессе слияния эритроцитов происходит изменение белкового состава цитоскелета клеток. Исчезает белок полосы 2.1 (анкирин) и значительно увеличивается белок полосы 2.3. Анализ характера распределения внутримембранных частиц с помощью метода замораживания - скальвания показал, что в процессе слияния эритроцитов происходит их агрегация. Выяснено, что Zn²⁺ не индуцирует слияние эритроцитов.

Разработан метод выделения (осаждения) мембран эритроцитов с помощью лантана после их гемолиза в буфере с низкой ионной силой. Zn²⁺ не обладает способностью осаждать мембраны эритроциты в присутствии гемоглобина. В тоже время La³⁺ и Zn²⁺ выделяют микровезикулы эритроцитов, образующиеся через 24 и 48 ч после инкубации клеток при 37°C в безглюкозной среде.

ИЗУЧЕНИЕ РЕЛАКСАНТНОГО ДЕЙСТВИЯ 1-О-БЕНЗОИЛНАПЕЛЛИНА НА СОКРАТИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК ТРАХЕИ КРЫС

Бегдуллаева Г.С., Усманов П.Б., Султанходжаев М.Н.

Институт физиологии и биофизики АН РУз, Ташкент (Узбекистан)

E-mail: gulnazbegdullaeva@mail.ru

Целью данной работы явилось изучение влияния 1-О-бензоилнапеллина, производного алкалоида напеллина, выделенного из растения *Aconitum karakolicum* на сократительную активность гладкомышечных клеток (ГМК) трахеи крысы.

Исследования проводились на изолированных препаратах трахеи крысы, сократительную активность трахеи оценивали в изометрическом режиме при помощи датчика натяжения Grass FT.03. (США). Перфузию препарата осуществляли физиологическим раствором Кребса и оксигенируемого карбогеном (O₂-95%, CO₂-5%) при 37±0,5°C.

Предварительные исследования показали, что 1-О-бензоилнапеллин, дозозависимо (100-200 мкМ) расслабляет препараты трахеи, предварительно сокращенные ацетилхолином (10 мкМ). Так, при концентрации 100 мкМ 1-О-бензоилнапеллин вызывал расслабление препарата трахеи на 27,8±3,8%, а при концентрации 200 мкМ на 83,5±2,6%. Более того, исключение из среды инкубации ионов Ca²⁺ приводило к заметному, но не полному подавлению релаксации, вызываемой 1-О-бензоилнапеллином. Релаксантное действие 1-О-бензоилнапеллина может

быть обусловлено его взаимодействием с рецептор-управляемыми Ca^{2+} каналами плазматических мембран ГМК.

Вместе с тем, релаксантное действие 1-О-бензоилнапеллина заметно подавлялось в присутствии специфического блокатора $\text{K}_{\text{ATФ}}$ -каналов глибенкламида. В частности, если в контроле без глибенкламида, 1-О-бензоилнапеллин вызывал расслабление препаратов, предварительно сокращенные ацетилхолином на $83,5 \pm 2,6\%$, то в присутствии глибенкламида

(10 мкМ) он вызывал расслабление только на $29,07 \pm 3,6\%$. Результаты этих экспериментов свидетельствуют о том, что релаксантное действие 1-О-бензоилнапеллина может быть обусловлено также его взаимодействием с АТФ-чувствительными калиевыми каналами плазматических мембран гладкомышечных клеток трахеи.

ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕПЛОВОЙ ДЕНАТУРАЦИИ АЦЕТИХОЛИНЭСТЕРАЗЫ СИНАПТИЧЕСКИХ МЕМБРАН МОЗГА СУСЛИКОВ ПРИ ЗИМНЕЙ СПЯЧКЕ

Джафарова А.М., Мейланов И.С., Кличханов Н.К., Тикра М.Х.
Дагестанский государственный университет, Махачкала (Россия)

E-mail: albina19764@mail.ru

Ацетилхолинэстераза (АХЭ) – синаптический фермент, регулирующий временной профиль концентрации ацетилхолина (АХ) в синаптической щели. Ранее нами было показано, что активность АХЭ синаптических мембран мозга сусликов увеличивается при гипотермии и зимней спячке. Однако молекулярные механизмы этих изменений неизвестны. Термостабильность белка – важная характеристика, чувствительная к изменениям структуры белка и его окружения. В настоящей работе нами предпринято исследование тепловой денатурации АХЭ синаптических мембран мозга малого суслика *Spermophilus pigmaeus* при зимней спячке.

Активность фермента увеличивается во время баута глубокой спячки по сравнению с летним контролем, и уменьшается во время межбаутного бодрствования. Кинетика тепловой денатурации фермента при 48°C имеет две экспоненциальные стадии с константами скорости денатурации в контроле $k_1=0,52 \text{ мин}^{-1}$ и $k_2=0,044 \text{ мин}^{-1}$. Во время баута глубокой спячки и межбаутного пробуждения доля быстрой стадии в кинетике денатурации увеличивается, а константы скорости денатурации для обеих стадий уменьшаются по сравнению с летним контролем примерно в три раза. Изменения термостабильности и каталитической активности АХЭ в динамике спячки не коррелируют. Снижение активности АХЭ соответствует повышению физиологической активности мозга, а повышение активности – состоянию покоя.

Механизм увеличения термостабильности АХЭ при зимней спячке неизвестен. Предполагается, что одним из механизмов изменения термостабильности АХЭ может быть фосфорилирование якорного белка АХЭ.

МЕХАНИЗМЫ САМОРАЗРУШЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ВИХРЕЙ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ С ПРЯМОЙ И L-ОБРАЗНОЙ НИТЯМИ В МИОКРДЕ

Жалимов В.К., Темнов А.А., Кукушкин Н.И.

Учреждение Российской академии наук Институт биофизики клетки РАН,
Пушино (Россия)

E-mail: student-iam@rambler.ru

Объект - стенка правого желудочка сердца суслика. Самопрекращающиеся приступы полиморфной тахисистолии (СПИТ) вызывались внеочередным электрическим стимулом. Регистрация пространственно-временного распределения поверхностного потенциала (ПВРПП) осуществлялась многоэлектродными матрицами. Одной матрицей регистрировалось ПВРПП эндокардиальной, другой - эпикардиальной поверхности препарата. По данным регистрации строились изохронные карты, позволяющие выявить пространственно-временную последовательность охвата поверхностей возбуждением (ПВРПОПВ), а также вычислялись псевдоЭКГ, соответствующие этой ПВРПОПВ. Анализируя карты, устанавливались основные

отличительные признаки трехмерной структуры - форма и местоположение нити вихря, а также их динамика по ходу СППТ.

Выполнен анализ псевдоЭКГ 27 случаев. Установлено, что характерной чертой псевдоЭКГ при СППТ было снижение средней частоты колебаний по мере развития приступа. Было установлено также, что:

- чем ниже средняя частота колебаний, тем менее полиморфная псевдоЭКГ;
- чем полиморфнее псевдоЭКГ начала СППТ, тем более быстро урежались ее колебания;
- при сильно полиморфных псевдоЭКГ (СППЭ) в начале СППТ, на фоне в целом урежения колебаний, наблюдался феномен биения частоты (ФБЧ) – попеременное снижение и увеличение ее;
- СППТ с СППЭ и выраженным ФБЧ, прекращались достаточно быстро.

Был выполнен анализ динамики ПВРПП СППТ (18 случаев). В 5 были выявлены характерные признаки существования вихрей с L-образной нитью, в одном – существование системы засинхронизированных друг с другом двух вихрей с прямыми филаментами. В указанных случаях полученные от оборота к обороту ПВРПОПВ указывали на то, что самоликвидация вихрей происходила вследствие невозможности поддержания частоты вращения вихря всей толщиной миокарда. Невозможность вращения реально продемонстрирована в эпикардиальном слое, в то время как в эндокардиальном вращение оставалось какое-то время еще возможным. В результате нить вихря сильно скручивалась и разрывалась, вихрь разрушался.

Работа поддержана грантом РФФИ 10-04-01075-а.

АКТИН-СВЯЗЫВАЮЩИЙ БЕЛОК КОРТАКТИН РЕГУЛИРУЕТ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫЕ НАТРИЕВЫЕ КАНАЛЫ ПРИ УЧАСТИИ КОМПЛЕКСА ARP2/3

Илатовская Д.В., Павлов Т.С., Левченко В.В., Негуляев Ю.А. и Старущенко А.В.

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург (Россия)

Медицинский колледж Висконсина, США

E-mail: *daria.ilatowska@gmail.com*

Известно, что активность многих ионных каналов зависит от состояния актинового цитоскелета в клетке. Данная работа посвящена аспектам актин-зависимой регуляции эпителиального натриевого канала (ENaC).

Проведенные электрофизиологические эксперименты впервые показали, что совместная экспрессия кортактина и ENaC приводит к значительному снижению активности последнего. Наше исследование выявило, что актин-связывающий белок кортактин экспрессируется в тканях и клеточных линиях, в которых наблюдается также высокий уровень экспрессии ENaC. Методом иммуноблоттинга была показана экспрессия кортактина в кортексе почки мыши и иммортализованных клетках собирательных трубочек почки мыши *mpkCCD_{c14}*; иммуногистохимическим окрашиванием продемонстрирована локализация кортактина в эпителии собирательных трубочек почки.

На основе анализа активности одиночных каналов и экспериментов по мечению белков плазматической мембраны сделан вывод о том, что механизм действия кортактина на ENaC заключается во влиянии на вероятность открытого состояния канала. Для полученной нами клеточной линии *mpkCCD_{c14}* со сниженной экспрессией кортактина мы показали повышение активности ENaC и увеличение реабсорбции натрия по сравнению с контрольными клетками. Результаты коиммунопреципитационных экспериментов, проведенных в нативных и культивируемых клетках, позволили заключить, что между субъединицами ENaC и кортактином существует взаимодействие.

Для того чтобы определить белки, вовлеченные во взаимодействие ENaC и кортактина, были исследованы различные мутантные формы последнего. Было выяснено, что из изученных мутантов кортактина только неспособный связываться с комплексом Arp2/3 не снижает активность ENaC. Более того, ингибитор комплекса Arp2/3 СК-0944666 предотвращает действие кортактина на ENaC. В результате деполимеризации актиновых филаментов и ингибирования комплекса Arp2/3 не происходит потери ассоциации между ENaC и

кортактином. Полученные результаты впервые показали, что ENaC регулируется кортактином, и в это функциональное взаимодействие вовлечен комплекс Agr2/3.

Работа поддержана грантом РФФИ 10-04-00995-а.

ДЕПОЛИМЕРИЗАТОР МИКРОТРУБОЧЕК НОКОДАЗОЛ МОДУЛИРУЕТ ЭФФЕКТ ГЛУТОКСИМА НА ТРАНСПОРТ Na⁺ В КОЖЕ ЛЯГУШКИ

Мельницкая А.В., Крутецкая З.И., Лебедев О.Е., Крутецкая Н.И., Бутов С.Н., Антонов В.Г.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: avm242@hotmail.ru

Кожа амфибий и другие изолированные эпителиальные системы являются классическими модельными объектами для исследования механизмов транспорта ионов через биологические мембраны. Ранее нами было показано, что транспорт Na⁺ в коже лягушки модулируется различными окисляющими агентами, такими как цистамин, цистин, окисленный глутатион (GSSG) и его синтетический аналог препарат глутоксим® (ФАРМА-ВАМ, Москва). Впервые обнаружено, что GSSG и глутоксим, приложенные к базолатеральной поверхности кожи лягушки, имитируют действие инсулина и стимулируют трансэпителиальный транспорт Na⁺. Показано, что в стимулирующем действии GSSG и глутоксима на транспорт Na⁺ в коже лягушки принимают участие тирозинкиназы и фосфатидилинозитолкиназы. В то же время, механизмы действия GSSG и глутоксима на транспорт Na⁺ остаются неясными.

Ранее нами было обнаружено также, что влияние GSSG и глутоксима на транспорт Na⁺ в коже лягушки зависит от структурно-функциональной организации актинового цитоскелета. В связи с этим, представлялось целесообразным исследовать роль микротрубочек в регуляции глутоксимом транспорта Na⁺ в коже лягушки *Rana temporaria* с использованием эффективного деполимеризатора микротрубочек нокодазола.

Для регистрации вольт-амперных характеристик кожи лягушки использовали автоматизированную установку фиксации потенциала. В интервалах между измерениями вольт-амперных характеристик трансэпителиальный потенциал (V_T) кожи поддерживали при 0 мВ (режим короткого замыкания) или при потенциале открытой цепи V_{OC} ($V_{OC} = V_T$ при трансэпителиальном токе $I_T = 0$). Из вольт-амперных характеристик определяли электрические параметры кожи: ток короткого замыкания I_{SC} ($I_{SC} = I_T$ при $V_T = 0$), V_{OC} и трансэпителиальную проводимость g_T . Транспорт Na⁺ оценивали как амилорид-чувствительный I_{SC} . Статистический анализ проводили с применением t-критерия Стьюдента. Данные представлены в виде $x \pm s_x$.

Показано, что приложение к базолатеральной поверхности интактной кожи 100 мкг/мл глутоксима стимулирует транспорт Na⁺. В среднем (по результатам 10 экспериментов), I_{SC} возрастает на $31,24 \pm 8,32\%$, а V_{OC} возрастает на $38,04 \pm 5,15\%$. Величина g_T не меняется. После приложения 100 мкг/мл глутоксима к базолатеральной поверхности кожи лягушки, предварительно (в течение 30 мин) обработанной (со стороны апикальной поверхности) 25 мкМ нокодазола, I_{SC} увеличился на $9,01 \pm 1,02\%$, а V_{OC} на $10,12 \pm 1,21\%$. Изменения величины g_T также не наблюдали.

Полученные данные свидетельствуют о том, что нокодазол подавляет стимулирующий эффект глутоксима на транспорт Na⁺. Таким образом, нами впервые показана важная роль тубулинового цитоскелета в регуляции глутоксимом транспорта Na⁺ в коже лягушки.

ИССЛЕДОВАНИЕ СОКРАТИТЕЛЬНЫХ ОТВЕТОВ ГМК ПРЕПАРАТОВ АОРТЫ КРЫСЫ ПРИ НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ

Насиров К.Э., Есимбетов А.Т., Маматова З.А., Усманов П.Б.

Институт физиологии и биофизики АН РУз, Ташкент (Узбекистан)

E-mail: K_nasirov@front.ru

В норме при использовании индукторов сокращения путем введения в гиперкалиевый (40 мМ) раствор и норадреналина (1 мкМ) наблюдается деполяризация гладкомышечных клеток (ГМК) и рост мышечного напряжения.

При этом показано, что в отличие от КСI-индуцированных сокращений, при отсутствии внеклеточного кальция норадреналин стимулирует временные сокращения, которые быстро возвращаются к базальному уровню. Более того, норадреналин также вызывает сокращение статической амплитудой, в присутствии нифедипина. Это указывает на то, что норадреналин-индуцированное сокращение не связано с активацией потенциал-зависимых Ca^{2+} -каналов.

Эти результаты свидетельствуют о том, что норадреналин-индуцированное сокращение вызваны образованием вторичных мессенджеров, которые связываются с рецепторами на саркоплазматическом ретикулуме и способствуют выходу Ca^{2+} из внутриклеточных источников. В присутствии внеклеточного Ca^{2+} норадреналин вызывает быстро развивающееся устойчивое сокращение, которое зависит от входа Ca^{2+} через потенциал-зависимые и рецептор-оперируемые Ca^{2+} -каналы.

Исследование сократительной активности ГМК аорты крыс при экспериментально внутримозговой кровоизлиянии (ЭВМК) показало, что использование индукторов сокращения путем введения КСI (40 мМ) и норадреналина (1 мкМ) в присутствии ионов кальция, наблюдается снижение деполяризации ГМК и рост мышечного напряжения. При этом введение КСI вызывает слабое сокращение с малой амплитудой. Такая же ослабленная деполяризация ГМК аорты наблюдается при индуцировании норадреналином, но значительно выше, чем вызванная КСI.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что вазоспазм ГМК аорты при ЭВМК связано с нарушением функций кальциевых каналов L-типа и рецептор-управляемых Ca^{2+} -каналов.

Увеличение содержания внутриклеточного кальция ГМК приводит к активизации сократительной активности и повышению базального тонуса, вызывая сужение стенок кровеносных сосудов. Это происходит за счет сдвига, так называемого средства сократительных белков гладкомышечной клетки к ионам кальция.

ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ ЛЕБЕТАЗЫ НА СОКРАТИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ГМК АОРТЫ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ

Насиров К.Э., Есимбетов А.Т., Маматова З.А., Усманов П.Б.

Институт физиологии и биофизики АН РУз, Ташкент (Узбекистан)

E-mail: K_nasirov@front.ru

В нормальных условиях лебетаза (компонент выделенный из яда гюрзы *Vipera lebetina*) в широком диапазоне концентраций (10-100 мкг/мл) не влияет на мембранный потенциал и сократительную активность ГМК аорты крысы. Однако лебетаза вызывает расслабление препаратов аорты, предварительно норадреналин (1 мкМ) и КСI-индуцированной (40 мМ) контрактуры. В концентрации 10 мкг/мл, лебетаза на фоне гиперкалиевого раствора медленно расслабляет сократительную активность препарата аорты на 55-60%. При этом она приводит к угнетению как фазного, так и тонического компонентов сократительного ответа. Дальнейшее увеличение концентраций лебетазы (до 100 мкг/мл) не приводит к полному расслаблению сократительной активности препарата аорты.

При исследовании действия лебетазы на сокращения аорты, вызванные норадреналином показано, что лебетаза дозозависимо (10-100 мкг/мл) угнетает как фазные, так и тонические компоненты сократительных ответов аорты. В концентрации 100 мкг/мл вызывает максимальное расслабление препарата аорты на $96,5 \pm 1,4\%$.

Известно, что тонические компоненты норадреналин-индуцированного ответа зависят от входа внеклеточного Ca^{2+} через рецептор-управляемые Ca^{2+} -каналы.

Способность лебетазы ингибировать тонический компонент сократительного ответа позволяет предположить, что её эффект может быть обусловлен нарушением входа внеклеточного Ca^{2+} через рецептор-управляемые Ca^{2+} -каналы. Вместе с тем, ингибирование фазного компонента норадреналин-индуцированного сократительного ответа, может объясняться влиянием лебетазы на выход Ca^{2+} из внутриклеточных Ca^{2+} депо.

При исследовании действия лебетазы на сократительную активность препаратов аорты крысы при вазоспазме ГМК аорты, при экспериментально внутримозговой кровоизлиянии

наблюдалось незначительное снижение деполяризации ГМК и рост мышечного напряжения при использовании норадреналина в качестве индукторов сокращения.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что релаксантное действие лебетазы на аорту крысы в норме и патологии, возможно связано взаимодействием, как с сократительными белками гладкомышечной клетки, так и свободного цитозольного Ca^{2+} .

ПРЕПАРАТ МОЛИКСАН ВЫЗЫВАЕТ РЕОРГАНИЗАЦИЮ АКТИНОВЫХ ФИЛАМЕНТОВ В МАКРОФАГАХ

Курилова Л.С., Крутецкая З.И., Лебедев О.Е., Крутецкая Н.И., Войцехович К.О.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: *cozzy@mail.ru*

Препарат моликсан (комплекс динатриевой соли окисленного глутатиона с платиной в наноконцентрации и нуклеозида инозина) используется в терапии широкого спектра заболеваний как иммуностимулятор и гемостимулятор. Однако механизмы его клеточного и молекулярного действия далеки от полного понимания.

Ранее нами показано, что моликсан вызывает двухфазное увеличение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} , $[Ca^{2+}]_i$, отражающее мобилизацию Ca^{2+} из тапсигаргин-чувствительных Ca^{2+} -депо и последующий вход Ca^{2+} в перитонеальные макрофаги крысы.

С использованием флуоресцентного Ca^{2+} -зонда Fura-2AM показано, что предварительная инкубация клеток со 100 нМ стабилизатора микрофиламентов каликулина А в течение 2 мин до введения 100 мкг/мл моликсана вызывает полное подавление обеих фаз Ca^{2+} -ответа, индуцированного моликсаном в перитонеальных макрофагах крысы. Полученные данные свидетельствуют об участии актинового цитоскелета в сигнальном каскаде, вызываемом моликсаном в макрофагах, приводящем к увеличению $[Ca^{2+}]_i$ и предполагающем, по-видимому, реорганизацию и перераспределение цитоскелета. В связи с этим, представлялось целесообразным провести визуализацию возможной реорганизации актинового цитоскелета в макрофагах при действии моликсана. На вторые сутки культивирования макрофаги инкубировали в течение 20 мин с 200 мкг/мл моликсана. Для визуализации актинового цитоскелета клетки окрашивали родамин-фаллоидином и проводили микроскопирование полученных препаратов на инвертированном микроскопе AxioObserver.Z1 (Carl Zeiss). Изображения получены с применением устройства ApoTome.

Показано, что в контрольной группе клеток элементы актинового цитоскелета локализованы преимущественно под плазмалеммой и образуют четко различимый кортикальный слой. В макрофагах, обработанных моликсаном, организация актинового цитоскелета претерпевает значительные изменения: кортикальный слой становится более широким и «рыхлым», и, кроме того, увеличивается количество актиновых филаментов в цитозоле. Таким образом, нами впервые показано, что препарат моликсан вызывает реорганизацию актинового цитоскелета в перитонеальных макрофагах крысы.

УЧАСТИЕ ТИРОЗИНКИНАЗ В ДЕЙСТВИИ ПРЕПАРАТА МОЛИКСАН НА ВНУТРИКЛЕТОЧНУЮ КОНЦЕНТРАЦИЮ Ca^{2+} В МАКРОФАГАХ

Курилова Л.С., Крутецкая З.И., Лебедев О.Е., Крутецкая Н.И., Наумова А.А.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: *cozzy@mail.ru*

Лекарственный препарат моликсан (динатриевая соль окисленного глутатиона, GSSG, с платиной в наноконцентрации в комплексе с нуклеозидом инозином) применяется как иммуномодулятор и гемостимулятор в комплексной терапии бактериальных и вирусных заболеваний, псориаза, лучевой и химиотерапии в онкологии. Тем не менее, механизмы его клеточного и молекулярного действия далеки от полного понимания.

Ранее нами показано, что GSSG, а также препараты глутоксим (динатриевая соль GSSG с платиной в наноконцентрации) и моликсан вызывают двухфазное увеличение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} , $[Ca^{2+}]_i$, отражающее мобилизацию Ca^{2+} из тапсигаргин-чувствительных

Ca^{2+} -депо и последующий вход Ca^{2+} в перитонеальные макрофаги крысы. Кроме того, выявлено участие тирозинкиназ в действии глутоксима на $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в макрофагах. В связи с этим представлялось целесообразным исследовать также возможное участие тирозинкиназ в действии моликсана на $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в макрофагах.

С использованием флуоресцентного Ca^{2+} -зонда Fura-2AM исследовано влияние ингибитора тирозинкиназ генистейна на Ca^{2+} -ответы, индуцированные в перитонеальных макрофагах крысы препаратом моликсан. Показано, что предварительная инкубация макрофагов с 100 мкМ генистейна в течение 5 мин до введения 100 мкг/мл моликсана вызывает практически полное подавление обеих фаз Ca^{2+} -ответа, индуцированного моликсаном, что свидетельствует об участии тирозинкиназ в действии моликсана на $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в макрофагах. Кроме того, введение 100 мкМ генистейна на фоне развившегося входа Ca^{2+} , индуцированного моликсаном, вызывает быстрое подавление входа Ca^{2+} и возвращение $[\text{Ca}^{2+}]_i$ к базальному уровню. Полученные результаты позволяют предположить, что моликсан вызывает трансактивацию рецепторов с собственной тирозинкиназной активностью и запускает сигнальный каскад, приводящий к увеличению $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в макрофагах.

ТЕРМОМЕТРИЯ ПОВЕРХНОСТИ ТЕЛА ЧЕЛОВЕКА

Тарасова А.В.

Северный государственный медицинский университет, Архангельск (Россия)

Главной особенностью теплокровных животных является способность к изотермии: поддержанию постоянной температуры «ядра» тела при различных колебаниях температуры среды. «Оболочка» тела в обычных температурных условиях – это слой тканей от поверхности тела до глубины около 2 см.

Температура оболочки изменяется в зависимости от температуры окружающей среды. Для оболочки тела характерен вертикальный градиент температуры (лоб – стопы), который в норме составляет 6 – 8 К. Горизонтальный градиент (температурная асимметрия кожи конечностей) не превышает 0,6 К. Средневременная температура кожи около 33°C. Проксимально-дистальный градиент для кожи рук (от плеча до кисти) составляет 3,5 – 3,8 К, для ног 4,9 – 5,7 К.

Температура «ядра» тела имеет узкие пределы колебаний температуры (например, в прямой кишке $37,3 \pm 0,5^\circ\text{C}$). Диапазон температуры «ядра», при котором сохраняется жизнеспособность равен 20 – 42°C. При температуре около 30°C происходит потеря сознания, при 20 – 25°C происходит остановка сердца и дыхания. При 42°C происходит тепловой удар, обусловленный возрастанием вероятности разрушения межмолекулярных связей в белках.

Температура тела зависит от внешних и внутренних факторов. Во времени суток: минимальная температура с 2 до 6 часов, максимальная между 16 и 18 часами. Эмоциональное возбуждение может вызвать повышение температуры на 2°C. При интенсивной мышечной работе происходит повышение температуры до 40°C.

Измеряя температуру тела человека можно оценить его функционально-эмоциональное состояние. Основными методиками измерения температуры тела человека являются: термометрия, электрометрия, тепловиденье. В домашних условиях можно убедиться в вышеизложенных закономерностях распределения температуры тела человека, используя электронный термометр.

ВЛИЯНИЕ ИМПУЛЬСНО-ПЕРИОДИЧЕСКИХ РЕНТГЕНОВСКОГО И МИКРОВОЛНОВОГО ИЗЛУЧЕНИЙ НА СОСТОЯНИЕ МИТОХОНДРИЙ

Жаркова Л.П., Керя А.В.

Томский государственный университет, Томск (Россия)

E-mail: Zharkova_lubov@mail.ru

В результате исследования механизмов биологического действия импульсно-периодических рентгеновского (ИПРИ) и микроволнового (ИПМИ) излучений установлено,

что однократное воздействие изменяет содержание пероксида водорода в митохондриях из гепатоцитов мышей. Было предположено, что в этих условиях возможна инициация перекисного окисления липидов мембран, сопровождающаяся нарушением их проницаемости. Это может быть причиной изменения ионных потоков через мембраны и сопровождаться изменением тока воды в матрикс или из матрикса с соответствующим изменением объема митохондрий. Последнее регистрируется по оптической плотности суспензии митохондрий. Целью настоящей работы было измерение оптической плотности облученных ИПРИ и ИПМИ митохондрий *in vitro*, как индикатора изменения их функционального состояния.

Митохондрии гепатоцитов мышей выделялись методом дифференциального центрифугирования по Джонсону и Лэрди (1969), затем помещались в среду, содержащую сахарозу 250 мМ, $MgCl_2$ 2,5 мМ, сукцинат калия 5мМ, KH_2PO_4/ K_2HPO_4 5 мМ. Суспензия митохондрий облучалась 4000 импульсов ИПМИ (10ГГц, пППМ 70-1500 Вт/см²) или ИПРИ (90-120 кэВ, 12-80 мГр) с частотами повторения 10-22 имп./с. Через 5 минут после воздействия измерялась оптическая плотность облученных и ложнооблученных образцов на длине волны 540 нм. После однократного воздействия оптическая плотность суспензии митохондрий меняется, эффект зависит от частоты повторения импульсов, интенсивности и дозы воздействия, природы воздействующего фактора, а так же от присутствия ионов кальция в среде инкубации. Это подтверждает ранее полученные данные о влиянии этих излучений на гепатоциты, в реализации чего важную роль играют митохондрии. Действие ИПМИ и ИПРИ на митохондрии может отразиться на продукции АТФ, а следственно, на функционировании клеток и тканей.

Работа поддержана проектом АВЦП № 2.1.1/13778.

ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО КАЛЬЦИЯ В ТРОМБОЦИТАХ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ

Наджимова Х.К., Чернова Л.А., Насиров К.Э., Усманов П.Б.

Институт физиологии и биофизики АН РУз, Ташкент (Узбекистан)

E-mail: larisa_chern@mail.ru

С целью изучения роли ионов кальция в обеспечении функциональной активности тромбоцитов исследовано изменение уровня $[Ca^{2+}]_i$ с помощью флуоресцентных зондов ХТЦ и Fura-2АМ в тромбоцитах в норме и при патологии. В экспериментах были использованы тромбоциты, выделенные из плазмы крови здоровых доноров и больных с ишемическими и геморрагическими осложнениями. С помощью флуоресцентного зонда ХТЦ обнаружено, что наблюдается увеличение интенсивности флуоресценции в тромбоцитах у больных с ишемическими осложнениями и снижение интенсивности флуоресценции ХТЦ в тромбоцитах при геморрагических осложнениях по сравнению с нормой. Если учесть, что ХТЦ преимущественно взаимодействует с Ca^{2+} , связанным с мембранными структурами, наблюдаемое увеличение интенсивности флуоресценции ХТЦ свидетельствует о росте уровня Ca^{2+} , связанного с мембранными структурами при ишемических, в то время как при геморрагических болезнях наблюдается снижение уровня мембраносвязанного кальция.

Для изучения изменения уровня цитозольного Ca^{2+} при патологии, в качестве флуоресцентного зонда использовали Fura-2АМ, позволяющий регистрировать изменения концентрации свободного кальция в различных клетках. В этих экспериментах обнаружено увеличение концентрации внутриклеточного свободного кальция в тромбоцитах больных ишемическими и геморрагическими осложнениями по сравнению с нормой.

Полученные результаты показывают, что в тромбоцитах больных с ишемическими и геморрагическими осложнениями значительно иммобилизуется Ca^{2+} на мембранных и цитозольных структурах, по-видимому, за счет свободных ионов Ca^{2+} и ионов Ca^{2+} из митохондриального пула.

ДЕЙСТВИЕ 1-0-БЕНЗОИЛНАПЕЛЛИНА НА ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО КАЛЬЦИЯ

Чернова Л.А., Наджимова Х.К., Насиров К.Э., Усманов П.Б., Джахангиров Ф.Н., Султанходжаев Н.М.

Институт физиологии и биофизики АН РУз, Ташкент (Узбекистан)

E-mail: larisa_chern@mail.ru

Было исследовано влияния дитерпеноидного алкалоида 1-0-бензоилнапеллина, выделенного из *Aconitum leucostomum* и обладающего выраженным противоаритмическим действием на изменение уровня внутриклеточного кальция в тимоцитах крысы. При этом было обнаружено, что 1-0-бензоилнапеллин дозозависимо снижает уровень внутриклеточного кальция в тимоцитах крысы. При этом учитывая то, что ХТЦ преимущественно взаимодействует с Ca^{2+} , связанным с мембранными структурами, наблюдаемое нами падение интенсивности флуоресценции ХТЦ может свидетельствовать о снижении уровня Ca^{2+} , ассоциированного с мембранными структурами.

С целью изучения влияния алкалоида 1-0-бензоилнапеллина на потенциал-зависимые Ca^{2+} -каналы плазмалеммы нами было изучено его действие на изменение внутриклеточного кальция в присутствии верапамила (блокатора потенциал-зависимых Ca^{2+} -каналов L-типа).

В присутствии верапамила (10 мкМ) 1-0-бензоилнапеллин приводил к снижению концентрации внутриклеточного кальция, но степень этого снижения была меньше той, которая наблюдалась при отсутствии верапамила в среде. Эти данные могут свидетельствовать о том, что в реализации механизма действия 1-0-бензоилнапеллина кроме потенциал-зависимых Ca^{2+} -каналов L-типа, могут принимать участие и другие Ca^{2+} -транспортирующие системы.

Учитывая то, что главным механизмом входа Ca^{2+} в тимоциты являются запас-оперируемые кальциевые (SOC) каналы было изучено действие 1-0-бензоилнапеллина на изменение внутриклеточного кальция в присутствии ионов никеля. В присутствии ионов Ni^{2+} (100 мкМ) действие 1-0-бензоилнапеллина на изменение уровня внутриклеточного кальция не наблюдалось. В то же время было обнаружено, что в бескальциевых растворах, эффекты 1-0-бензоилнапеллина также не проявляются, это позволяет предположить, что данное соединение оказывает влияние как на потенциал-зависимые Ca^{2+} -каналы, так и на запас-оперируемый кальциевые каналы (CRAC) плазматической мембраны тимоцитов.

КОЛЕБАНИЯ КАЛИЕВОГО ПОТОКА В МИТОХОНДРИЯХ, СВЯЗАННЫЕ С РАБОТОЙ АТФ-ЗАВИСИМОГО КАЛИЕВОГО КАНАЛА

Горбачёва О.С., Венедиктова Н.И.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН; Пущинский государственный университет, Пущино (Россия)

E-mail: helga111@mail.ru

Митохондриальный АТФ-зависимый калиевый канал (митоК_{АТФ}) привлекает внимание многих исследователей, т.к. его активация играет ключевую роль в защите миокарда при ишемии, а также в адаптации организма к гипоксии. Данные, полученные в нашей лаборатории, позволили сделать предположение о том, что при адаптации к гипоксии активация АТФ-зависимого входа калия в митохондрии (МХ) сопровождается ускорением его выхода, вероятно, за счет усиления работы электронеutralного K^+/H^+ обмена. Активация митоК_{АТФ} приводит к слабому разобщению и снижению скорости образования активных форм кислорода, накапливающихся в избытке при гипоксии. В связи с этим, целью работы было получение доказательств активации цикла K^+ при открытии митоК_{АТФ}.

В ходе экспериментов были внесены модификации в условия регистрации рециклизации K^+ по набуханию МХ. При измерении цикла K^+ в течение 30 минут наблюдалось 2-3 волны колебаний в набухании и сокращении органелл, что отражает синхронизацию входа и выхода K^+ в части МХ. Этот эффект имел место в солевой гипотонической среде. В изотонической среде рециклизация K^+ наблюдалась слабо. Добавление АТФ• Mg^{2+} приводило к ингибированию энергозависимого входа калия в митохондрии, однако на скорость выхода катиона АТФ• Mg^{2+} не влиял. АДФ активировал работу митоК_{АТФ}. Рециклизация K^+ зависела от

функционального состояния дыхательной цепи МХ, которое регистрировалось по скорости потребления кислорода этими органеллами.

Из полученных результатов можно сделать вывод, что АТФ-зависимый вход K^+ в митохондрии ведет к активации всего цикла K^+ .

РОЛЬ АКТИНОВОГО ЦИТОСКЕЛЕТА И ЛИПИДНЫХ РАФТОВ В РЕГУЛЯЦИИ МЕХАНОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ ИОННЫХ КАНАЛОВ

Чубинский-Надеждин В.И, Морачевская Е.А.

Учреждение Российской академии наук Институт цитологии РАН,
Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: *chubinski_v@gmail.com*

Работа посвящена выяснению роли мембранного холестерина и актинового цитоскелета в регуляции механочувствительных (МЧ) катионных каналов, активирующихся в ответ на локальное растяжение (stretch) мембраны. В качестве основной модели использовали клетки миелоидной лейкемии человека линии K562, в которых ранее были идентифицированы стретч-активируемые МЧ каналы, по своим проводящим и селективным свойствам типичные для клеток млекопитающих.

С помощью метода патч-кламп обнаружено ингибирование МЧ каналов после экстракции мембранного холестерина метил-бета-циклодекстрином (МБЦД, 5 мМ), в то время как альфа-циклодекстрин (структурный аналог, не связывающий стеролы) не влиял на характеристики каналов. Обнаруженные изменения параметров активации МЧ каналов свидетельствовали об увеличении жесткости плазматической мембраны при экстракции холестерина, что не соответствует известной зависимости физических свойств бислоя от содержания стеролов.

Мы проанализировали эффекты МБЦД основываясь на концепции липидных рафтов – обогащенных холестерином (cholesterol-enriched) микродоменов клеточной мембраны. Флуоресцентное мечение маркерного компонента рафтов ганглиозида GM1 при помощи FITC-конъюгированной бета-субъединицы холерного токсина (FITC-СТВ) свидетельствовало об изменениях клеточной поверхности после действия МБЦД. При окрашивании родамин-фаллоидином выявлены перестройки F-актина, индуцируемые, вероятно, нарушением целостности рафтов после экстракции холестерина.

Как показано в патч-кламп экспериментах, обработка деструкторами актиновых филаментов (латрункулин Б, цитохалазин Д) приводила к восстановлению высокого уровня активности каналов в клетках, инкубированных с МБЦД. Полученные результаты позволяют заключить, что подавление активности механочувствительных каналов в клетках K562 после снижения уровня мембранного холестерина обусловлено перестройками актиновых филаментов, инициированными деструкцией липидных микродоменов.

Работа была выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 08-04-00574).

ЗАКОНОМЕРНОСТИ ГАММА-ОБЛУЧЕНИЯ ХЛОРЕЛЛЫ ПРИ РАЗНЫХ УСЛОВИЯХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Ляпунова Е.Р., Комарова Л.Н.

Обнинский институт атомной энергетики Национального исследовательского ядерного университета «МИФИ», Обнинск (Россия)

E-mail: *hell-kun@rambler.ru*

Хорошо известно повышение ОБЭ плотноионизирующих излучений в области малых доз. Именно поэтому в нормах радиационной безопасности констатируют, что ОБЭ действия нейтронов в области малых доз ионизирующих излучений составляет около 10, а еще более плотноионизирующих излучений – около 20. Однако известно, что фактически биологическая эффективность плотноионизирующих излучений на единицу дозы является постоянной величиной, а возрастание ОБЭ обусловлено резким снижением эффективности редкоионизирующего излучения в области малых доз.

Как правило, экспериментальные данные, подтверждающие эти выводы, получены на клетках, которые облучали в логарифмической стадии роста. Облучение клеток млекопитающих в стационарной стадии роста в эксперименте затруднено из-за значительного понижения эффективности роста клеток (50-80%). Известно также, что эффективность роста культивируемых клеток растений мало зависит от стадии их роста. Поэтому представляло интерес выявить закономерности действия ионизирующего излучения (гамма-квантов) на клетки хлореллы, облученных на разных стадиях роста, а также изучить эффекты дорастания клеток хлореллы, определяющие генетическую нестабильность

Получены кривые доза-эффект клеток хлореллы, облученных гамма-квантами ^{60}Co (мощность дозы 28,3 Гр/мин). Также выявлены формы гибели клеток после облучения, получены закономерности повышения выхода клеток, погибших без деления в зависимости от дозы облучения. Выявлено восстановление клеток на 3-4 сутки после облучения. Получены кривые зависимости эффективности роста клеток хлореллы от продолжительности их культивирования в питательной среде. При оптимальных условиях культивирования клетки выходят на стационарную фазу на 6 сутки с последующим постепенным замедлением эффективности роста.

В дальнейшем предполагается провести сравнительное изучение выживаемости клеток хлореллы, облучаемых в различных стадиях роста гамма-квантами ^{60}Co и альфа-частицами ^{239}Pu . Такие данные могут представить интерес, как с теоретической точки зрения, так и при интерпретации норм радиационной безопасности.

ЛОКАЛИЗАЦИЯ МОЛЕКУЛ ФЛАВОНОИДОВ И ИХ МЕТАЛЛОКОМПЛЕКСОВ В ФОСФОЛИПИДНЫХ МЕМБРАНАХ

**Ягольник Е.А.¹, Музафаров Е.Н.¹, Нарманова Р.А.², Тараховский Ю.С.³,
Ким Ю.А.⁴**

¹Тульский государственный университет, Тула (Россия)

²Кызылординский государственный университет им. Коркыт Ата,
Кызылорда (Казахстан)

³Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино (Россия)

⁴Институт биофизики клетки РАН, Пущино (Россия)

E-mail: yea_88@mail.ru

Молекулы флавоноидов - кверцетин, дигидрокверцетин, морин и флоретин существенно различаются по действию на процесс плавления липидов в многослойных липосомах, сформированных из синтетического фосфолипида димиристоилфосфатидилхолина. Это может быть связано с различием мест встраивания и локализации данных веществ в бислойной липидной мембране.

На основании полученных результатов и литературных данных предположено, что кверцетин локализуется на границе между полярной и неполярной областями бислоя. Действие кверцетина на жидкостные свойства мембраны сопоставимы с действием холестерина, поэтому предполагается возможность проникновения молекул кверцетина в гидрофобную область бислоя и взаимодействие с ацильными цепочками липида.

Действие флоретина на мембраны выражалось значительным снижением температуры плавления липида. Предположено, что молекула флоретина преимущественно локализуется на поверхности мембраны, что подтверждается данными ЯМР. В отличие от кверцетина, длинная ось молекулы флоретина, вероятно, должна располагаться вдоль плоскости мембраны, что может привести к существенному увеличению объема полярной области липида. Возможно, что флоретин может влиять также и на распределение заряженных групп фосфолипидов.

Одним из факторов, определяющих биологическую эффективность флавоноидов, является присутствие в среде ионов металла переменной валентности, что связано с образованием комплексов. Известно, что комплексы флавоноидов с металлами проявляют более высокую биологическую активность и, как оказалось, они вызывают и более выраженные изменения в фазовом поведении липидных мембран.

Обсуждается способность исследованных веществ и комплексов с ионами металлов регулировать фазовое состояние и сегрегацию липидов.

СРАВНЕНИЕ МЕТОДОВ РЕГИСТРАЦИИ ЭКЗОЦИТОЗА В КЛЕТКАХ АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА

Сабырбек Ж.Б.

Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы (Казахстан)

E-mail: s.zhanna-kz@mail.ru

Экзоцитоз в суспензии клеток асцитной карциномы Эрлиха (АКЭ) при стимуляции индукторами фиксировали по изменению следующих параметров - объема клеток, концентрации АТФ во внешней среде и по изменению флуоресценции катионного красителя.

В экспериментах по малоугловому светорассеянию в суспензии клеток при стимуляции последних иономицином получено, что изменение объема клеток, вызываемое данным веществом, является обратимым, что не наблюдается при регистрации светорассеяния под углом 90° .

В ходе экзоцитоза происходит слияние отдельных секреторных гранул, а также множественное интергранулярное слияние которое ведет к значительному увеличению мембранной поверхности. Эти изменения оценивали по флуоресценции катионного липофильного красителя 1-(4-(trimethylamino)phenyl)-6-phenylhexa-1,3,5-triene (ТМА-DPH). Достоинством данного метода является простота и экспрессность, однако он не позволяет ответить на вопрос о том, происходит ли полное слияние секреторных везикул с мембраной клетки или оно осуществляется по так называемому механизму «kiss and run».

В ряде работ показано, что одним из продуктов, секреторируемых клетками АКЭ, является АТФ. Концентрацию АТФ в экстраклеточной среде мы измеряли с помощью люциферин-люциферазного метода. Данный способ регистрации экзоцитоза является очень удобным, поскольку позволяет непосредственно наблюдать прирост секреторируемого в экстраклеточную среду продукта в виде АТФ.

РЕКОМБИНАНТНЫЙ ЦИТОКИН LIF И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА ЛИПИДНЫЙ БИСЛОЙ

Борисова М.П.¹, Петрова Р.Р.², Межевикина Л.М.²

¹Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН; ²Институт биофизики клетки РАН, Пущино (Россия)

E-mail: rushap@rambler.ru

Высокая физиологическая активность рекомбинантного LIF, его стимулирующее влияние на пролиферацию и скорость роста ЭСК, различие в действии рекомбинантного белка прокариотического и эукариотического происхождения вызвали ряд вопросов и послужили стимулом для продолжения работ по исследованию влияния различных белков LIF на липидный бислой. В работе был использован: рекомбинантный белок LIF, продуцируемый эукариотическими клетками линии Cos-1, коммерческий рекомбинантный мышинный LIF прокариотического происхождения (ICN). Для формирования липидного бислоя использовался фосфатидилхолин из сои (Sigma), Измерения проводились в растворах KCl различной ионной силы при pH=7.15-7.2 в условиях фиксации потенциала с программным обеспечением «БЛМ», разработанным А.Я. Зильберштейном.

При внесении LIF эукариотического происхождения с одной стороны от мембраны в концентрации 0.65-19.5 нг/мл наблюдается скачкообразное нарастание тока. Такое изменение тока характерно для ионных каналов. Величина скачков зависит от ионной силы окружающего раствора. Чем меньше ионная сила, тем больше величина. Так при напряжении 100 мВ в 0.1 М KCl средняя величина тока 90 ± 20 пА, в 0.2 М KCl - 22 ± 6 пА, при 1М KCl - 7 ± 1 пА. Средняя проводимость канала зависит также от знака потенциала. При положительном знаке с (*trans*) стороны амплитуда одиночных скачков меньше, чем при отрицательном почти в два раза. Вольтамперные характеристики показывают, что в 0.1 М KCl зависимость тока от напряжения носит линейный характер, в 0.2 М KCl наблюдается гиперфункция в условиях положительного

потенциала, и суммарный ток при 100 мВ больше почти в 2 раза, чем при –100 мВ. В среде, содержащей 1 М КСl, зависимость суммарного тока от напряжения обратная и при –100 мВ выше, чем при положительных значениях. Проводимость одного канала в 1М КСl так и осталась выше при минусе с (*trans*). стороны. Внесение с одной стороны от мембраны рекомбинантного белка прокариотического происхождения стимулировало хаотическое возрастание тока без образования стабильных уровней проводимости в миллисекундном режиме фиксации. Вольтамперная характеристика сохраняет S-образный вид, интегральный ток в 1М КСl при 100 мВ в 2.5 меньше, чем при отрицательном напряжении. Внесение в среду 10мМ CaCl₂ не оказывает никакого влияния на приведенные выше мембранные характеристики.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ Zn²⁺ В ЭРИТРОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА IN VITRO ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ЦИНКОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Гармаза Ю.М., Тамашевский А.В., Лукьяненко Л.М., Козлова Н.М.

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск (Беларусь)

E-mail: garmaza@yandex.ru

Подобно кальцию, цинк (Zn²⁺) играет значительную роль в химических, структурных и регуляторных процессах биологических систем. Однако избыточное поступление ионов цинка в организм (>30 мкМ) может представлять опасность для клеток и тканей. Как известно, именно клетки крови первыми отвечают на неблагоприятные условия функционирования организма, а при повышенном поступлении ионов цинка в кровь, их накопление, главным образом, происходит в эритроцитах.

Цель данной работы – изучить изменение внутриклеточной концентрации ионов цинка в эритроцитах, подвергшихся воздействию солей цинка, *in vitro*, с помощью двух методов: атомно-эмиссионной спектрометрии и флуориметрии, для моделирования возможного состояния цинковой интоксикации.

В качестве агента для моделирования цинковой интоксикации *in vitro* нами был выбран сульфат цинка в фармакологических (<100 мкМ) и токсичных (>100 мкМ) концентрациях. С помощью эмиссионного спектрометра с индуктивно-связанной плазмой ICPE-9000 («Shimadzu», Германия) показано, что после 2-часового воздействия сульфата цинка в исследуемых концентрациях на эритроциты, наблюдается дозозависимое накопление Zn²⁺. Инкубация эритроцитов в среде, содержащей 100 мкМ сульфата цинка, приводит к аккумуляции в клетках 19,3% Zn²⁺ от исходного внеклеточного уровня, 500 мкМ – в среднем 31,3% Zn²⁺; а 1000 мкМ – 22,8% Zn²⁺. В то же время, используя флуоресцентный индикатор FluoZin-3, показано, что при инкубации суспензии эритроцитов с сульфатом цинка (50–500 мкМ) *in vitro* в течение 2 ч при 37°C внутриклеточная концентрация лабильного Zn²⁺ увеличивается в среднем на 10–40 нМ. Последнее указывает на то, что большая часть ионов цинка «задерживается» в мембранах.

Таким образом, воздействие субгемолитических концентраций сульфата цинка на эритроциты человека приводит к накоплению в клетках 20–30% Zn²⁺ от исходного уровня в среде инкубации и из них лишь 0,1–0,3% проходит в цитозоль эритроцитов.

ПРОИЗВОДНЫЕ КИНАЗОЛИНА – ИНГИБИТОРЫ АНОМАЛЬНОГО КАЛЬЦИЕВОГО ОТВЕТА ПРИ БОЛЕЗНИ ХАНТИНГТОНА

Вигонт В.А., Зимина О.А., Глушанкова Л.Н., Казначеева Е.В.

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: Vvigand@gmail.com

Кальций регулирует множество важных клеточных процессов, таких как апоптоз, пролиферация, дифференцировка... Повышение концентрации ионов кальция в цитозоле является одним из основных способов передачи сигналов от рецепторов плазматической мембраны к внутриклеточным системам. Такое повышение концентрации может достигаться за счет выброса кальция из внутриклеточного депо, и за счет входа кальция через каналы

плазматической мембраны. Распространены каналы для которых эти два процесса связаны: опустошение депо вызывает вход кальция через депо-управляемые кальциевые каналы.

Хорея Хантингтона - нейродегенеративное заболевание, связанное с мутацией гена белка Хантингтина, следствием которой является увеличение длины полиглутаминового тракта в N-концевой области Хантингтина. В норме длина этого тракта не превышает 35 глутаминовых остатков. В последнее время появляются данные, указывающие на взаимосвязь между болезнью Хантингтона и нарушениями в кальциевой сигнализации.

В качестве модели болезни Хантингтона была выбрана линия клеток нейробластомы SK-N-SH, в которой был экспрессирован ген мутантного Хантингтина со 138 остатками глутамина в тракте (138Q).

Было показано, что в клетках 138Q, экспрессирующих мутантный Хантингтин, депо-зависимый вход кальция существенно (в 2,5 - 3 раза) выше, чем в контрольных клетках 15Q.

Было исследовано влияние на этот вход производных киназолина – EVP-компаундов. Добавление активного EVP4593 приводило к угнетению депо-зависимого входа кальция в обоих типах клеток, в то время как неактивный EVP14808 не оказывал на кальциевый вход какого-либо эффекта. Дальнейшие исследования показали, что депо-зависимый вход кальция в клетках 138Q в основном опосредован каналами, имеющие в своем составе субъединицу TRPC1.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов: Госконтракт П332; РФФИ №10-04-00956; НШ-3796.2010.4; Программа Президиума РАН МКБ – грант фонда Дмитрия Зимина «Династия».

ВЛИЯНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РАЗГРУЗКИ НА СОДЕРЖАНИЕ ДЕСМИНА И АЛЬФА-АКТИНИНА–2 В ВОЛОКНАХ КАМБАЛОВИДНОЙ МЫШЦЫ КРЫСЫ

Мирзоев Т.М., Огнева И.В.

Государственный научный центр РФ - Институт медико-биологических проблем РАН, Москва (Россия)

E-mail: tmirzoev@yandex.ru

Развитие атрофических процессов в мышце при гравитационной разгрузке обусловлено активацией систем протеолиза цитоскелетных белков. При этом важную роль в деградации белков играют кальций-зависимые протеазы – кальпаины, поскольку известно, что в микрогравитационных условиях имеет место увеличение базального уровня ионов кальция.

Целью данного эксперимента являлось определение относительного содержания цитоскелетных белков - десмина и альфа-актинина-2 в волокнах камбаловидной мышцы (m.soleus) крысы после 14-суточной гравитационной разгрузки и последующего 3-суточного восстановления.

В эксперименте использовались самцы крыс породы Вистар. Относительное содержание белков было установлено методом гель-электрофореза с последующим иммуноблоттингом со специфичными антителами.

После вывешивания относительное содержание десмина в волокнах камбаловидной мышцы не отличалось от контроля, однако 3-суточное восстановление после разгрузки привело к достоверному снижению содержания данного белка на 20% ($p < 0,05$) относительно контрольной группы. В отличие от десмина, относительное содержание альфа-актинина-2 после функциональной разгрузки достоверно снизилось на 25% ($p < 0,05$). Ещё большее снижение отмечалось в группе 3-суточного восстановления (на 59% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем) При этом деградация альфа-актинина-2 продолжилась и в группе вывешивания с последующим 3-суточным восстановлением, так как содержание белка значительно уменьшилось по сравнению с группой чистого вывешивания.

Отмеченное снижение содержания белков после восстановительного периода может быть связано с тем, что резкое повышение электромиографической активности мышцы после разгрузки запускает процессы протеолиза схожие с теми, которые имеют место при эксцентрической нагрузке.

Работа поддержана Программой фундаментальных исследований ГНЦ РФ–ИМБП РАН и грантом РФФИ 10-04-0010ба.

СЕКЦИЯ «Физиология животных и биомедицина»**GTP-СВЯЗЫВАЮЩИЕ БЕЛКИ И НУКЛЕОЗИДДИФОСФАТКИНАЗА.
ВОЗМОЖНЫЙ МЕХАНИЗМ БЫСТРОЙ АКТИВАЦИИ G БЕЛКА
ФОТОРЕЦЕПТОРОВ СЕТЧАТКИ ТРАНСДУЦИНА**Орлов Д.Н.¹, Бурштейн Э.А.¹, Орлова Т.Г.^{1,2}, Фрейдин А.А.¹, Кимура Н.²,
Орлов Н.Я.^{1,2}¹Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино (Россия)²Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology, Tokyo (Japan)E-mail: *tramsducin@mail.ru**Данное сообщение посвящено памяти Дениса Николаевича Орлова, трагически погибшего 7 сентября 2010 г.*

Семейство GTP-связывающих белков. GTP-связывающие белки – молекулярные триггеры, обеспечивающие точную передачу информации в системах клеточной трансдукции. Гетеротримерные GTP-связывающие белки (G белки) – посредники в передаче сигнала от активированных трансмембранных рецепторов на исполнительные мишени в клетке.

G белок трансдуцин – ключевой элемент молекулярного предусилителя наружных сегментов палочек сетчатки позвоночных, обеспечивающий быстрое и значительное усиление сигнала при предельно низком уровне собственных шумов. Скорость активации трансдуцина в фоторецепторах. Низкий уровень спонтанной активации трансдуцина.

Рецептор-активируемая замена GDP на GTP (GDP/GTP – обмен) – классический механизм активации G белков. Экспериментальные основания активации G белков посредством GDP/GTP – обмена в условиях *in vitro*. Физические ограничения, возникающие при попытках применить GDP/GTP – обмен для объяснения механизма быстрой активации трансдуцина *in vivo*. Экспериментальные трудности, возникающие при попытках доказать применимость GDP/GTP – обмена к родопсин-зависимой быстрой активации трансдуцина в фоторецепторах.

Альтернативный механизм активации G белков – трансфосфорилирование связанного GDP до GTP в активном центре. Косвенные экспериментальные аргументы в пользу модели трансфосфорилирования связанного трансдуцином GDP в палочках сетчатки лягушки. Кто играет роль фосфотрансферазы, фосфорилирующей связанный GDP. Возможная роль β -субъединицы трансдуцина.

Нуклеозиддифосфаткиназа (NDP киназа) - мультифункциональный белок. Изоформы гексамеров NDP киназы. NDP киназа и GTP-связывающие белки. GTP-зависимое взаимодействие NDP киназы с промежуточным мембранным комплексом родопсин-трансдуцин, формирующимся в процессе активации трансдуцина. Трансдуцин – обязательный элемент такого взаимодействия. Взаимодействие между комплексом родопсин-трансдуцин и NDP киназой специфично к альфа-изоформе этого фермента. Структурные детерминанты изоформ NDP киназы, определяющие все последующие, в том числе и функциональные различия изоформ.

Фосфорилирование β -субъединицы трансдуцина и других G белков. Процесс фосфорилирования β -субъединицы катализируется эндогенным ферментом. Данные, свидетельствующие в пользу того, что процесс фосфорилирования β -субъединицы катализируется NDP киназой по одному из остатков гистидина.

Предложена схема активации трансдуцина и других GTP-связывающих белков с участием NDP киназы. Принципиальная особенность такого механизма состоит в том, что вместо диффузионно-подвижного GTP используется более специфичный донор, представляющий собой белковую молекулу - фосфорилированную β -субъединицу, локализованную определенным образом в молекуле трансдуцина и претерпевающую соответствующие конформационные перестройки при взаимодействии с рецептором. По-видимому, только таким образом можно удовлетворить таким противоречивым требованиям как необходимость обеспечить, с одной стороны, предельно низкий уровень собственных шумов трансдуцина, а, с другой стороны, его быструю активацию.

Данные о том, что в этом процессе может участвовать β -субъединицы G белка, фосфорилированные NDP киназой, открывают возможности новых экспериментальных

подходов для решения вопроса о механизме активации GTP-связывающих белков. Возможно, что с помощью этих подходов удастся показать, действительно ли происходит фосфорилирование связанного GDP, а также выяснить скорость и последовательность реакций в процессе активации G белков.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КЛЕТОК НЕРВНОЙ И ИММУННОЙ СИСТЕМ В МОЗГЕ

Годухин О.В.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино (Россия)

В докладе обсуждаются современные представления о механизмах взаимодействия клеток нервной и иммунной систем в мозге. Отмечается, что ключевая роль в этом взаимодействии принадлежит цитокинам, которые представляют собой разнообразную группу полипептидов, ассоциированную с активацией иммунной системы и включающую в себя интерлейкины, интерфероны, факторы некроза опухоли, хемокины и факторы роста. В функциональном отношении цитокины классифицируются как про-, так и против-воспалительные в зависимости от их конечного действия на иммунную систему. Цитокины могут оказывать свои эффекты на центральную нервную систему как прямо, так и опосредовано через активацию иммунной системы. Отмечается, что экспрессия цитокинов и их функционально-активных рецепторов обнаружена в микроглии, астроцитах и нейронах мозга не только при патофизиологических условиях, но и в норме.

В докладе рассматриваются: 1. общие представления о роли цитокинов в механизмах взаимодействия клеток нервной и иммунной систем; 2. нейротоксическое и нейропротектирующее действия цитокинов; 3. влияние цитокинов и факторов роста на когнитивные функции мозга; 4. взаимодействие клеток нервной и иммунной систем при таких нейропатологиях, как нейродегенеративные и аутоиммунные заболевания, инфекции и судорожные расстройства. Приводятся оригинальные данные, полученные в лаборатории автора, о нейропротектирующем действии противовоспалительного цитокина интерлейкина-10 на двух моделях эпилептогенеза: модели гипоксической раскочки на перживающих срезах мозга в условиях *in vitro* и модели парциального электрического kindlinga на свободно-подвижных животных в условиях *in vivo*.

КОРРЕЛЯЦИЯ МЕЖДУ АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ *LACTOBACILLUS CASEI* IMB B-7280 *IN VITRO* И *IN VIVO*

Бабенко Л.П.¹, Мокрозуб В.В.¹, Лазаренко Л.Н.¹, Шинкаренко Л.Н.¹,
Воронкова О.С.², Науменко И.В.³, Спивак Н.Я.¹

¹Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К.Заболотного НАН Украины,
Киев (Украина)

²Днепропетровский национальный университет им. Олеся Гончара,
Днепропетровск (Украина)

³Национальный технический университет Украины
«Киевский политехнический институт», Киев (Украина)

E-mail: *tigrenok_1331_@pochta.ru*

Комплексная терапия пациентов со стафилококковыми инфекциями включает применение антибактериальных средств и специфических иммунопрепаратов, включая пробиотики, созданные на основе представителей нормальной комменсальной микрофлоры.

Целью данного исследования было определение антагонистических свойств *Lactobacillus casei* IMB B-7280 *in vitro*, а также влияния штамма на персистенцию стафилококка *in vivo*.

Экспериментальные исследования *in vivo* проводили на 6-недельных самках мышей линии BALB/c. Для моделирования интравагинальной инфекции использовали *Staphylococcus aureus* 8325-4, содержащий плазмиду устойчивости к гентамицину. *Lactobacillus*

casei IMB В-7280 вводили интравагинального в течение 7 дней. На 1, 3, 6, 9 и 12 сутки из влагалища высевали *Staphylococcus aureus* 8325-4 на элективные среды с гентамицином.

Нами установлено, что *Lactobacillus casei* IMB В-7280 проявлял *in vitro* антагонистическое действие в отношении пяти исследованных штаммов *S. aureus*. Зоны задержки роста музейных тест-культур варьировали в пределах 11-42 мм. *Staphylococcus aureus* 8325-4 оказался малочувствительным к воздействию *Lactobacillus casei* IMB В-7280 *in vitro* (зона задержки роста $11,0 \pm 0,8$ мм).

Установлено, что из влагалища инфицированных мышей, не получавших пробиотического штамма, *Staphylococcus aureus* 8325-4 высевался в значительном количестве в течение всего срока наблюдения.

Вместе с тем, после введения инфицированным мышам *Lactobacillus casei* IMB В-7280, уменьшение количества *Staphylococcus aureus* 8325-4, который высевался из влагалища, отмечено уже на первые сутки, его количество продолжало постепенного уменьшаться на 3, 6, и 9-е сутки, с полной элиминацией штамма на 12-е сутки.

Итак, для *Lactobacillus casei* IMB В-7280 отсутствовала корреляция между антагонистической активностью в отношении *Staphylococcus aureus* 8325-4 *in vitro* и *in vivo*. Поэтому для подтверждения антагонистического действия лакто- и бифидобактерий, целесообразно проводить опыты как *in vitro*, так и *in vivo*.

ВЛИЯНИЕ *LACTOBACILLUS CASEI* IMB В-7280 НА ИММУННЫЙ ОТВЕТ ПРИ ИНТРАВАГИНАЛЬНОЙ СТАФИЛОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ У МЫШЕЙ

Бабенко Л.П.¹, Мокрозуб В.В.¹, Лазаренко Л.Н.¹, Шинкаренко Л.Н.¹,
Воронкова О.С.², Науменко И.В.³, Спивак Н.Я.¹

¹Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К.Заболотного НАН Украины,
Киев (Украина)

²Днепропетровский национальный университет им. Олеся Гончара,
Днепропетровск (Украина)

³Национальный технический университет Украины
«Киевский политехнический институт», Киев (Украина)

E-mail: *tigrenok_1331_@pochta.ru*

Наиболее перспективными для создания новых пробиотических препаратов штаммами микроорганизмов являются те, которые обладают не только высокой антагонистической активностью в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, но также иммуномодулирующими свойствами. Поэтому, с целью определения возможности создания пробиотического препарата, перспективного для коррекции иммунитета при распространенных инфекционных заболеваниях, нами проведено исследование штамма *Lactobacillus casei* IMB В-7280 на модели интравагинальной стафилококковой инфекции.

Исследования проводили на самках мышей линии BALB/c возрастом 6-8 недель. Инфекцию моделировали путем интравагинального введения суспензии клеток *Staphylococcus aureus* 8325-4. Через 24 ч после инфицирования, мышам интравагинально вводили суспензию *Lactobacillus casei* IMB В-7280 в дозе 1×10^6 кл. на животное в день в течение 7 суток.

На 1, 3, 6, и 9 сутки проводили исследование субпопуляции лимфоцитов селезенки мышей с использованием моноклональных антител к CD3+, CD4+, CD8+ и CD19+ антигенам (Miltenyi Biotec, Германия).

Результаты исследования показали, что введение *Lactobacillus casei* IMB В-7280 на 3 сутки улучшало показатели клеточного иммунитета. Так, по сравнению с показателями для инфицированных мышей, количество CD3+ и CD4+ Т-лимфоцитов под воздействием *Lactobacillus casei* IMB В-7280 значительно повышалось. После введения пробиотического штамма инфицированным стафилококком мышам, количество CD8+ клеток не изменялось относительно показателей как для инфицированных мышей, так и для контроля (интактные мыши).

Количество CD19+ В-лимфоцитов наоборот уменьшалась по сравнению с показателями для инфицированных мышей. Следует отметить, что количество CD19+ В-лимфоцитов после

введения штамма *Lactobacillus casei* IMB В-7280 не было ниже, чем в контроле (интактные мыши).

Полученные данные показали, что *Lactobacillus casei* IMB В-7280 может быть использован для создания пробиотических препаратов, эффективных в отношении *Staphylococcus aureus* и других возбудителей инфекций мочеполовой системы.

ИНДУЦИРОВАННЫЕ ПЛЮРИПОТЕНТНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ ДЛЯ ТЕРАПИИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Салафутдинов И.И.^{1,3}, Масгутов Р.Ф.^{1,3}, Масгутова Г.А.^{1,2}, Федотова В.Ю.¹,
Ризванов А.А.^{1,2,3}

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет; ²Казанский государственный медицинский университет; ³ГУЗ «Республиканская клиническая больница», Казань (Россия)

E-mail: sal.ilnur@gmail.com

Индукцированные плюрипотентные стволовые (iPS), являющиеся аналогами эмбриональных стволовых клеток, могут рассматриваться в качестве потенциального источника аутологичного клеточного материала для клеточной и генно-клеточной терапии. Возможность целенаправленной дифференцировки iPS в различные клеточные типы, в том числе нейрональные, делает возможным их применение для терапии нейродегенеративных заболеваний, в частности, таких как боковой амиотрофический склероз (БАС).

Для получения микроглия-подобных клеток из iPS клеток человека (iPSdM) вначале получали эмбриоидные тела (ЭТ) путем культивирования в среде для дифференцировки клеток. После чего производили направленную дифференцировку ЭТ в нейроглиальном направлении. Подтверждение фенотипа iPSdM проводили с помощью специфичных антител (АТ) к CD45, CD11b и F4/80 методом проточной цитометрии, а также иммунофлуоресцентным анализом с помощью АТ к Iba1 и β -Tubulin III. Клетки iPSdM культивировали в среде Neuro Basal medium с ростовой добавкой N2, ресуспендировали механическим методом, проводили подсчет и трансплантацию трансгенным мышам B6SJL-Tg(SOD1-G93A)d11Gur/J (модель БАС) в количестве 1 миллиона путём внутривенного введения в хвостовую вену. Через 2 и 7 дней после трансплантации проводили забор тканей подопытных животных и иммуногистохимический анализ с помощью АТ к ядерному антигену человека (HNu). Распределение клеток носило системный характер. Большое количество HNu+ клеток локализовано в печени. Отмечена значительная локализация HNu+ клеток в головном и спинном мозге трансгенных мышей по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, нами было показано, что трансплантированные iPSdM клетки выживают, активно мигрируют в очаги нейродегенерации и сохраняют фенотип микроглия-подобных клеток. Аутологичные iPSdM клетки могут стать перспективным материалом для различных клеточных и генно-клеточных терапевтических протоколов.

ПРИМЕНЕНИЕ МОДЕЛИ EX VIVO ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕХАНИЗМОВ ДЕЙСТВИЯ ДВУХ ГЕРОПРОТЕКТОРОВ

Аркадьева А.В., Михельсон В.М., Спивак И.М.
Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: asarkad@yandex.ru

Мыши линии SHR различного возраста (11, 16, 19 и 23 мес) получали синтетический бигуанид метформин с 3-го и 9-го мес жизни в лаборатории проф. В.Н.Анисимова института онкологии им. Петрова; мыши линии Balb/c 12 мес получали антиоксидант SkQ1 с 3-го мес жизни в Институте органической химии им. Овчинникова РАН, возможность получить материал от этих животных была предоставлена акад. В.П.Скулачевым. В качестве модели нами были использованы первичные линии диплоидных фибробластов соединительной ткани

кожи этих животных, что позволило сравнивать состояние клеток организма в зависимости от возраста животных и времени и дозы приема геропотекторов.

Обнаружено, что в фибробластах подопытных животных, получавших метформин, по сравнению с фибробластами, выделенными из контрольных животных такого же возраста, уменьшается среднее количество связанных со старением гетерохроматиновых фокусов (SAHF) в ядрах, средние значения площадей ядер и интенсивности флуоресценции ядер фибробластов при окраске антителами к фосфорилированной форме гистона H2AX (γ -H2AX). У контрольных животных выявляется большая доля фибробластов со значениями количества SAHF, активности связанной со старением β -галактозидазы (SA- β -gal) и интенсивности флуоресценции ядер после окраски антителами к γ -H2AX, существенно превышающими среднестатистический уровень этих значений в группе. В то же время в фибробластах всех животных, получавших метформин, уровень изученных маркеров старения близок к среднестатистическому в группе.

При исследовании *ex vivo* действия другого геропротектора - SkQ1 на фибробластах, полученных из опытных животных, были показаны резкое уменьшение среднестатистического количества клеток с измененной ядерной оболочкой, клеток, в ядрах которых выявляется гистон γ -H2AX, среднего количества SAHF в ядрах; увеличение содержания белка HP1 γ .

ЗДОРОВЬЕ ШКОЛЬНИКОВ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ ОБРАЗОВАНИЯ

Ширей В.О., Казакова Т.И., Лысенко Т.Г., Ковалёва О.А.

Белорусский государственный педагогический университет им. М.Танка,
Минск (Беларусь)

E-mail: *kovalyovy@mail.ru*

Медико-демографическая ситуация, сложившаяся в последние десятилетия, характеризуется ухудшением качества здоровья детского населения (Поляков, Смирнов, 1999). Отмечается негативная тенденция в увеличении количества отклонений в физическом развитии, нарастает число детей с наличием одного и более заболеваний. Распространенность функциональных отклонений в соматической сфере у детей достигает 70%, а в школу приходят около 30% детей, которые по состоянию здоровья не готовы к учебной деятельности (Кучма, 2000).

Нами были проанализированы медицинские карты 662 школьников 6-9 классов (СШ № 30, 36, гимназия 29 г. Минска): из общего числа школьников к I группе здоровья относятся 15 человек (2,3%); среди II и III группы здоровья значительные изменения в процентном соотношении наблюдаются в 9 классе – происходит уменьшение II группы здоровья с 65,6% (8 кл.) до 57,3% (9 кл.) и увеличение III группы здоровья с 30,3% (8 кл.) до 37,4% (9 кл.). Мальчиков относящихся ко II группе здоровья во всех классах больше в сравнении с девочками.

К 9 классу процент девочек относящихся к III группе здоровья увеличивается – с 36,4% (6 кл.) до 46,8% (9 кл.) за исключением 7 класса – здесь происходит увеличение в сравнении с 6 классом II группы здоровья (с 61,4% до 63,3%) и уменьшение процента III группы здоровья (с 36,4% до 34,9%). Среди мальчиков 6-8 классов, относящихся ко II группе здоровья значительного изменения в процентном отношении нет, а в 9 классе происходит снижение с 69,4% (8 кл.) до 66,7% (9 кл.). Процент мальчиков, относящихся к III группе здоровья увеличивается на 1% в 7 классе в сравнении с 6 классом, затем в 8 классе происходит снижение с 29,3% до 24,2%, и в 9 классе снова происходит увеличение до 29%.

Одним из путей снижения негативных воздействий школьной среды на организм ребенка является внедрение прогрессивных оздоровительных технологий, которые способствуют коррекции имеющихся отклонений и повышают уровень здоровья (Аминов, 2002; Погоньшев, 2002).

ВЛИЯНИЕ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ НА НЕВРОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС ПОТОМСТВА КРЫС

Аверина О.А.

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова,
биологический факультет, Москва (Россия)

E-mail: averina.msu.biophys@gmail.com

Пренатальная гипергомоцистеинемия у крыс приводит к возникновению осложнений в период беременности, снижению когнитивных способностей и морфофизиологических характеристик потомства. Избыток гомоцистеина приводит к активации апоптоза, к некрозу нейрональных клеток, что особенно опасно в период раннего развития потомства. Повреждения мозга, вызываемые пренатальной гипергомоцистеинемией, можно рассматривать как фактор риска развития нейродегенеративных расстройств, в том числе, шизофрении. Акустический стартл рефлекс (АСР) является безусловным рефлекторным ответом на внезапный щелчок (белый шум 100 дБ, 20мс). Предимпульсное торможение представляет собой явление, в котором слабый престимул подавляет двигательный ответ на основной стимул. Дефицит предимпульсного торможения является общим у больных шизофренией и указывает на дисфункцию внимания.

Целью данной работы являлось исследование влияния гипергомоцистеинемии при беременности на неврологический статус потомства крыс.

Исследования проведены на крысах Wistar обоего пола (n=74шт) SPF категории, по стандартам GLP.

В работе использовалась модель пренатальной гипергомоцистеинемии у крыс за счет внесения в питьевую воду метионина суточной дозой 1г/кг в течение периода беременности и лактации (опытная группа). Интактные животные получали дистиллированную воду.

Состояние потомства оценивалось по динамике увеличения длины тела в первые 20 дней жизни, концентрации маркера окислительного стресса малонового диальдегида (МДА) в мозге на 12 день жизни. На 45 сутки исследовали выраженность АСР.

Было показано, что потребление метионина самками в период беременности и лактации достоверно снижает скорость роста потомства, прослеживается тенденция к увеличению концентрации МДА. Исследования АСР указывают на повышенную реакцию на звуковой стимул (105,3%, $p < 0,01$) и дефицит предимпульсного торможения ($p < 0,001$) в потомстве опытной группы.

По полученным результатам можно предполагать о развитии шизоидных расстройств, а также психозов у крыс, перенесших пренатальную гипергомоцистеинемия.

ДИФФЕРЕНЦИРОВКА ЭСК МЫШИ В УСЛОВИЯХ ПРОЛОНГИРОВАННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ С РЕКОМБИНАНТНЫМ БЕЛКОМ LIF

Петрова Р.Р., Межевкина Л.М.

Институт биофизики клетки РАН, Пущино (Россия)

E-mail: rushap@rambler.ru

Культуры эмбриональных стволовых клеток (ЭСК) млекопитающих являются источниками дифференцированных клеток для фундаментальных и прикладных исследований. Плюрипотентные линии ЭСК способны к спонтанным дифференцировкам в разные типы клеток и тканей. Для получения из ЭСК клеток определенного фенотипа используют разные приемы культивирования на фидерных слоях, а также химические индукторы.

Следует отметить, что индукция процессов дифференцировки в колониях сопряжена с формированием гетерогенной популяции, в которой доля клеток определенного фенотипа небольшая. В настоящее время гетерогенность ЭСК является существенным ограничением для использования в прикладной медицине. Целью нашей работы было получение из ЭСК мышечных клеток по типу кардиомиоцитов. Для этого использовали технику пролонгированного культивирования клеток с рекомбинантным белком LIF, полученным в результате трансфекции Cos-1 плазмидой рЕТ28b со встроенным геном *lif* мышши. В качестве контроля использовали коммерческий препарат рекомбинантного белка LIF мышши (ICN).

Характерной особенностью рекомбинантного LIF-Cos, в отличие от LIF-ICN, является его способность повышать выживаемость ЭСК мышцы в виде колоний. В условиях пролонгированного культивирования с LIF-Cos на 20-26 сутки в плюрипотентных колониях, размеры которых к этому времени достигают порядка $1.55 \pm 0.4 \text{ мм}^2$ ($1.6 \times 10^4 \pm 0.29$ клеток, $n = 6$), появляются очаги с автономной сократительной активностью. В таких колониях при цитохимическом определении эндогенной щелочной фосфатазы (ЭЩФ) обнаруживается неравномерное окрашивание. В участках, где регистрируются сокращения, активность ЭЩФ снижена, что указывает на дифференцировку клеток. Для идентификации дифференцированных клеток использовали кардиоактивный препарат изопротеринол (ИП) в концентрациях 10^{-7} - 10^{-5} М.

Максимальный ответ дифференцированных ЭСК мышцы на β -адренергическую стимуляцию обнаруживается через 2-3 мин после добавления в среду 10^{-7} М ИП. Под влиянием ИП частота сокращений увеличивается с 19 ± 1.2 уд/мин до 58 ± 2.3 уд/мин. Такая реакция характерна для кардиальных клеток с экспрессией β -адренорецепторов. Принадлежность к кардиомиоцитарному типу дифференцировки подтверждена с помощью моноклональных антител к кардиальному α -актину мышцы.

Наличие β -адренорецепторов и миофиламентного кардиального α -актина в ЭСК мышцы свидетельствуют о том, что при использовании техники пролонгированного культивирования с рекомбинантным белком LIF-Cos активируются процессы кардиомиоцитарной дифференцировки. Колонии ЭСК мышцы с сократительной активностью представляют собой экспериментальную модель для выявления клеточных и молекулярных механизмов кардиальной дифференцировки, проведения электрофизиологических исследований, а также скрининга кардиоактивных препаратов.

ДИНАМИКА МЕТАБОЛИТОВ ОКСИДА АЗОТА В ОРГАНИЗМЕ ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЯ ПРИ РАЗВИТИИ АСЦИТНОЙ ГЕПАТОМЫ ЗАЙДЕЛЯ

Наумов А.А. Хайретдинова М.М. Поцелуева М.М.

Учреждение Российской академии наук Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН; Пущинский государственный университет, Пущино (Россия)

E-mail: exzikutor@rambler.ru

В настоящее время одной из актуальных задач биофизики, физиологии и химии является изучение короткоживущих активных соединений, выполняющих различные функции в организме. К таким соединениям, в первую очередь, относятся оксид азота (NO) и активные формы кислорода (АФК). Эти соединения являются важными элементами иммунного ответа, в том числе и при опухолевом процессе в организме. При этом гиперпродукция данных соединений оказывает токсическое действие на весь организм, а не только на патологические образования, что может приводить к ряду осложнений, и, в том числе, способствует гибели организма.

Целью работы является исследование продукции NO и его метаболитов в организме опухоленосителя с целью оценки уровня окислительного и нитрозилирующего стресса в плазме и асците.

Исследуя динамику изменения основных метаболитов оксида азота в плазме и асцитной жидкости, было показано, что в плазме крови развивается нитрозилирующий стресс, выраженный в накоплении продуктов модификации белков активными формами азота. В начальный период опухолевого роста (1-2 сутки) резко повышается концентрация S-нитрозотиолов и нитротирозина (конечный продукт действия пероксинитрита). В асцитной жидкости, при этом, устанавливаются высокие концентрации метаболитов оксида азота, таких как NOx и нитротирозин, но при этом наблюдается снижение содержания S-нитрозотиолов. Данные процессы связаны с поступлением из плазмы S-нитрозилированных белков, которые затем разрушаются в асцитной жидкости из-за изменения окислительно-восстановительных условий. Снижение транспорта модифицированных белков в системе «кровь-асцит» на конечном этапе опухолевого роста также способствует падению концентрации S-NO в асците. При этом изменение окислительно-восстановительных условий никак не влияет на устойчивость нитротирозина, так как реакция его образования необратима.

Работа поддержана проектами Министерства Образования и Науки РФ согласно тематическому плану ЕЗН №1.4.11 и программой РНП грантом № 2.1.1/12035

МЕТОДИКА ВЫЯВЛЕНИЯ АНТАГОНИСТОВ КАИНАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ

Баль Н.В.^{1,2}, Кононов А.В.¹, Зинченко В.П.¹

¹Учреждение Российской академии наук Институт биофизики клетки РАН;

²Пушкинский государственный университет, Пушкино (Россия)

E-mail: *bal_nv@mail.ru*

Каинатные рецепторы (KAR) наряду с AMPA- и NMDA-рецепторами являются ионотропными рецепторами глутамата. Канал проницаем для Na^+ и K^+ и слабо для Ca^{2+} . KAR участвуют как в возбуждающей нейротрансмиссии (активируют постсинаптические рецепторы), так и в модулирующей (регулируют секрецию GABA и других трансмиссивов). В ряде работ показано нарушение функции каинатных рецепторов при таких заболеваниях как эпилепсия, шизофрения и др. В настоящее время селективные антагонисты, блокирующие все типы субъединиц этих рецепторов, не найдены, что обуславливает необходимость поиска соединений, ингибирующих каинатные рецепторы.

Для разработки методики использовались культуры нейронов, выделенные из гиппокампа новорожденных крысят. Культуры нейронов окрашивались двухволновым кальций-чувствительным флуоресцентным зондом Fura-2AM. Изменение концентрации цитозольного кальция анализировалось с помощью системы анализа изображений «Cell observer» на базе инвертированного микроскопа Axiovert 200M как отношение флуоресценции кальций-связанной и свободной от кальция форм Fura-2.

Основой методики выявления антагонистов является способность каинатных рецепторов деполяризовать мембрану нейронов, что ведет к открытию потенциал-зависимых кальциевых каналов и входу кальция. В ходе эксперимента по выявлению антагонистов KAR оценивалась способность исследуемого образца подавлять кальциевый сигнал нейронов в ответ на аппликацию агониста каинатных рецепторов домоевой кислоты (DA). Для повышения селективности DA по отношению к KAR и снятия эффекта десенситизации клетки перед экспериментом инкубировали с ConA в концентрации 200мкг/мл. Показано, что NBQX в концентрации 30 мкМ полностью подавлял амплитуду кальциевого ответа, вызванного добавлением DA, и не оказывал влияние на повышение кальция в цитозоле при аппликации деполяризующего агента KCl в концентрации 35мМ. Разработанную методику также можно применять для выявления селективных антагонистов отдельных субъединиц KAR.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и образования в рамках мероприятия 1.2., ГК П-606.

ИССЛЕДОВАНИЕ РЕПАРАТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ПРИ СТАРЕНИИ

Якупова Г.С., Захарчук А.Г., Спивак Д.Л., Спивак И.М.

Институт цитологии РАН; Медико-социальный геронтологический центр Санкт-Петербурга им. Э.С.Пушковой; Институт мозга человека РАН им. Н.П.Бехтеревой, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: *gulnazjakupova@gmail.com*

Теория о накоплении с возрастом ДНК-повреждений и о роли процессов репарации ДНК, противостоящих этому явлению, является одной из современных теорий старения. Человек в течение своей жизни подвергается воздействию множества неблагоприятных факторов, которые приводят к повреждениям генома. Репарация ДНК является фундаментальным процессом, обеспечивающим стабильность генетического материала. Современные данные подтверждают, что эффективность репарации положительно коррелирует с продолжительностью жизни и уменьшается с возрастом.

Исходя из вышеизложенных представлений, нами были исследованы лимфоциты периферической крови 62 пациентов геронтологического центра (старше 75 лет). В качестве контроля были использованы пробы крови 19 молодых (от 19 до 32 лет) сотрудников ИИЦ РАН. Репаративный потенциал клеток определяли методом гель-электрофореза индивидуальных клеток или методом «ДНК-комет». При наличии разрывов в ДНК, ядра отдельных клеток, помещенных в легкоплавкую агарозу, образуют под действием электрического поля длинные петли ДНК, которые напоминают хвост кометы. Размеры площадей «комет» пропорциональны количеству разрывов в ДНК исследуемых клеток.

Лимфоциты, выделенные из периферической крови в градиенте фиколла, были облучены на установке РУМ-17 в дозе 2 ГР, часть из них затем инкубировали в течение 2.5 час при температуре 37°C в исходной питательной среде. Для окраски слайдов использовали краситель SYBR Green I. При сравнении клеток молодых и пожилых доноров было обнаружено, что радиочувствительность клеток долгожителей выше, чем у молодых. Одновременно у долгожителей было выявлено наличие большего количества «комет» среди интактных лимфоцитов, что свидетельствует о накоплении в них с возрастом повреждений ДНК.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант 09-06-00012а Программы Президиума РАН «биологические науки - медицине».

ВЛИЯНИЕ КОМПОНЕНТОВ МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА НА КУЛЬТУРУ КЛЕТОК ДЕРМАЛЬНОЙ ПАПИЛЛЫ

Мягкова Е.П.

Институт биологии развития им. Н.К.Кольцова РАН, Москва (Россия)

E-mail: *katerina.myagkova@gmail.com*

Дермальная папилла (ДП) - мезенхимный компонент волосяного фолликула, индуцирующий его развитие и управляющий его ростом. В культуре клетки дермальной папиллы теряют свои индуцирующие свойства с увеличением времени культивирования. Избежать этого позволит частичная реконструкция условий *in vivo* в культуре.

В данной работе мы сорбировали компоненты межклеточного матрикса, характерные для микроокружения ДП *in vivo*, на поверхность культуральной посуды и оценивали их влияние на поддержание индуцирующих свойств клеток ДП. В качестве меры индуцирующих способностей использовалась окраска на щелочную фосфатазу.

Компоненты межклеточного матрикса, которые содержатся в ДП, можно разделить на 3 группы: компоненты базальной мембраны, протеогликаны и интерстициальные коллагены. Было выбрано несколько представителей из разнотипной группы. Из протеогликанов были взяты агрекан и бигликан, при их использовании интенсивность окраски на щелочную фосфатазу была максимальной по сравнению с контролем. Использование интерстициального коллагена I также увеличивало окраску по сравнению с контролем, но в меньшей степени, чем протеогликаны.

Компоненты межклеточного матрикса давали эффект, подобный коллагену I. Для реконструкции базальной мембраны использовались матригель и фибронектин. Применялось 2 вида нанесения матригеля: сорбирование и тонкий гель. На тонком матригеле значительно увеличивалась способность клеток ДП к агрегации с образованием сильноокрашенных псевдопапилл. Использование поли-L-лизина в качестве нейтрального субстрата не приводило к увеличению интенсивности окраски, в результате чего можно сделать вывод, что именно специфическое взаимодействие с компонентами межклеточного матрикса влияет на индуцирующие свойства клеток ДП.

МИТОХОНДРИАЛЬНО-АДРЕСОВАННЫЕ АНТИОКСИДАНТЫ ПРЕДОТВРАЩАЮТ РАЗВИТИЕ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ПРИ ИШЕМИИ/РЕПЕРФУЗИИ

Янкаускас С.С., Плотников Е.Ю., Певзнер И.Б., Зоров Д.Б.

Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им.
А.Н.Белозерского Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова;
Центр митоинженерии МГУ, Москва (Россия)

E-mail: *stanislovas@mail.ru*

Ишемический инсульт почки является наиболее частой причиной развития острой почечной недостаточности (ОПН). Ишемия/реперфузия (И/Р) приводит к гиперпродукции активных форм кислорода (АФК) митохондриями, следствием чего становится открытие поры неспецифической проницаемости митохондрии, апоптоз и некроз клеток почки.

Целью данной работы было исследование способности митохондриально-адресованного антиоксиданта 10-(6'-пластохинонил)децилпроламина (SkQR1) предотвращать развитие ОПН на модели унилатеральной И/Р почки крысы.

Методами вестерн-блоттинга и иммуногистохимии было определено, что внутрибрюшинная (в/б) инъекция SkQR1 интактным животным приводит к увеличению продукции эритропоэтина – вещества с выраженными нефропротекторными свойствами – эпителием почечных канальцев и увеличению содержания в ткани почки фосфорилированной формы киназы гликогенсинтазы-3 β , отвечающей за ингибирование неспецифической проницаемости митохондрий.

С помощью флуоресцентных зондов было обнаружено, что при И/Р наблюдается многократное увеличение продукции АФК в почке, тогда как в/б инъекция SkQR1 до И/Р снижает продукцию АФК.

Через 48 часов после И/Р у животных наблюдалась ярко выраженная почечная недостаточность: концентрация креатинина и мочевины в сыворотке крови возрастала в 4 и 6 раз, соответственно; гистологическое исследование почки обнаруживало значительные патоморфологические изменения; увеличивалось содержание малонового диальдегида (МДА) в ткани почки; наблюдалось уменьшение продукции эритропоэтина. К 4-м сут погибало 80% животных.

Введение SkQR1 до и после И/Р снижало концентрации креатинина и мочевины в крови с 257 мкМ до 144 мкМ и с 50,7 мМ до 28 мМ, соответственно. Гистологическая картина в этом случае соответствовала минимальным патологическим изменениям. Наблюдалось снижение концентрации МДА-продуктов на 60%. Продукция эритропоэтина сохранялась на уровне здоровых животных. Смертность снижалась до 20%.

Проведенное исследование свидетельствует, что митохондриально-адресованный антиоксидант SkQR1 минимизирует негативные последствия И/Р почки и повышает выживание животных при ОПН, предотвращая развитие окислительного стресса и активируя защитные сигнальные пути.

Работа поддержана грантами РФФИ 11-04-00771 и 11-04-01307 и ООО «Митотех»

КОМПЛЕКСНОЕ ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ СОДЕРЖИМОГО ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА У ЖИВОТНЫХ

Ксенофонтов Д.А.

Российский государственный аграрный университет - Московская
сельскохозяйственная академия им. К.А.Тимирязева, Москва (Россия)

E-mail: *angel-ksen@mail.ru*

Цель – экспериментально изучить структурно-функциональные характеристики химуса разных отделов пищеварительного тракта у рыб, птиц и нескольких видов млекопитающих.

Установлено, что у всех животных основную часть химуса составляет гидратированная плотная эндогенная фракция (ПЭФ) - 80-95%, меньшую часть - пищевые частицы (5-20%). ПЭФ - гомеостатичное образование, имеющее упорядоченную структуру, не зависящую от

алиментарного фактора или видовой принадлежности. Структура ПЭФ подвергается изменениям по мере продвижения химуса по пищеварительному тракту. Наиболее упорядоченный характер мицелл мукополисахаридов ПЭФ в химусе двенадцатиперстной кишки. По мере движения химуса по кишке структура ПЭФ частично разрушается из-за ее повышенной функциональной активности и неизбежного изнашивания структур. Установлены места локализации макро- и микроэлементов в различных компонентах химуса. У представителей трех классов позвоночных - рыб, птиц и млекопитающих – ПЭФ аккумулирует Ca и другие катионы (Mg, Zn, Cu, Mn, Fe). По мере продвижения химуса по ЖКТ концентрация данных элементов в полостной слизи многократно возрастает у всех изученных видов животных.

Это позволяет сделать вывод - катионы выступают важным фактором гомеостатирования энтеральной среды. В результате исследований однозначно сделано заключение, что, химус представляет собой гомеостатированную по химическому составу и пространственно структурированную среду, состав которой универсален и не имеет видовой специфичности. У жвачных животных выявлены конструктивные взаимодействия макроэлементов на уровне гастроэнтеральной среды. Дополнительное введение магния снижает его переваримость и усвоение, при этом во внутреннюю среду организма он не поступает, оставаясь в химусе, в его растворимой фракции. Тем самым изменяется соотношение катионов в энтеральной среде, в том числе и путем их обмена с внутренней средой.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖЕЛЕЗОСВЯЗЫВАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЯ

Хайретдинова М.М., Наумов А.А., Сухомлин Т.К., Поцелуева М.М.

Пушкинский государственный университет; Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино (Россия)

E-mail: *meteorita-87@mail.ru*

Развитие опухолей индуцирует активацию неспецифического иммунитета, сопровождающуюся воспалительными процессами и окислительным стрессом. В результате усиливается высвобождение ионов железа из повреждающихся железо-содержащих белков во внеклеточное пространство. В экспериментальной модели рака - гепатома Зайделя, трансплантированная в брюшную полость крыс линии Вистар – возможно контролировать уровень железа в плазме крови и асцитной жидкости. В обеих физиологических жидкостях внеклеточное железо связывается с трансферрином, благодаря чему его уровень может поддерживаться достаточным для транспорта, но безопасным в прооксидантном отношении. В условиях окислительного стресса повышается прооксидантная роль ионов переходных металлов, в том числе железа, поэтому системный гомеостаз железа перестраивается таким образом, чтобы уровень свободных ионов железа был минимальным. Эта цель достигается на начальных этапах роста опухоли путем активации захвата ионов железа железосеквестрирующими клетками и ингибированием его высвобождения путем снижения количества ферропортина.

Если эти компенсаторные механизмы со своей задачей не справляются и общий уровень железа в крови продолжает повышаться, то железо-связывающей емкости трансферрина может оказаться недостаточным и возникает проблема усиления окислительного стресса из-за генерации гидроксильных радикалов в реакции Фентона. Это качественное усиление окислительного стресса становится особенно опасным, когда снижается концентрации основного железо-связывающего белка крови – трансферрина. Одной из причин понижения концентрации трансферрина в крови экспериментальных животных является его транспорт в асцит, поэтому для понимания механизмов модуляции системного гомеостаза в экспериментальной модели асцитной опухоли производился мониторинг концентрации железа и железо-связывающей способности в плазме крови и асците. Установлено, что общая железосвязывающая способность в плазме уменьшается, а концентрация железа увеличивается.

Работа поддержана проектами Министерства Образования и Науки РФ согласно тематическому плану ЕЗН №1.4.11 и программой РНП грантом № 2.1.1/12035.

ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙРОН-ГЛИАЛЬНЫХ СЕТЕЙ IN VITRO В УСЛОВИЯХ ГЛЮКОЗНОЙ ДЕПРИВАЦИИ

Балашова А.Н.¹, Ведунова М.В.^{1,2}, Мухина И.В.^{1,2}

¹Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского; ²Нижегородская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития, Нижний Новгород (Россия)

E-mail: len4ik2411@mail.ru

Острая и хроническая недостаточность мозгового кровоснабжения является одним из наиболее распространенных заболеваний, приводящих к временной дисфункции или стойкому повреждению ткани мозга и глубокой инвалидизации больных. Поэтому исследование патогенеза ишемии и поиск способов защиты мозга от её последствий является одной из наиболее актуальных проблем в современной биологии и медицине. Одним из факторов ишемии мозга является дефицит потребления клетками важного субстрата окислительного метаболизма – глюкозы.

Для изучения механизмов адаптации нейронов к хронической глюкозной депривации была выбрана модель культивирования диссоциированной культуры гиппокампа на мультиэлектродной матрице MED64 (Alpha MED Sciences, Japan), позволяющей неинвазивно регистрировать электрическую и метаболическую активность нейронных сетей на протяжении длительного периода *in vitro*. Глюкозную депривацию моделировали заменой питательной среды на безглюкозную среду на 20 и 60 мин. Маркёрами метаболической активности нейрон-глиальных сетей диссоциированной культуры гиппокампа являлись содержание лактата, глюкозы (оценивали с помощью диагностических наборов Vital Diagnostic), количество окислительных модификаций белков (Дубинина, 1995), активность антиоксидантной системы (БХЛ метод, Кузнецова, 1983).

После кратковременной глюкозной депривации было отмечено увеличение потребления лактата в 2 раза в первые сутки по сравнению с контролем, увеличение количества окислительных модификаций белков, снижение антиоксидантной активности. Потребление глюкозы клетками при этом практически не увеличивалось. На седьмой день после глюкозной депривации в культуре было обнаружено большое количество некротизированных элементов. Повторная, более длительная глюкозная депривация, повышала резистентность нейронов к дефициту энергетического субстрата, количество выживших нейронов после повторной глюкозной депривации было значительно выше.

ВЛИЯНИЕ ВАЗОПРЕССИНА АВП(6-9) НА ПОВЕДЕНИЕ БЕЛЫХ КРЫС

Урина А.П.

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, биологический факультет, Москва (Россия)

E-mail: sakura107@ya.ru

Вазопрессин - гипофизарный нейрогормон с широким спектром биологических действий. Было обнаружено, что в результате протеолитического расщепления вазопрессина ферментами крови образуются метаболические фрагменты, некоторые из которых влияют на поведенческую активность.

Согласно литературным данным, функционально-важным участком в молекуле является его С-концевая последовательность. Гипотетическое моделирование процессов деградации молекулы позволило установить, что наиболее вероятными метаболическим продуктами с С-концевым участком АVP являются фрагменты АVP4-9, АVP5-9 и АVP6-9.

Исследования фрагментов АVP4-9 и АVP5-9 подтвердили предположение о влиянии данных фрагментов на поведенческие реакции. Однако данных о роли фрагмента АVP6-9 в поведении млекопитающих в открытых литературных источниках обнаружено не было.

Нашей задачей являлось исследование влияния острого введения фрагмента АВП(6-9) на ориентировочно-исследовательское поведение, уровень тревожности и степень депрессивности белых крыс.

Исследование проводилось на половозрелых самцах нелинейных белых крыс массой 220-250 г. Препарат вводили интраназально в объеме 1 мкл/10 г массы тела за 5 и 30 минут до тестирования в дозах 10,0 мкг/кг, 1,0 мкг/кг, 0,1 мкг/кг и 0,01 мкг/кг. Контрольным животным вводили эквивалентный объем растворителя (дистиллированной воды).

Ориентировочно-исследовательское поведение (ОИР) животных исследовали в тестах «открытое поле» («бесстрессорная» и «стрессогенная» модификации) и «норковая камера», уровень тревожности - в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» и «светлая-темная камера». При интраназальном введении во всех дозах за 5 минут до начала эксперимента значительных изменений не наблюдается, животные не обучаются. При введении тех же доз за 30 минут до начала эксперимента наблюдается увеличение ОИР на фоне повышенной тревожности.

Данные результаты не позволяют сделать однозначных выводы из-за небольшого количества животных в каждой дозе. Требуется дополнительные эксперименты и, возможно, применение других экспериментальных методов.

ЭФФЕКТ ХОЛЕСТЕРОЛ ОКСИДАЗЫ НА СЕКРЕЦИЮ МЕДИАТОРА ИЗ ДВИГАТЕЛЬНЫХ НЕРВНЫХ ОКОНЧАНИЙ ЛЯГУШКИ И МЫШИ

Тараканова О.И., Зефирова А.Л.

Казанский государственный медицинский университет, Казань (Россия)

E-mail: *oksana4091985@rambler.ru*

Роль мембранных липидов в процессах экзоцитоза везикул не до конца понятна. Например, мембранный холестерин помогает контролировать текучесть мембран, что важно для способности мембран деформироваться и сливаться. Сегрегация белков экзоцитоза и Са-каналов в так называемые «липидные плотники», содержащие холестерин в высокой концентрации, может быть важным механизмом управляющим сливанием везикулы.

В настоящей работе делается попытка оценить влияние холестерина мембран на процессы секреции медиатора из двигательных нервных окончаний. Для инактивации функций холестерина мембраны применяли холестерол оксидазу с ферментативной активностью 1 единица, который добавляли в перфузируемый раствор на 30 мин. Эксперименты проводили на кожно-грудинной мышце лягушек и диафрагмальной мышце мышей. Регистрацию миниатюрных токов концевой пластинки (МТКП) осуществляли внеклеточно с использованием стеклянных микроэлектродов.

В контроле частота МТКП у лягушки и у мыши составила, соответственно, $0,33 \pm 0,04 \text{ с}^{-1}$ ($n=10$, $p<0,05$) и $1 \pm 0,12 \text{ с}^{-1}$ ($n=6$, $p<0,05$). Время нарастания и полуспада МТКП у лягушки составили $0,25 \pm 0,01$ и $1,00 \pm 0,05$ мс ($n=10$, $p<0,05$), а у мыши $0,27 \pm 0,16$ и $0,92 \pm 0,12$ мс ($n=6$, $p<0,05$). Получасовая аппликация в холестерол оксидазе приводила к снижению частоты МТКП до $0,15 \pm 0,01 \text{ с}^{-1}$ ($n=5$, $p<0,05$) у лягушек, и до $0,74 \pm 0,24 \text{ с}^{-1}$ ($n=6$, $p<0,05$) у мышей. Кроме того, окисление мембранного холестерина холестерол оксидазой изменяла амплитудно-временные параметры МТКП, как у лягушек, так и у мышей. Так, время нарастания при получасовой аппликации в холестерол оксидазе у лягушек составила $0,38 \pm 0,04$ мс, а у мышей $0,3 \pm 0,04$ мс, а время полуспада увеличилось до $1,4 \pm 0,05$ мс ($n=5$, $p<0,05$) и $1,2 \pm 0,05$ мс ($n=6$, $p<0,05$).

По результатам можно сказать, что присутствие и состояние холестерина в мембране НО необходимо для обеспечения эффективного процесса секреции медиатора.

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ДОФАМИНА НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ

Парнышкова Е.Ю.

Учреждение Российской академии наук Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино (Россия)

E-mail: *scroll_live@rambler.ru*

В настоящей работе мы приводим ряд экспериментальных фактов, показывающих, что в живой клетке мишенью для дофамина является глобулярный актин цитозоля. В нормальной

клетке актиновые пучки участвуют в создании формы клеток, обеспечении подвижности и способности плотно контактировать друг с другом, создавая ткань. На построение таких волокон используется практически весь пул актина. В опухолевой же клетке основная масса актина находится в глобулярном виде. Эти данные дали нам основу предположить, что можно воздействовать на опухолевую клетку с помощью препаратов, которые способны проникать в неё и индуцировать формирование в цитозоле актиновых волокон, тем самым делая клетку жесткой и малоподвижной. Исследований в этом направлении ранее не проводилось. Это явилось целью нашей работы.

В ходе работы изучалось действие дофамина, вводимого в среду культивирования, на выживаемость, гистологию и ультраструктуру опухолевых клеток Нер-2. На данный момент нами установлено, что пропорционально сроку инкубации и концентрации дофамина жизнеспособность клеток сильно снижается, а их морфология повреждается из-за прогрессивного лизиса. То есть, дофамин действительно является цитотоксическим веществом для опухолевой клетки. По данным электронной микроскопии в цитоплазме клеток, где в контроле доминирует глобулярный актин, под воздействием дофамина формируется густая сеть актиновых нитей, в том числе и отдельные нити, разрывающие поверхностную мембрану. Имеются все основания утверждать, что терапевтической мишенью дофамина в клетках служит глобулярный актин, и что именно его полимеризация вызывает гибель опухолевых клеток. Предполагается, что дофамин может служить проникающим инструментом для исследования роли актина в клетках, и прототипом для конструирования на его основе новых терапевтических противоопухолевых препаратов.

Работа поддержана грантами: ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России», государственный контракт № 02.740.11.0301.

ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ АМРА-РЕЦЕПТОРОВ В ГИППОКАМПЕ КРЫС С НАСЛЕДСТВЕННОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬЮ К СУДОРОГАМ

Савина Т.А., Щипакина Т.Г.

Учреждение Российской академии наук Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино (Россия)

E-mail: *neurochem@mail.ru*

Известно, что глутаматные рецепторы и Ca^{2+} /кальмодулин-зависимая протеинкиназа II (CaMKII) являются важнейшими составляющими комплекса, определяющего нейротрансмиссию в глутаматергических нейронах гиппокампа. CaMKII фосфорилирует GluR1-субъединицы АМРА-подтипа глутаматного рецептора по серину-831, что способствует увеличению ионной проводимости рецептора.

Нами показано, что в гиппокампе крыс линии Крушинского-Молодкиной (КМ), обладающих наследственной предрасположенностью к аудиогенным судорогам, функционирование АМРА-рецепторов изменено по сравнению с нормой. Так, методом иммуноблота с использованием специфических антител выявлено, что содержание GluR1-субъединицы АМРА-рецептора в гиппокампе крыс линии КМ значительно повышено по сравнению с группой крыс Вистар, у которых звук не вызывает судороги ($170,38 \pm 16,25\%$ и $100 \pm 11,06\%$, $p < 0,01$).

Содержание фосфоформы ф831-GluR1 в гиппокампе крыс данных групп животных не различалось, однако, учитывая повышенное содержание GluR1 в гиппокампе крыс линии КМ, можно предположить, что степень Ca^{2+} /кальмодулин-зависимого фосфорилирования GluR1 в гиппокампе КМ ниже. Хронические 20-ти кратные судороги (аудиогенный киндлинг) приводили к еще большему увеличению уровня GluR1 в гиппокампе крыс линии КМ ($194,67 \pm 26,82\%$) по сравнению с группой интактных крыс КМ ($100 \pm 10,99\%$, $p < 0,01$); уровень ф831-GluR1 при этом не изменялся.

По данным литературы, изменение содержания GluR1 играет важную роль в регуляции нейрональной пластичности не только посредством изменения проводимости постсинаптических ионных каналов, но и на ультраструктурном уровне. Так, показано, что повышенная экспрессия GluR1 способствует увеличению размера синаптических шипиков и

сопровождается увеличением эффективности синаптической передачи. Вероятно, выявленный нами повышенный уровень GluR1 и снижение фосфорилирования субъединицы в гиппокампе крыс линии КМ являются одной из составляющих эпилептического фенотипа и зависят от функциональной активности нейронов гиппокампа.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант №09-04-01254) и ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы, госконтракт №П610.

СПОСОБЫ ИНДУКЦИИ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ НЕЙРОНОВ К β -АМИЛОИДУ

Коканова Н.А.

Учреждение Российской академии наук Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино (Россия)

E-mail: *kokanchik@rambler.ru*

Изучение действия амилоида на нейроны способствует расшифровке механизмов развития нейродегенеративных заболеваний и разработке подходов к их предотвращению. Бесспорно, это важный вопрос в рамках социального статуса болезни. Чтобы остановить начавшийся процесс развития дегенерации, необходимо выбрать мишень, на которую надо воздействовать, чтобы предотвратить патологические ее проявления, и знать, чем это можно сделать. Амилоид сам по себе в организме естественен, но его агрегаты вызывают дистрофию, что показали наши эксперименты, проведенные на маутнеровских нейронах, идентифицированных командных нейронах в продолговатом мозге золотых рыбок, при моделировании клеточного амилоидоза. Воздействие образований амилоида, представляющих собой модель бляшки, изменяло структуру нейронов, вызывая интегральную атрофию одних отростков, гипертрофию других, искажение размеров и формы, рассогласованность морфофункциональной активности.

Изученные ранее детали проявления амилоидоза на уровне индивидуальных нейронов помогли сделать предположения о возможных механизмах действия амилоида и разработать способы предотвращения повреждения нейронов. Одним из таких выбранных подходов была адаптация нейронов к повторяющимся сенсорным стимуляциям. Было установлено, что они вырабатывают устойчивое состояние цитоскелета, чем защищают нейроны от дальнейшего воздействия амилоидных лент и в сочетании с утомительной однократной стимуляцией.

Такой же укрепляющий эффект наблюдали и при действии дофамина, апплицируемого в область расположения изучаемых нейронов. Он оказывал стимулирующий эффект и одновременно предохранял морфологию и функцию нейронов от повреждающего действия бета-амилоидных агрегатов, проявляя профилактические и терапевтические свойства. Положительный эффект дофамина, по ультраструктурным данным *in vitro*, обусловлен тем, что дофамин оказывает диссоциирующее действие на агрегаты амилоида. Предположено, что вышеизложенные способы укрепления структуры нейронов тренировочными стимуляциями и с помощью разрушения амилоидных бляшек дофамином можно использовать для профилактики и лечения развившегося амилоидоза.

Работа поддержана грантом РФФИ №09-04-00451а, и ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» ГК №02.740.11.0301.

ИНДУКЦИЯ ГИБЕЛИ РАКОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА СИСТЕМОЙ CD/UPRT/5-FC ПОД КОНТРОЛЕМ РАЗЛИЧНЫХ ПРОМОТОРОВ

Кузьмин Д.В., Кузьмич А.И., Виноградова Т.В., Копанцев Е.П., Свердлов Е.Д.
Учреждение Российской академии наук Институт биоорганической химии им. акад. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Москва (Россия)

E-mail: *denisk@list.ru*

Цель исследования. Существенным недостатком использования опухоль-специфических промоторов в генотерапии рака является их сравнительно низкая активность. Возможным

решением данной проблемы могло бы стать внедрение системы Cre-LoxP. В такой бинарной системе: активационная кассета содержит ген *Cre* под контролем слабого опухоль-специфического промотора; киллерная кассета содержит суицидальный ген, отделённый от сильного конститутивного промотора сигналами полиаденилирования, фланкированными сайтами узнавания Cre рекомбиназы.

Материалы и методы. Фрагменты генов цитозиндезаминазы (*yCD*) и урацил фосфорибозилтрансферазы (*yUPRT*) амплифицировали и клонировали в вектор pGL3-Basic («Promega»). Оба гена находились в одной рамке считывания. Гибридный ген *yCD/yUPRT* клонировали под контроль различных промоторов. Функциональную активность полученных конструкций анализировали методом трансфекции клеток и Western blot анализа с антителами к цитозиндезаминазе. Для повышения активности промотора гена *BIRC5* использовали модифицированную систему Cre-LoxP. Количественную оценку цитотоксического эффекта экспрессионных конструкций проводили при помощи MTS.

Результаты. Были созданы экспрессионные конструкции на основе вектора pGL3-Basic Vector («Promega»), несущие гибридный ген *yCD/yUPRT (FCUI)* под контролем двух промоторов: CMV и BIRC5. Была продемонстрирована эффективность полученных экспрессионных конструкций в фторцитозин-зависимой супрессии клеточного роста на модели клеток линий HEK293, Calu1 и A549. Было показано, что с помощью бинарной модифицированной системы Cre-LoxP//pCMV-Stop-*FCUI* можно существенно повысить чувствительность раковых клеток к 5-FC. При этом специфичность экспрессии *FCUI* сохранялась. Были подобраны оптимальные условия для использования данной терапевтической системы.

Заключение. Использование модифицированной системы Cre-LoxP позволило существенно увеличить экспрессию гена *FCUI*, находящегося под контролем опухоль-специфического промотора. Описанная в работе система усиления специфической экспрессии гена *FCUI* в дальнейшем будет испытана на различных культурах раковых клеток и на экспериментальных животных и может быть использована в решении задач генной терапии.

ПРОЯВЛЕНИЕ ПЛАСТИЧНОСТИ НЕЙРОНОВ ПРИ ИХ ЧАСТИЧНОЙ ДЕАФФЕРЕНТАЦИИ И ДОПОЛНИТЕЛЬНЫХ СЕНСОРНЫХ НАГРУЗКАХ

Григорьева Е.Е.

Учреждение Российской академии наук Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино (Россия)

E-mail: grigorieva2003@mail.ru

Структурные, физиологические и биохимические механизмы пластичности мозга, его морфофункциональной изменчивости под влиянием внешней среды, до сих пор до конца не выяснены. Для их изучения используют простые нейронные системы, в частности, маутнеровские нейроны (МН) золотой рыбки. Сoma и латеральный дендрит каждого МН иннервируются от вестибулярного аппарата, расположенного на той же стороне тела, а вентральный дендрит – от глаза с противоположной стороны тела.

Проведенное исследование показало, что дезактивация зрительного афферентного входа приводит к сдвигу моторной асимметрии рыбки в сторону удаленного глаза (т.е. увеличивается функциональная активность противоположно расположенного МН). При этом усиление функциональной активности МН в одних случаях связано с дистрофией вентрального дендрита, в других – с гипертрофией сомы и латерального дендрита МН. Очевидно, что происходящая структурная перестройка нейрона – это сохранение информации об изменении активности афферентного входа, то есть структурный след приспособительной реакции организма к изменившимся условиям существования.

Дополнительные сенсорные нагрузки (оптокинетическая и вестибулярная унилатеральные стимуляции) на интактные анализаторы рыб, подвергшихся односторонней энуклеации глаза, также отразились на структуре их МН. Показано, что при сочетании энуклеации одного глаза и естественной стимуляции неповрежденного афферентного входа наблюдается атрофия обоих вентральных дендритов, каждый из которых приводит к усилению функциональной активности

«своего» нейрона. При этом наблюдается конкуренция зрительного и статоакустического входа.

Таким образом, проведенное исследование показало, что изменение функционального состояния нейрона при различных напряжениях сенсорных анализаторов, имеющих на нем свое представительство, сопровождается перестройкой дендритной архитектуры. При этом в отличие от латерального дендрита МН, размер которого прямо коррелирует с эффективностью нейрона, размер вентрального дендрита того же нейрона влияет на интегральную функциональную активность по принципу отрицательной обратной связи.

МЕЖСТРУКТУРНЫЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ В ОТДЕЛАХ ЛИМБИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ И ЧАСТОТНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИХ ПОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ

Асташева Е.В.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН; Пушкинский государственный университет, Пушкино (Россия)

E-mail: *litgara@rambler.ru*

Гиппокамп, медиальная и латеральная септальные области (МС и ЛС, соответственно), зубчатая фасция (ЗФ), амигдала, супрамамиллярное ядро (СМЯ), энторинальная и фронтальная кора связаны друг с другом в единую лимбическую систему. Используя вживленные электроды, у морских свинок регистрировали ЭЭГ и анализировали ритмы: тета (4-8 Гц), альфа (10-12 Гц), гамма (40-80 Гц), рипплзы (100-200 Гц); корреляционные межструктурные отношения.

Проведенный анализ показал наибольшую мощность тета-ритма на частоте 4.2 Гц в гиппокампе (377.1 ± 54.8 мВ²Гц), ЗФ (294.6 ± 41.4 мВ²Гц), ЛС (394.8 ± 48.9 мВ²Гц) и таламусе (481.1 ± 47.2 мВ²Гц). Коэффициент кросскорреляции (Ккр) по тета-частоте был наиболее высок (0.5-0.6) между структурами: амигдала-МС, амигдала-ЛС, МС-ЛС, ЗФ-гиппокамп, гиппокамп-ЛС. Наибольшая мощность альфа-ритма (10.1-10.24 Гц) равнялась в таламусе (91 ± 8.2 мВ²Гц), в СМЯ (83.9 ± 13.5 мВ²Гц), в ЛС (72.6 ± 9 мВ²Гц), в гиппокампе (72.1 ± 9.5 мВ²Гц). Ккр для альфа-частоты был наиболее высок (0.5-0.6) между структурами: ЭК-СМЯ, ЭК-ЗФ, ЭК-таламус, СМЯ-ЛС, амигдала-МС, амигдала-ЛС, МС-ЛС, ЗФ-гиппокамп, гиппокамп-ЛС, таламус-ЛС. Наибольшая мощность гамма-ритма (45.4-49.5 Гц) равнялась в таламусе (8 ± 0.36 мВ²Гц), в СМЯ (7.47 ± 0.6 мВ²Гц). Ккр по гамма-частоте по всем структурам был ниже 0.3. Наибольшая мощность рипплз (135.4-143 Гц) равнялась в таламусе (3.7 ± 0.12 мВ²Гц), в ЭК (3.6 ± 0.14 мВ²Гц), в гиппокампе (3.54 ± 0.12 мВ²Гц). Между всеми структурами наблюдалась низкая отрицательная корреляция по рипплз-ритму.

В работе показаны наличие тета-ритма относительно высокой мощности в некоторых образованиях лимбической системы (прежде всего, в гиппокампе), а также высокая корреляция на тета-частоте гиппокампа и МС с другими структурами.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 09-04-00261-а), Президента РФ (грант МК-2235.2007), Министерства образования и науки РФ (номер проекта 2.1.1/2280) и ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России (№ Госконтракта П601).

ЭФФЕКТЫ СЕРОВОДОРОДА НА СЕКРЕЦИЮ МЕДИАТОРА В УСЛОВИЯХ ИЗМЕНЕНИЯ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО Ca^{2+} КОФЕИНОМ И РИАНОДИНОМ

**Герасимова Е.В., Хаертдинов Н.Н., Яковлева О.В., Валиуллина Ф.Ф.,
Имукова А.А.**

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань (Россия)

E-mail: *levchenkova_elena@rambler.ru*

Сероводород (H₂S) – эндогенно синтезируется в различных тканях организма. H₂S модулирует синаптическую активность в периферической и центральной нервной системе,

является гладкомышечным релаксантом, защищает нейроны и сердечную мышцу от оксидативного стресса.

Целью работы являлось исследование роли рיאнодиновых рецепторов внутриклеточных Ca^{2+} -депо в эффектах сероводорода на секрецию медиатора из нервно-мышечного синапса холоднокровных животных. Эксперименты проводили на нервно-мышечном препарате кожно-грудинной мышцы озерной лягушки с использованием внеклеточного микроэлектродного отведения токов концевой пластинки (ТКП) в условиях нормальной внеклеточной концентрации ионов Ca^{2+} в растворе.

Добавление донора H_2S - NaHS (300 мкМ) приводило к обратимому усилению вызванной секреции медиатора. Наблюдалось увеличение амплитуды ТКП, которое к 40 минуте действия NaHS достигала $194 \pm 6\%$ ($n=5$, $p<0.05$) относительно контроля.

Выброс депонированного Ca^{2+} из цистерн эндоплазматического ретикулаума может приводить к подъему цитоплазматического Ca^{2+} и увеличению секреции медиатора. Для анализа влияния сероводорода на внутриклеточные Ca^{2+} -депо использовали активатор рיאнодиновых рецепторов (Ри-рецептор) – кофеин (3 мМ) и ингибитор Ри-рецепторов – рיאнодин (10 мкМ). Связывание кофеина с Ри-рецептором сенсibiliзирует его к ионам Ca^{2+} и открывает Ca^{2+} -канал. Добавление в перфузионный раствор кофеина (3 мМ) вызывало увеличение амплитуды ТКП, которая к 10 минуте составила $128 \pm 10\%$ ($n=6$; $p<0.05$) относительно контроля. Аппликация NaHS (300 мкМ) на фоне действия кофеина не приводило к изменению амплитуды ТКП.

Добавление рיאнодина (10 мкМ) достоверно не изменял амплитуды ТКП, она составила $105 \pm 8\%$ ($n=4$; $p<0.05$). На фоне блокирования Ри-рецепторов Ca^{2+} -каналов аппликация NaHS (300 мкМ) также не приводила к достоверным изменениям амплитуды ТКП.

Полученные данные позволяют предположить, что активация Ри-рецепторов внутриклеточных Ca^{2+} -депо частично опосредует усиление секреции медиатора при действии сероводорода.

СЕРОТОНИН И FMRFAMIDE В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ ЦЕРКАРИИ *TRICHOBIHARZIA SZIDATI* NEUHAUS, 1951 (*TREMATODA*)

Рудакова Е.А., Толстенков О.О., Осипова О.С., Теренина Н.Б.

Учреждение Российской академии наук Институт проблем экологии и эволюции им.
А.Н.Северцова РАН, Москва (Россия)

E-mail: otolo@rambler.ru

Трематоды являются возбудителями многих опасных заболеваний животных и человека. Исследование нейробиологических основ их жизнедеятельности дает ключ к поиску новых антипаразитарных средств, имеющих в качестве мишени нервную систему гельминтов.

В настоящей работе мы исследовали церкарий трематоды *Trichobilharzia szidati*, вызывающих церкариозный дерматит, имеющих важное медицинское и экономическое значение в странах Европы и в России. При использовании иммуноцитохимического метода и конфокальной сканирующей лазерной микроскопии нами были исследованы серотонинергические и пептидергические компоненты в нервной системе церкарии этого вида.

Серотонинергические и пептидергические элементы выявлены в центральных и периферических отделах нервной системы церкарии трематоды *T. szidati*. Полученные результаты дают основание говорить об иннервации данными элементами мускулатуры переднего органа и брюшной присосок, важного органа локомоции – хвоста церкарии. Следует отметить, что особенно хорошо выражена иннервация мускулатуры брюшной присоски именно серотонинергическими нервными волокнами. Как и у других трематод и их личинок, окраска на FMRFамидергические элементы в нервной системе церкарии *T. szidati* является более сильной, чем на серотонинергические.

Работа была выполнена при поддержке грантов РФФИ №№ 09-04-00243а, 11-04-00762-а и Президента РФ МК-1093.2011.4.

ВЛИЯНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА ТЕЧЕНИЕ ПИЕЛОНЕФРИТА У КРЫС

Рогачева Н.В.¹, Певзнер И.Б.¹, Сухих Г.Т.², Зоров Д.Б.¹, Плотников Е.Ю.¹

¹Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова;

²ФГУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И.Кулакова», Москва (Россия).

E-mail: natalya-rg@mail.ru

Пиелонефрит - неспецифическое инфекционно-воспалительное заболевание почек бактериальной этиологии, характеризующееся поражением слизистой оболочки мочевых путей и паренхимы почек. Длительное и рецидивирующее течение этого заболевания может приводить к развитию хронического пиелонефрита, а в последствии к развитию хронической почечной недостаточности. Эффективность терапии пиелонефрита, как правило, невысока, поэтому интенсивно ведутся исследования альтернативных методов лечения, в частности, использование различных типов стволовых клеток.

Существуют данные о положительном влиянии мезенхимальных мультипотентных стромальных клеток (ММСК) на воспалительный процесс за счет секреции комплекса цитокинов с противовоспалительным и антиапоптотическим действием. Кроме того, эти клетки способны ингибировать аутоиммунный компонент хронического воспаления за счет иммунодепрессивного действия.

В работе у крыс моделировали острый пиелонефрит путем введения в мочевой пузырь суспензии фекальных бактерий. На этой модели изучали влияние внутривенного введения суспензии ММСК на воспалительный ответ и повреждение почки. У животных наблюдали развитие инфекционно-воспалительного процесса: увеличение концентрации лейкоцитов в моче и крови, сдвиг лейкоцитарной формулы крови вправо. При этом происходила активация лейкоцитов крови, что выражалось в повышении генерации ими активных форм кислорода (АФК). Результатом этого явилось развитие окислительного стресса в тканях почки, наблюдаемое по повышению уровня малонового диальдегида (МДА). Гистологически выявлялись признаки воспаления и повреждения ткани почки. При введении ММСК наблюдали снижение выраженности воспалительного процесса: уменьшалось количество лейкоцитов в моче, а также относительное количество нейтрофилов в крови и генерация АФК лейкоцитами. Введение ММСК приводило к уменьшению окислительного повреждения ткани почки, снижению уровня МДА, а также уменьшению выраженности гистологических изменений.

Таким образом, выявлено иммуномодулирующее действие ММСК, снижающее воспалительное повреждение ткани почки при пиелонефрите.

СЕРОТОНИНЕРГИЧЕСКИЕ КОМПОНЕНТЫ В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ МЕТАЦЕРКАРИИ *MICROPHALLUS PIRIFORMIS* ODHNER, 1905 (*TREMATODA*)

Рудакова Е.А., Осипова О.С., Толстенков О.О., Теренина Н.Б.

Учреждение Российской академии наук Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н.Северцова РАН, Москва (Россия)

E-mail: otolo@rambler.ru

Как показывают данные литературы и результаты наших исследований, деятельность нервной системы паразитических плоских червей осуществляется с участием ряда нейромедиаторных веществ, включая серотонин, катехоламины, нейропептиды, ацетилхолин и др. Наиболее изученными в этом отношении являются взрослые формы паразитов, тогда как нервная система и нейрональные сигнальные вещества на различных стадиях жизненного цикла паразитов, в частности трематод, остаются менее исследованными.

В настоящей работе объектом нашего исследования явились неинцистированные метацеркарии трематоды *Microphallus piriformis*, имеющих тенденцию к прогенетическому развитию, т.е. обладающие полностью сформированным половым аппаратом. При

использовании иммуноцитохимического метода и конфокальной сканирующей лазерной микроскопии нами были исследованы серотонинергические компоненты в нервной системе метацеркарии *Microphallus piriformis*.

Серотонинергические элементы выявлены в центральных и периферических отделах нервной системы метацеркарии *M. piriformis*. Полученные результаты дают основание говорить об иннервации мускулатуры ротовой и брюшной присосок. Вблизи полового отверстия метацеркарии обнаружены серотонинергические нервные клетки и волокна. Это свидетельствует о том, что нервная система личиночных форм трематод, которые имеют тенденцию к прогенетическому развитию, уже на этой стадии осуществляет регуляцию деятельности репродуктивного аппарата паразита.

Работа была выполнена при поддержке грантов РФФИ №№ 09-04-00243а, 11-04-00762-а и Президента РФ МК-1093.2011.4.

НАРУШЕНИЯ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ПАМЯТИ КРЫС, ВЫЗВАННЫЕ ВВЕДЕНИЯМИ ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 β В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

Трофимов А.Н.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: atr1707@mail.ru

Нарушение когнитивных функций у детей и взрослых часто является следствием родовых травм, мозговой ишемии, гипоксии, аллергических и инфекционных заболеваний, перенесенных ими в неонатальный период. Эти патологические состояния сопровождаются высокой продукцией провоспалительных цитокинов, в частности, интерлейкина-1 β (ИЛ-1 β) в клетках нервной и иммунной систем. Целью данной работы является изучение влияния неонатальных введений умеренно пирогенных доз ИЛ-1 β на формирование пространственной памяти крыс в половозрелом возрасте.

Работа выполнена на крысах породы Wistar, самцах. При формировании экспериментальной и контрольной групп одной части животных в каждом помете вводили ИЛ-1 β , другой – апирогенный физиологический раствор, часть животных оставляли интактными. Тестирование поведения проводили в водном лабиринте Морриса в возрасте 2,5 месяцев. В течение 4-х дней (по 4 попытки в день) животных обучали отыскивать площадку, находящуюся под водой на фиксированном месте. Оценивали время поиска, скорость передвижения, длину пройденного пути. В пятый день проводили тестирование динамики условно-рефлекторной деятельности животных: помещали платформу на новое место, оценивали время поиска платформы и пройденный путь (по 4 попытки в течение двух экспериментальных дней).

Выявлено нарушение долговременной пространственной памяти у крыс, которым в детстве вводили ИЛ-1 β : в первой попытке 4-го дня опытные крысы тратили больше времени и проплывали большую дистанцию при поиске платформы по сравнению с контрольными и интактными животными. При помещении платформы в новое место опытные крысы, как и контрольные, достаточно быстро учились ее находить, однако при тестировании на следующий день, они медленнее находили площадку.

Таким образом, тестирование животных в водном лабиринте Морриса выявило нарушения пространственной (в большей степени долговременной, но не кратковременной) памяти у взрослых крыс, которым вводили ИЛ-1 β в течение 3-ей недели жизни.

РАЗРАБОТКА И ИССЛЕДОВАНИЕ НОВОГО КЛАССА АНТИОКСИДАНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ НАНОКРИСТАЛЛИЧЕСКОГО ДИОКСИДА ЦЕРИЯ

Попов А.Л.

Пущинский государственный университет, Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино (Россия)

E-mail: toshka_bf@mail.ru

Диоксид церия является одним из самых сильных антиоксидантов: разовая доза наночастиц диоксида церия защищает клетки от свободных радикалов больше, чем разовое или многократное использование витамина Е, β -каротина, *n*-ацетилцистеина или мелатонина. Повышение антиоксидантной активности CeO_2 происходит при снижении его размеров до нескольких нанометров, при наночастицы CeO_2 в отличие от традиционных антиоксидантов, которые необратимо инактивируются после окисления, обладают уникальной способностью регенерировать свои восстановительные свойства в любой биологической среде.

Получение стабильных водных золей было проведено в ИОНХ РАН. Проведено исследование агрегативной устойчивости наночастиц CeO_2 в водных золях и культуральных средах, показано, что присутствие сыворотки стабилизирует размеры наночастиц CeO_2 , что позволяет проводить их введение в кровотоки.

Выявлена внутриклеточная локализация наночастиц CeO_2 и показано отсутствие их цитотоксического воздействия на клетки L929,HEP-2 в диапазоне концентраций от 10^{-5} до 10^{-9} М. Показано протекторное воздействие наночастиц CeO_2 на культуры клеток в условиях окислительного стресса индуцируемого воздействием перекиси водорода, УФ-облучением и в условиях облучения низкотемпературной аргоновой плазмой. Проведенное исследование параметров клеточного цикла и активности дегидрогеназ позволило предположить, что стимулирующее воздействие CeO_2 на клетки и повышение их жизнеспособности в условиях окислительного стресса вызваны усилением процессов биосинтеза и дыхательной активности клеток.

Результаты данных исследований могут стать основой для создания новых антиоксидантных препаратов, предназначенных для предотвращения или устранения негативного воздействия на организм, вызываемого окислительным стрессом. Следует особо отметить, что данные препараты могут быть использованы в качестве протекторного средства в новой технологии лечения ран, инфицированных антибиотикорезистентной микрофлорой, использующей физическое воздействие потока высокоактивных частиц низкотемпературной аргоновой плазмы. Водные золи наночастиц диоксида церия также могут войти в качестве УФ-фильтров в состав препаратов солнцезащитной косметики.

«ОТСТАВЛЕННАЯ» ПОЛОЖИТЕЛЬНАЯ ИНОТРОПНАЯ РЕАКЦИЯ ПРИ АКТИВАЦИИ β_2 -АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ ИЗОЛИРОВАННЫХ ПРЕДСЕРДИЙ МЫШИ

Одношивкина Ю.Г., Петров А.М.

Казанский государственный медицинский университет, Казань (Россия)

E-mail: odnoshivkina_y@mail.ru

Катехоловые амины (адреналин и норадреналин), регулируют деятельность сердца, связываясь с адренорецепторами. Особое внимание привлекают β_2 -адренорецепторы, доля которых в сердце достигает 30-40%. Данный подтип рецепторов способен к спонтанной активации и обладает кардиопротекторными свойствами, а также может одновременно запускать сигнальные каскады, разнонаправлено регулирующие силу сокращения кардиомиоцитов.

С помощью тензометрического метода исследовали влияние селективного агониста β_2 -адренорецепторов (фенотерола) на функционирование предсердий мыши.

Аппликация селективного агониста β_2 -адренорецепторов фенотерола (5 мкМ) приводила к увеличению амплитуды сокращений предсердий через 15-20 мин. после добавления агониста в раствор. К 30 мин. действия фенотерола амплитуда сокращений возрастала до $137 \pm 3\%$ ($n=5$, $p \leq 0,05$). Впоследствии амплитуда сокращений очень медленно снижалась. Положительный инотропный эффект фенотерола полностью исчезал на фоне селективного блокатора β_2 -адренорецепторов – 0,1 мкМ ICI-118,551 ($n=4$, $p \leq 0,05$).

Для выяснения причины длительного развития эффекта были проведены дополнительные эксперименты, в которых раствор с фенотеролом через 20 мин. заменяли на раствор Кребса. Оказалось, что сила сокращений увеличивалась, несмотря на отсутствие фенотерола в растворе. Через 10 мин. после удаления фенотерола из раствора амплитуда сокращений достигала $141,6 \pm 4,1\%$ ($n=8$, $p \leq 0,01$), впоследствии амплитуда постепенно уменьшалась. Таким образом,

отставленный эффект агониста β_2 -адренорецептора связан с запуском медленно развивающихся внутриклеточных сигнальных систем.

Также, ингибирование β_2 -адренорецепторов (0,1 мкМ ICI-118,551) в период после удаления агониста β_2 -адренорецепторов из внеклеточной среды приводит к быстрому снижению амплитуды сокращений и возвращению к исходному уровню (до аппликации фенотерола). Предполагается, что фармакологическая стимуляция β_2 -адренорецепторов фенотеролом увеличивает вероятность самопроизвольного перехода рецептора в активное состояние.

Работа поддержана грантами Министерства образования и науки Российской Федерации (НШ-5250.2010.4 и МК-3840.2010.4), РФФИ (№11-04-00568-а, № 11-04-00422-а) и ФЦП 02.740.11.0302.

ВЛИЯНИЕ ШТАММОВ ЛАКТО- И БИФИДОБАКТЕРИЙ НА ПРОДУКЦИЮ ОКСИДА АЗОТА МАКРОФАГАМИ ПЕРИТОНЕАЛЬНОГО ЭКСУДАТА IN VITRO

**Мокрозуб В.В., Бабенко Л.П., Лазаренко Л.М., Воронкова О.С., Шинкаренко Л.Н.,
Спивак Н.Я.**

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К.Заболотного НАН Украины,
Киев (Украина)

Днепропетровский национальный университет им. О.Гончара,
Днепропетровск (Украина)

E-mail: Vika_mokrozub@mail.ru

Неоднократно различными исследователями отмечалась роль лакто- и бифидобактерий в усилении функциональной активности моноцитов/макрофагов в отношении внутриклеточных патогенов путем увеличения уровня NO, гидроксильных радикалов и продукции цитокинов. В связи с этим целью нашей работы было определение влияния потенциально пробиотических штаммов лакто- и бифидобактерий на продукцию NO макрофагами перитонеального экссудата (МФПЭ) и их кислородзависимую бактерицидную активность *in vitro*.

Исследование проведено на мышах линии Balb/c весом 18-20 г. Использованы лактобактерии – *Lactobacillus acidophilus* IMB В-7279, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* IMB В-7281, *L. casei* IMB В-7280 и бифидобактерий – *Bifidobacterium longum* VK1, *B. bifidum* VK2. Эти штаммы (лиофилизированные или убитые нагреванием, или лиофилизированные вместе с убитыми нагреванием в соотношении (1:1)) каждый отдельно культивировали с МФПЭ 24 ч при 37°C в атмосфере 5% CO₂. В культуральной среде определяли концентрацию NO с последующим расчетом индекса стимуляции МФПЭ. Установлено, что под влиянием *L. acidophilus* IMB В-7279 и *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* IMB В-7281 отдельно возрастал индекс стимуляции МФПЭ. Однако наибольший уровень активации МФПЭ обнаружен после их культивирования с *L. acidophilus* IMB В-7279 как живыми (73,23 ± 3,8%), так и инактивированными (192,24 ± 5,2%), а также живыми и инактивированными в равном соотношении (162,68 ± 2,3%).

Культивирование МФПЭ с *L. acidophilus* IMB В-7279 и *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* IMB В-7281 (отдельно) вызывало возрастание их способности к накоплению реактогенных метаболитов кислорода (НСТ-тест).

Итак, *L. acidophilus* IMB В-7279 и *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* IMB В-7281 являются перспективными для создания пробиотических препаратов для коррекции функциональной активности клеток фагоцитарной системы. Однако требуются дополнительные исследования их влияния на активность фагоцитов *in vivo* и продукцию последними регуляторных цитокинов.

ВЛИЯНИЕ НАБЛЮДЕНИЯ ЗА СОВЕРШЕНИЕМ ФИЗИЧЕСКОЙ РАБОТЫ НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ ПОСЛЕ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ

Дейнекина Т.С., Князева В.М.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: *Serpentera@mail.ru*

В 1903 г. Сеченов обнаружил положительное влияние физической нагрузки во время отдыха на восстановление работоспособности после физической работы.

Цель исследования – выяснить, влияет ли когнитивная нагрузка в виде восприятия движения на восстановление работоспособности после физической нагрузки.

В эксперименте участвовали 5 девушек и 5 юношей в возрасте от 20 до 22 лет. Исследование состояло из двух этапов (с пассивным и с активным отдыхом), каждый этап включал: фоновую запись ЭЭГ, первый блок с физической работой, первый отдых, второй блок с физической работой, второй отдых. Оба отдыха были либо пассивными, либо активными.

При пассивном отдыхе предьявлялось нединамичное изображение, при активном предьявлялось видео с рукой, сжимающей эспандер. В ходе задания на утомление испытуемым следовало сжимать кистевой динамометр с максимальной силой в ответ на звуковые стимулы.

Для характеристики утомления, до и после первого отдыха фиксировалась максимальная сила сжатия динамометра и субъективная оценка испытуемого собственной мышечной усталости по шкале Борга. Также фиксировалась сила каждого сжатия динамометра в ответ на слуховой стимул. В течение всего эксперимента при помощи ЭЭГ регистрировались значения мю-ритма испытуемого.

По полученным результатам выраженных различий между максимальной силой сжатия динамометра после пассивного и после активного отдыха получено не было. Не было получено различий между оценками испытуемых степени своей усталости по шкале Борга. Не было обнаружено выраженных отличий между значениями мю-ритма при пассивном и при активном отдыхе. Отличающиеся результаты были получены при сравнении значений силы сжатия динамометра во время выполнения задания. После активного отдыха испытуемые сжимали динамометр с большей силой, чем после пассивного.

Работа выполнена при финансовой поддержке федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России», ГК.

НАРУШЕНИЕ БЕТА-АДРЕНЕРГИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ МИОКАРДА В ГЕНЕТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Леушина А.В., Мухамедьяров М.А.

Казанский государственный медицинский университет, Казань (Россия)

E-mail: *gela-2006_86@mail.ru*

Болезнь Альцгеймера (БА) – это тяжёлое нейродегенеративное заболевание. При болезни Альцгеймера наблюдается повышенный риск сердечно-сосудистых нарушений, однако причина этого феномена не изучена. Целью данной работы явилось исследование возможных нарушений бета-адренергической регуляции инотропной функции миокарда в модели БА.

Эксперименты проводили при помощи стандартной миографической методики на полосках миокарда трансгенных мышей 8-11 месячного возраста с генетической моделью БА и мышей дикого типа такого же возраста (контроль). Сокращение миокарда вызывали электрическими стимулами.

Норадреналин (10^{-5} М) в контроле вызывал увеличение силы сокращения предсердий до 140%, желудочков – до 137%. У трансгенных мышей влияние норадреналина на сократимость предсердий не отличалось от контроля, тогда как в отношении желудочков наблюдалось уменьшение силы сокращений до 90% от начальной величины. Под действием фенотерола (избирательный агонист бета2-адренорецепторов, 50 мкМ) в контроле наблюдалось увеличение силы сокращения предсердий и желудочков до 126 и 120% от исходных величин, соответственно. В экспериментах на трансгенных мышцах фенотерол вызывал более выраженное (до 139% от исходной величины) и быстрое увеличение амплитуды сокращений предсердий; при этом фенотерол вызывал недостоверное увеличение амплитуды сокращений желудочков.

Таким образом, у мышей с моделью БА наблюдается нарушение бета-адренергической регуляции инотропной функции сердца: 1) воздействие норадреналина вызывает извращенный – отрицательный - инотропный эффект на желудочки; 2) эффекты фенотерола свидетельствуют

о возрастании роли бета2-адренорецепторов в регуляции сократимости предсердий. Вышеуказанные нарушения регуляции сердечной деятельности могут оказывать вклад в развитие сердечно-сосудистой патологии при БА.

Работа поддержана ФЦП, грантами Президента РФ, РФФИ, Carl Zeiss.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ГИРУДОТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ КЛИМАКТЕРИЧЕСКОГО СИНДРОМА

Васильева Е.А.

Государственная классическая академия им. Маймонида, Москва (Россия)

E-mail: *ea_v@list.ru*

Целью нашего исследования является доказать наличие лечебного эффекта от применения метода гирудотерапии при лечении климактерического синдрома у женщин.

В исследовании приняли участие 56 женщин в постменопаузе в возрасте от 54 до 65 лет. Все испытуемые были разделены на три группы по степени тяжести климактерического синдрома. Первая группа – легкая степень, вторая группа – средней тяжести, третья группа – тяжелая форма.

Оценка эффективности и безопасности гирудотерапии проводилась на основании динамики клинической картины климактерического синдрома и субъективных ощущений пациентов (вазомоторные состояния - приливы жара, повышенная потливость, головные боли, гипотония или гипертония, ознобы, сердцебиение; урогенитальные - сухость во влагалище, боль при половом сношении, зуд и жжение, уретральный синдром; поздние обменные нарушения - остеопороз, сердечно-сосудистые заболевания), показателей общего анализа крови, параметров биохимического анализа крови, регистрации осложнений гирудотерапии в виде регионарных лимфаденитов, синдрома приставочной реакции и др. В процессе исследования медикаментозная терапия в исследуемых группах не применялась. Ранее применяемая терапия на время проведения исследования была отменена.

Результаты исследования показывают, что от применения метода гирудотерапии при климактерическом синдроме наблюдается выраженный клинический эффект. Клинический эффект пропорционален степени тяжести заболевания. В первой исследованной группе выраженность клинического эффекта составила 83%, во второй - 79,2%, в третьей – 51,6%.

По результатам исследования мы считаем, что методика гирудотерапии может быть применена как в качестве вспомогательного метода при лечении климактерического синдрома совместно с медикаментозным лечением, так и как самостоятельный метод лечения.

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ИНФРАКРАСНОГО СВЕТА, МОДУЛИРОВАННОГО ЧАСТОТОЙ 101 ГЦ, НА МЫШАХ И ИХ ПОТОМКАХ

Дюкина А.Р.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН; Пущинский
государственный университет, Пущино (Россия)

E-mail: *Dyukina@rambler.ru*

Целью настоящей работы было исследование действия инфракрасного света (ИКС), модулированного частотой 101 Гц, при мощности 22 мВт/см², на индукцию цитогенетического перекрестного адаптивного ответа (АО) в кроветворных органах (костный мозг и тимус) и скорость роста асцитной карциномы Эрлиха в солидной форме у мышей и их потомках в двух поколениях.

В экспериментах использовали самцов белых беспородных мышей линии SHK. Для индукции АО с помощью ИКС использовали стандартную схему радиационного АО (0.1 Гр + через 24 ч 1.5 Гр). В качестве положительного контроля мышей облучали рентгеновским излучением. Уровень цитогенетических повреждений оценивали с помощью микроядерного теста, массу тимуса - по отношению среднего абсолютного веса органа к среднему живому весу

животного в группе. Скорость роста солидной формы асцитной карциномы Эрлиха оценивали по стандартной методике.

В результате проведенных экспериментов было обнаружено, что облучение ИКС, так же как, и малыми дозами рентгеновского излучения, индуцирует АО в клетках костного мозга и тимуса и тормозит скорость роста опухоли у мышей *in vivo*. Что касается потомков от облученных ИКС самцов, то как в F1, так и F2 поколениях были обнаружены повышенная радиостойчивость к воздействию высокой дозы и, в отличие от родителей, в обоих поколениях отсутствие радиационного АО в клетках костного мозга и тимуса и отсутствие влияния на скорость роста опухоли.

Таким образом, нами была выявлена возможность передачи геномной нестабильности первому и второму поколениям мышей, рожденных от самцов облученных ИКС.

ВНЕЛЕГОЧНЫЕ ЭФФЕКТЫ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНГАЛЯЦИИ МАЛЫХ ДОЗ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЛИПОПОЛИСАХАРИДА

Фролов Д.М.

Волгоградский государственный университет, Волгоград (Россия)

E-mail: frod86@yandex.ru

За последние 15-20 лет в биологии и медицине сформировано представление о роли аэрозольного распространения продуктов бактериального происхождения, прежде всего – липополисахаридной природы (ЛПС), в возникновении и развитии хронической патологии органов дыхания человека. Непосредственным результатом ингаляции малых доз бактериальных ЛПС на легкие и воздухоносные пути становится хронические воспалительные процессы с атрофией функциональной паренхимы и формированием пневмофиброза (Писарев и др., 2008). Представления о системных эффектах хронической ингаляции малых доз бактериальных ЛПС в настоящее время только начинают формироваться в связи с детальным изучением последствий на организм длительного пребывания в кондиционируемых помещениях.

С целью выявления внелегочных последствий такого влияния были проведены опыты на 24 инбредных белых крысах массой 220-240 г. 18 животных ежедневно помещали в воздушную среду с поддержанием концентрации взвешенного ЛПС из расчета инспирации каждым животным не менее 100 мг/кг массы токсина за 2 часа экспозиции. По 6 животных выводили из эксперимента через 15, 30 и 60 суток от его начала, соблюдая необходимые правила биоэтики и лабораторной практики.

Выявленные изменения в печени, почках, сердце и головном мозге животных свидетельствовали о том, что после ингаляции даже малых доз ЛПС в организме развивается системная эндотоксинемия, нарушения гемостаза и биохимических свойств плазмы крови, происходит прямое или опосредованное цитокинами повреждение паренхиматозных клеток и стереотипная мезенхимально-пролиферативная реакция далеко за пределами органов дыхания. Выявленные эффекты частично объясняют общие негативные последствия длительного воздействия на организм человека воздуха кондиционированных помещений и помещений с высоким содержанием взвешенного ЛПС в промышленности и сельском хозяйстве.

ИССЛЕДОВАНИЕ СВЯЗИ ПРОЦЕССА ЦЕНТРАЛЬНОГО УТОМЛЕНИЯ И ПРОЦЕССОВ НЕПРОИЗВОЛЬНОГО ВНИМАНИЯ

Князева В.М., Дейнекина Т.С.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: werwulf.90@mail.ru

Цель работы - исследование связи центрального утомления и процессов непроизвольного внимания. Во время развития центрального утомления происходит угнетение когнитивных функций. Особенно страдает процесс внимания. Известно также, что внимание является важнейшей активирующей системой, за счет сигналов ретикулярной формации. Критерием активации системы непроизвольного внимания является негативность рассогласования.

Эксперимент проходил в два этапа. На первом этапе были выявлены оптимальные условия нагрузки, необходимые для развития требуемой степени утомления. В ходе эксперимента испытуемый производил сжатие динамометра на стимул частотой 1200 Гц. Эксперимент состоял из двух частей: «парадигма oddball» и «парадигма deviants only». Каждая парадигма состояла из 2 одинаковых блоков разделенных 3 минутным перерывом. «Парадигма oddball» состояла из стандартных стимулов (1000 Гц) и девиантных стимулов (1200 Гц). «Парадигма deviants only» из стимулов частотой 1200 Гц. Место предъявления стимулов в обеих парадигмах было фиксировано. В начале и в конце каждого блока измерялась величина максимального произвольного сокращения.

При оценке значений максимальных произвольных сокращений была показана большая утомляемость испытуемых в «парадигме deviants only» по сравнению с «парадигмой oddball». Это находит отражение в больших значениях максимальных произвольных сокращений во втором блоке «парадигмы oddball» по сравнению со вторым блоком «парадигмы deviants only». Данный эффект может быть объяснен активацией системы непроизвольного внимания в «парадигме oddball». Также было обнаружено влияние утомления на параметры вызванных потенциалов. В «парадигме oddball» было показано уменьшение амплитуды волны ПЗ во втором блоке по сравнению с первым. Для «парадигмы deviants only» было показано уменьшение амплитуды волны Н1 во втором блоке по сравнению с первым.

Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России», ГК 14.740.11.0232.

ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ СЕТЕЙ КУЛЬТУРЫ НЕЙРОНОВ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ

Корягина Е.А.^{1,2}, Пимашкин А.С.¹, Казанцев В.Б.^{1,3}, Мухина И.В.^{1,2}

¹Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского; ²Нижегородская государственная медицинская академия; ³Институт прикладной физики РАН, Нижний Новгород (Россия)

E-mail: katerina_neuron@mail.ru

Нейронные сети *in vitro* являются наиболее подходящими экспериментальными модельными системами для изучения общих вопросов обучения. Представленные здесь результаты демонстрируют селективное обучение в сети гиппокампальных нейронов, культивируемых на матрице мультиэлектродной системы MED64 (Alpha MED Sciences, Japan). Для получения и анализа данных использовался набор программного обеспечения Conductor™ (Alpha MED Sciences, Japan), а также программный продукт Matlab. Изменение функциональной структуры сети определялось методом детектирования паттерна активации в пачке биоэлектрической активности нейронной сети.

Проведён детальный анализ изменений паттерна активации в ходе длительной стимуляции. В результате установлено, что в отсутствие внешнего воздействия культура нейронов формирует спонтанные паттерны активации, характеризующиеся определённым сходством (расстояниями) с погрешностью (средняя ошибка расстояний). При стимуляции формируется вызванный ответ в сети в виде новых паттернов активации пачек, статистически отличимых от спонтанных.

Результаты экспериментов указывают на наличие механизмов формирования различных откликов нейронной сети на электрические стимулы. Вызванные на стимул новые функциональные системы, определяемые по изменению структуры активности пачки, статистически разделены от спонтанных, и способны к самоподдерживанию в течение определённого времени, что позволяет говорить о реальном механизме обучения без подкрепления и механизме памяти в терминах стимул-реакция.

Таким образом, экспериментально доказана возможность изменения функциональной структуры нейрон-глиальной сети культуры гиппокампа при электрической стимуляции. Обнаружена модуляция паттерна активности нейронной сети после электрической стимуляции, что указывает на возможность изменения пластичности диссоциированных культур нейронов гиппокампа на сетевом уровне в процессе обучения и формирования долговременных функциональных изменений.

ВОЗМОЖНОСТИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ НАПРАВЛЕННОСТИ НА МОДЕЛЯХ IN VITRO

Ковалёв Р.А.

Учреждение Российской академии наук Петербургский институт ядерной физики им.
Б.П.Константинова РАН, Гатчина (Россия)

E-mail: romazan85@inbox.ru

В последнее десятилетие всё большую популярность приобретает эпигенетическая терапия, основанная на использовании ингибиторов гистоновых деацетилаз (иГДАЦ). Бутират натрия (NaBu) является одним из простейших натуральных иГДАЦ, способных блокировать активность всех четырёх классов большинства клеточных деацетилаз (ГДАЦ). Другой ингибитор, вальпроат натрия (NaVa), является активным веществом некоторых фармакопейных препаратов (Депакин) и используется для лечения других заболеваний.

В данном исследовании на различных злокачественно трансформированных клеточных линиях человека мы продемонстрировали способность NaBu и NaVa эффективно подавлять пролиферативную активность опухолевых клеток и активировать процессы клеточной гибели. Комбинированное воздействие радиотерапии с бутиратом натрия на злокачественные клетки увеличивает их чувствительность к облучению γ -радиацией, позволяя использовать более низкие дозы облучения. Ингибирование активности гистоновых деацетилаз совместно с применением препаратов противоопухолевой химиотерапии, цисплатина и гемзар, также усиливает их подавляющее действие на рост опухолевых клеток.

Полученные данные показывают высокую эффективность применения эпигенетической терапии основанной на использовании ингибиторов деацетилаз, бутирата и вальпроата натрия, и комплексного применения NaBu с радио/химиотерапией.

ВЛИЯНИЕ 7-ми СУТОЧНОГО АНТИОРТОСТАТИЧЕСКОГО ВЫВЕШИВАНИЯ НА СОСТОЯНИЕ ПЕРЕДАЧИ ВОЗБУЖДЕНИЯ С НЕРВА НА СКЕЛЕТНЫЕ МЫШЦЫ

Тяпкина О.В.

Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань (Россия)

E-mail: anti-toxin@mail.ru

Антиортостатическое вывешивание задних конечностей крыс, как модель гравитационной разгрузки (Morey-Holton, 2002), приводит к нарушению двигательной активности мышц задних конечностей. Ранее нами было установлено, что длительное (35 дней) нахождение животных в условиях эксперимента вызывает ухудшение эффективности работы синаптического аппарата локомоторных мышц. Однако известно, что эффекты опорной разгрузки начинают проявляться уже на ранних сроках.

Целью исследования явилось сопоставление уровня вызванной квантовой секреции ацетилхолина на нервно-мышечных препаратах мышц «быстрого» (m.EDL) и «медленного» (m. soleus) типов у контрольных крыс и крыс, находившихся в условиях вывешивания 7 суток. С помощью стандартной микроэлектродной техники регистрировали вызванные потенциалы концевой пластинки (ПКП) и миниатюрные потенциалы концевой пластинки (МПКП), и анализировали их амплитудно-временные параметры.

В контрольных синапсах m. EDL амплитуда ПКП составила 25.5 ± 1.3 мВ, МПКП 0.5 ± 0.04 мВ, квантовый состав 64.8 ± 5 квантов; в синапсах подопытных мышц наблюдалось уменьшение амплитуды ПКП до 20.9 ± 0.5 мВ и МПКП до 0.31 ± 0.03 мВ; при этом квантовый состав не изменился (69.2 ± 2.8). В контрольных синапсах m. soleus амплитуда ПКП составила 22.1 ± 0.8 ; МПКП - 0.4 ± 0.06 мВ; квантовый состав 63.3 ± 8.2 квантов. В подопытных синапсах m. soleus амплитуда ПКП достоверно не изменялась - 24.4 ± 1.4 мВ; амплитуда МПКП напротив увеличивалась до 0.53 ± 0.07 мВ; квантовый состав не изменялся - 52.5 ± 2.5 мВ. Таким образом, уже 7-ми суточная опорная разгрузка ведет к падению амплитуды постсинаптического ПКП в

m. EDL, что может приводить к нарушению передачи возбуждения с нерва на скелетные мышцы.

Поддержано грантами: РФФИ 09-04-01280, Президента РФ НШ.

СВЯЗЬ ИЗМЕНЕНИЯ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ПРОВОДЯЩЕЙ СИСТЕМЫ СЕРДЦА С РАЗВИТИЕМ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Мазитов Т.М., Нигматуллина Р.Р., Исламов Р.Р.

Казанский государственный медицинский университет, Казань (Россия)

E-mail: *tim-mazitov@yandex.ru*

Введение. Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) является одной из основных причин инвалидности и смертности населения, патогенез ее сложен и до сих пор остается недостаточно изученным. Развитие ХСН связано со значительным количеством факторов, среди которых нарушения проводящей системы занимают важное место.

Целью данного исследования явился аналитический обзор появившихся в течение последних 10 лет зарубежных исследований нарушений проводящей системы миокарда как одной из причин развития ХСН в эксперименте.

Материал и методы: поиск и обобщение информации проводились по следующим ключевым словам: проводящая система сердца, хроническая сердечная недостаточность (conduction heart system, congestive heart failure) в базе данных Medline через интерфейс системы PubMed NLM (www.pubmed.com) по англоязычным медицинским журналам и библиографическим ссылкам в статьях. Поиск был ограничен временными рамками 2000-2010 гг. Анализировались экспериментальные исследования на лабораторных животных.

Результаты и обсуждение. Всего по указанным ключевым словам было найдено 235 статей, в т.ч. 81 обзор. Публикации последнего десятилетия, посвященные исследованию связи между повреждением проводящей системы сердца и развитием ХСН, в целом соответствуют результатам предшествующих работ. Наличие причинно-следственной связи между вышеперечисленными факторами и ХСН требует проведения дальнейших исследований, поскольку отсутствуют четкие неоспоримые доказательства связи между нарушением проводимости и развитием ХСН. Кроме того, не исследовано влияние моноаминов на проводящую способность волокон Пуркинье. Мета-анализ опубликованных работ позволит обобщить количественные данные, а также объяснить различия в результатах исследований разных авторов. В перспективе планируется иммуногистохимическое исследование волокон Пуркинье с целью выявления наличия на них рецепторов серотонина и адреналина.

ВЛИЯНИЕ ВЫСОКОГО УРОВНЯ АНТИТЕЛ К ФАКТОРУ РОСТА НЕРВОВ У САМОК МЫШЕЙ НА РАЗВИТИЕ ИХ ПОТОМСТВА В ПОСТНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД

Родионов А.Н., Лобанов А.В., Мурашев А.Н.

Пушкинский государственный университет; Филиал Института биоорганической химии им. акад. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Пушкино (Россия)

E-mail: *rodiand@yandex.ru*

Фактор роста нервов (ФРН) – белок семейства нейротрофинов. ФРН играет важную роль в процессе роста нейронов, образования межнейронных контактов, необходим для выживания зрелых нейронов. Показана роль аутоантител к различным факторам нейрогенеза в процессе раннего развития нервной системы. Установлено, что уровень аутоантител к ФРН в организме беременных женщин коррелирует с состоянием здоровья новорожденных. Создание экспериментальной модели, позволяющей изучать роль таких антител в развитии ранних патологий нервной системы, является актуальной задачей современной нейрофизиологии.

Целью нашей работы было изучение влияния высокого уровня антител к ФРН у самок мышей на физическое развитие и формирование поведенческого фенотипа у их потомства в постнатальном периоде с 1-х по 21-е сутки.

Исследования проводились на линии мышей CD1. Иммунизация животных проводилась препаратом белка ФРН трехкратно до получения высокого титра антител. Получали датированную беременность так, чтобы пики уровня антител приходились: 1-е, 3-е, 7-е сутки эмбрионального развития потомства. Для тестирования потомства использовалась развитийная батарея тестов.

Была выявлена задержка в угасании раннего провизорного поведения контакта с матерями у мышей во всех экспериментальных группах. Также у животных всех экспериментальных групп были выявлены нарушения в формировании поведенческих актов сложных координаций движений. Наиболее яркий характер нарушений наблюдался в группах животных, у которых пики уровней антител приходились на 1-е и 3-е сутки эмбрионального развития. Также было отмечено отставание в наборе массы тела у животных всех экспериментальных групп.

Таким образом, повышенный уровень антител к ФРН у самок мышей приводил к отставанию в соматическом развитии потомства, к нарушению формирования ранних поведенческих актов. Наиболее сильные изменения были выявлены у животных, имевших пик уровня антител на 1-е сутки эмбрионального развития.

ПОКАЗАТЕЛИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ЭКЗАМЕНАЦИОННОМ СТРЕССЕ И ИХ КОРРЕКЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫМИ ТРАВАМИ

Геворкян Э.С., Минасян С.М., Адамян Ц.И., Абраамян Э.Т.
Ереванский государственный университет, Ереван (Армения)

E-mail: ah200588@gmail.com

Экзаменационный стресс занимает одно из первых мест среди причин, вызывающих эмоциональное напряжение учащихся, оказывая негативное влияние на нервную, сердечно-сосудистую системы. В литературе есть данные о биологически активных добавках растительного происхождения, используемых для сохранения и восстановления здоровья.

Изучены сдвиги показателей сердечного ритма учеников 10 класса гимназии «Квант» при экзаменационном стрессе, и их коррекция антистрессорным чаем «Сокровища природы», состоящим из шалфея, зверобоя, валерианы, шиповника, мяты перечной, Melissa. В норме, до экзамена и после экзамена обследовались 30 учеников: 15 - контрольная группа, 15 - экспериментальная. Регуляция сердечного ритма оценивалась по ЭКГ, зарегистрированной на Pentium 4 и обработанной методом вариационной пульсометрии. Вычислялись интегральные характеристики ритма сердца: мода (Mo), амплитуда моды (AMo), вариационный размах (ΔX), индекс напряжения (ИН), вегетативный показатель ритма (ВПР), показатель адекватности процессов регуляции (ПАПР), индекс вегетативного реагирования (ИВР).

В обеих группах в экзаменационный период наблюдалось достоверное повышение ИН, AMo, ИВР, ВПР, ПАПР, свидетельствующее об активации симпатических механизмов регуляции сердечного ритма и понижении активности парасимпатических (ΔX) и гуморальных (Mo) механизмов. У гимназистов экспериментальной группы, принимающих антистрессорный сбор изменения были слабее выражены, чем в контрольной группе. Последнее обусловлено развитием тормозных процессов в ЦНС и уменьшением тонуса ВНС под воздействием антистрессорного чая, который являясь адаптогеном, способствовал стабилизации наблюдаемых параметров. После экзаменов исследованные показатели у учащихся экспериментальной группы, в отличие от контрольной, почти достигли исходного уровня.

Таким образом, применение сбора лекарственных трав приводит к положительным сдвигам психоэмоционального состояния учеников, способствует понижению напряжения симпатико-адреналовой системы, улучшает работу механизмов регуляции сердечно-сосудистой системы.

ВЛИЯНИЕ Ac-D-SPRG НА ВЫРАБОТКУ УСЛОВНОГО РЕФЛЕКСА АКТИВНОГО ИЗБЕГАНИЯ БОЛЕВОГО РАЗДРАЖИТЕЛЯ

Белякова А.С., Воскресенская О.Г., Каменский А.А.

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва (Россия)

E-mail: *alixletter@yandex.ru*

Целью исследования являлось изучение влияния оригинального структурного аналога АВП(6-9) Ac-D-SPRG на выработку условного рефлекса активного избегания болевого раздражителя (УРАИ).

Работа проводилась на половозрелых самцах нелинейных белых крыс массой 220-250 г. Препарат вводили интраназально в объеме 1 мкл/10 г массы тела в дозах 10.0; 1.0; 0.1 и 0.01 мкг/кг за 5 и за 30 минут до начала тестирования. Контрольным животным вводили эквивалентный объем дистиллированной воды.

В работе использовали четырехдневную схему выработки УРАИ. В первый день опыта при введении препарата за 5 минут до начала эксперимента значимых различий между экспериментальными группами выявлено не было. Со второго дня обучения отмечено, что под действием пептида число выполненных реакций возрастает. Значимым во второй день обучения этот рост был для групп животных, которым вводили Ac-D-SPRG в дозах 1 и 10 мкг/кг, на третий день – 0,1 и 1 мкг/кг, к четвертому дню обучения количество выполненных реакций достоверно возросло во всех опытных группах.

В первый день опыта при введении Ac-D-SPRG за 30 минут до начала эксперимента наблюдалось достоверное увеличение количества выполненных реакций у животных, получавших препарат в больших дозах (1 и 10 мкг/кг). Во второй день обучения статистически значимо количество выполненных реакций возросло во всех опытных группах, на третий день – у животных, которым вводили Ac-D-SPRG в дозах 1 и 10 мкг/кг, на четвертый день – 10 мкг/кг.

Через 11 дней после начала обучения было зарегистрировано сохранение навыка во всех исследуемых группах. Достоверное увеличение количества выполненных реакций наблюдалось в группе животных, получавших Ac-D-SPRG в дозе 0,01 мкг/кг за 5 минут до тестирования, и у животных, получавших препарат за 30 минут до начала эксперимента в дозах 1 и 10 мкг/кг.

Работа выполнена при поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 гг.

МУТАЦИИ В ГЕНЕ БЕЛКА ПРЕСЕНИЛИН-1 И НАРУШЕНИЕ ДЕПО-УПРАВЛЯЕМОГО КАЛЬЦИЕВОГО ВХОДА

Рязанцева М.А., Поздняков И.А., Глушанкова Л.Н., Казначеева Е.В.

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: *mariaandreevna@gmail.com*

Нарушение кальциевой сигнализации в нейронах рассматривается как одна из причин развития болезни Альцгеймера. В 40% случаев наследственной болезни Альцгеймера (НБА) наблюдались мутации в белках пресенилине-1 (PS1) и пресенилине-2 (PS2). Белки пресенилины входят в состав γ -секретазы, а также работают как каналы утечки Ca^{2+} из эндоплазматического ретикула (ЭР). Мутация PS1-M146V вызывает потерю функции канала утечки и повышение содержания Ca^{2+} в ЭР. Для мутации PS1- $\Delta E9$ показаны повышенная проводимость канала утечки и понижение концентрации свободного Ca^{2+} в ЭР.

Было сделано предположение, что депо-управляемые кальциевые каналы, активирующиеся в ответ на понижение концентрации свободного Ca^{2+} в ЭР, могут принимать участие в развитии патологии НБА, вызванной мутациями в белках пресенилинах. С помощью метода локальной фиксации потенциала (patch-clamp technique) в конфигурации whole-cell было показано подавление депо-управляемого входа кальция в первичной культуре нейронов гиппокампа мышинной модели НБА (KI-PS1-M146V, Thy1-APPKM670/671NL, Thy1-tauP301L). Влияние мутантного пресенилина PS1-M146V на депо-управляемый вход кальция было подтверждено в экспериментах с трансфицированными клетками нейробластомы SK-N-SH и первичной культурой нейронов гиппокампа крыс. В этих же клетках, трансфицированных мутантом PS1-

ΔE9, наблюдался противоположный эффект на депо-управляемый вход кальция. В качестве контроля клетки трансфицировались PS1-wt. С помощью вестернблоттинга были показаны противоположные компенсаторные эффекты на уровень экспрессии основных субъединиц депо-управляемых каналов TRPC1 и Orai1 в ответ на экспрессию мутантных пресенилинов для мутаций PS1-ΔE9 и PS1-M146V.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов: Госконтракт № П332; РФФИ №10-04-00956; ИИ-3796.2010.4.

ОЦЕНКА ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ МЕТОДОМ ПРОСВЕТНОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ИМИДЖИНГА НА ПРИМЕРЕ ПОРФИРАЗИНОВОГО КОМПЛЕКСА ИТТЕРБИЯ

**Леканова Н.Ю., Балалаева И.В., Клапшина Л.Г., Лермонтова С.А.,
Ширманова М.В., Загайнова Е.В.**

Нижегородский государственный национальный исследовательский университет им.
Н.И.Лобачевского; Институт металлоорганической химии им. Г.А.Разуваева РАН;
Нижегородская государственная медицинская академия,
Нижний Новгород (Россия)

E-mail: nat-lekanova@yandex.ru

На сегодняшний день предклинические исследования фотосенсибилизаторов проводятся с применением микроскопических, спектроскопических, экстракционных методов и методов визуализации на уровне целого организма. Современная экспериментальная медицина придает приоритетное значение методам наблюдения *in vivo* на уровне организма, которые позволяют неинвазивно получить сведения о взаимодействии флуорофоров с тканями животных в норме и при альтерации, механизмах их распределения в организме и динамике циркуляции.

Целью данной работы являлась оценка фармакокинетики нового потенциального фотосенсибилизатора на основе металлопорфиразинового комплекса иттербия с помощью метода просветного флуоресцентного имиджинга.

В данной работе исследован тетрафенилтетрацианопорфиразиновый комплекс иттербия. Были получены стабильные водорастворимые формы и изучены их оптические свойства и способность аккумулироваться в опухолевых клетках *in vitro*. Динамика накопления и выведения ФС в опухолевых и нормальных тканях животных в эксперименте *in vivo* была исследована неинвазивным методом просветного флуоресцентного имиджинга. Мониторинг животных с экспериментальными опухолями проводился в течение 6 суток после введения ФС.

На основе количественной оценки уровня сигнала по полученным изображениям построены кривые накопления и выведения порфиразина иттербия в тканях. Максимум накопления в опухоли составил 6-10 часов. Отмечено, значительное снижение уровня флуоресценции соединения в нормальных тканях через 24 ч после инъекции (предположительно в результате выведения через кишечник) и более длительное удержание в опухоли. Данные, полученные методом флуоресцентного имиджинга подтверждены инвазивными методами спектроскопии и конфокальной микроскопии образцов тканей.

Таким образом, метод просветного флуоресцентного имиджинга позволил неинвазивно исследовать некоторые параметры фармакокинетики порфиразина иттербия с учетом индивидуальных особенностей каждого животного. Показано, что водорастворимые комплексы порфиразина иттербия по своим оптическим свойствам и особенностям взаимодействия с биологическими объектами представляют интерес в качестве потенциальных фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии и/или флуоресцентных маркеров.

АНАЛИЗ ПРЕДСТАВИТЕЛЬСТВА ПОТЕНЦИАЛ-ЗАВИСИМЫХ Ca^{2+} -КАНАЛОВ В НЕРВНО-МЫШЕЧНОМ КОНТАКТЕ ХОЛОДНОКРОВНЫХ

Нуруллин Л.Ф.

Учреждение Российской академии наук Казанский институт биохимии и биофизики
КазНЦ РАН, Казань (Россия)

E-mail: lenizn@yandex.ru

Деполаризация пресинаптической мембраны открывает потенциал-зависимые Ca^{2+} -каналы. Увеличение концентрации Ca^{2+} в цитоплазме нервной терминали вызывает освобождение ацетилхолина. Общепринято, что в нервно-мышечном синапсе амфибий секреция медиатора запускается входом Ca^{2+} через N-тип Ca^{2+} -каналов. В то же время данные литературы указывают, что в освобождении медиатора в синапсе холоднокровных могут участвовать и другие типы Ca^{2+} -каналов. Однако такого рода исследования проводящиеся с использованием блокаторов к определенным Ca^{2+} -каналам, не позволяют точно говорить о наличии того или иного типа Ca^{2+} -канала, поскольку действие блокаторов может быть неспецифичным. Достаточно достоверно выявить представительство какого-либо типа Ca^{2+} -канала позволяет иммуногистохимический метод при помощи специфических антител.

Целью нашей работы явилось изучение наличия Ca^{2+} -каналов L, P/Q и R-типов на нервно-мышечном контакте холоднокровных. Объектом исследования служил нервно-мышечный препарат кожно-грудинной мышцы лягушки.

В исследовании применялись специфические антитела против $\alpha 1B$, $\alpha 1C$, $\alpha 1D$, $\alpha 1A$, $\alpha 1E$ субъединиц Ca^{2+} -каналов N (Cav 2.2), L (Cav 1.2, Cav 1.3), P/Q (Cav 2.1), R (Cav 2.3)-типов, соответственно. Проводился стандартный иммуногистохимический протокол, включавший в себя этапы фиксации, пермеабилзации, инкубации в антителах препарата. Детекция Ca^{2+} -каналов осуществлялась при помощи вторичных антител конъюгированных с флуорохромом. Препарат наблюдался в лазерный конфокальный микроскоп Zeiss LSM 510 Meta. Области нервно-мышечных контактов обнаруживались путем окрашивания постсинаптических ацетилхолиновых рецепторов TRITC-а-бунгаротоксином.

В результате проведенных исследований нами было установлено, что на нервно-мышечном синапсе холоднокровных, кроме основного N (Cav 2.2)-типа Ca^{2+} -каналов, имеются также представительства L (Cav 1.3), P/Q (Cav 2.1) и R (Cav 2.3)-типа каналов. Предположительно, такое разнообразие потенциал-зависимых Ca^{2+} -каналов в нервно-мышечном контакте может увеличивать надежность синаптической передачи и усиливать синаптическую пластичность.

Работа поддержана грантом РФФИ №09-04-01280.

СПОСОБНОСТЬ ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА МОДУЛИРОВАТЬ ЭФФЕКТЫ РАДИАЦИИ IN VIVO

Гудков С.В., Карп О.Э., Брусков В.И.

Учреждение Российской академии наук Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино (Россия)

E-mail: S_makariy@rambler.ru

Защита генома клеток млекопитающих от повреждений, вызванных окислительным стрессом, является актуальной задачей. Установлено радиопротекторное действие водного раствора перекиси водорода (0,1 мкМ) при свободном потреблении его мышами в качестве питья в течение 1 суток перед тотальным воздействием рентгеновского излучения в летальной дозе 7 Гр. Установлено, что в приведенных выше условиях к 30 суткам наблюдается около 40% выживших особей, в то время как все не получавшие перекись водорода мыши умирали к 12 суткам.

Вероятно данный эффект связан с феноменом предварительной подготовки, то есть, происходит незначительное повреждение биологически важных структур с последующей активацией восстановительных процессов в организме мышей под действием этого соединения. Кроме того, интересным является тот факт, что при потреблении водного раствора перекиси водорода (0,1 мкМ) в качестве питья в течение суток после тотального облучения в дозе 7 Гр так же наблюдается не большой защитный эффект (20% особей к 30 суткам).

Работа поддержана грантами Российского фонда фундаментальных исследований (10-04-00949-а) и Президента Российской Федерации для поддержки молодых российских ученых (МК-108.2010.4).

ВЛИЯНИЕ L-ФЕЛИНИНА НА РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ МЫШЕЙ И КРЫС

Маланьина Т.В., Клинов А.Б.

Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н.Северцова РАН, Москва (Россия)

E-mail: artklinov495@gmail.com

Химические сигналы играют важную роль в формировании реакции избегания хищника у потенциальной жертвы. Нашими более ранними исследованиями было показано влияние химических сигналов хищников на репродуктивный успех грызунов. Животные отвечали на химические сигналы хищника уменьшением размера выводка и отклонением в соотношении полов в сторону самцов. Сокращение размера выводка у серой крысы под влиянием хемосигналов хищника связано со снижением секреции прогестерона, влияющего на имплантацию эмбрионов. Экспозиции мочи домашней кошки *Felis catus* домовым мышам *Mus musculus* в условиях вольерного содержания оказывали достоверное влияние на выживаемость потомства. Химический анализ мочи хищника показал ключевую роль серосодержащих соединений. Удаление серосодержащих соединений практически устраняло биологическую активность мочи. Ряд активных соединений из выделений хищника был протестирован в лабораторных и полевых условиях.

В настоящем исследовании изучалось влияние потенциальных предшественников феромона кошачьих L-фелинина на репродуктивную функцию домашней мыши и серой крысы. L-фелинин - уникальная серосодержащая аминокислота, обнаруженная в моче домашней кошки и присущая всем представителям семейства кошачьих (Rutherford et al., 2002). Ватные шарики, пропитанные L-фелинином, помещались непосредственно в домики в клетках мышей каждый день на протяжении всего периода беременности. L-фелинина оказывал достоверное влияние на соотношении полов у мышей ($n=40$, $p < 0.001$) и крыс ($n=36$, $p < 0.001$) в пользу самцов. В день отъема в контрольной группе вес мышат был достоверно выше, чем в той, где экспонировали L-фелинин. Мыши и крысы демонстрировали сезонную чувствительность к L-фелинину.

Поддержано РФФИ 10-04-01599а.

О РОЛИ СТЕРОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ, ЭКСПРЕССИРОВАННЫХ В ВЫСТИЛКЕ ВОМЕРОНАЗАЛЬНОГО ОРГАНА ДОМОВОЙ МЫШИ

Вознесенская А.Е., Кваша И.Г.

Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н.Северцова РАН, Москва (Россия)

E-mail: konungthorn@gmail.com

Интерес к механизмам рецепции и кодирования в обонятельной системе (ОС) обусловлен огромной ролью этой сенсорной модальности в организации сложных видов социального поведения млекопитающих. Рядом работ показано прямое участие дополнительной обонятельной системы (ДОС) в формировании и реализации полового поведения самцов различных видов млекопитающих. Если говорить об изучении регуляции восприятия и анализа химических сигналов в (ОС) млекопитающих, то большая часть работ посвящена роли половых гормонов. Влияние гормонов стресса остается малоизученным. В то же время классическими исследованиями показано подавление репродуктивного поведения самцов млекопитающих под воздействием стресса. Этим объясняется наш интерес к исследованию влияния стресса на восприятие химических сигналов эстральной самки самцами домашней мыши на уровне периферического звена ДОС.

Нашими более ранними исследованиями показано угнетение ответа рецепторных нейронов вомероназального органа (ВНО) на хемосигналы рецептивной самки под воздействием холодового и эмоционального стресса. Упомянутые виды стресса подавляют развитие Fos-

иммунореактивности в рецепторной ткани ВНО самцов в ответ на предъявление подстилки, содержащей химические сигналы рецептивной самки. Показано, что стрессированные самцы домашней мыши не отдают предпочтения запаху эстральной самки по сравнению с запахом нерепреципитивной самки, хотя животные контрольной группы демонстрируют такого рода предпочтение.

В настоящей работе мы исследовали экспрессию рецепторов к глюкокортикоидам, минералокортикоидам и андрогенам в рецепторном эпителии ВНО. Впервые показана иммунореактивность к рецептору глюкокортикоидов в рецепторной ткани ВНО. Иммунореактивность к рецептору андрогенов, так и к рецептору минералокортикоидов не выявлена. Присутствие иммунореактивности к рецептору глюкокортикоидов в рецепторной ткани ВНО позволяет предположить возможность прямого действия гормонов стресса на рецепторные клетки ВНО. Полученные результаты указывают на вовлечение глюкокортикоидов в механизмы регуляции восприятия химических сигналов на рецепторном уровне ДОС.

Поддержано РФФИ 10-04-01599а.

ВИЗУАЛИЗАЦИЯ БИОФИЗИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ СОСТОЯНИЯ СЫВОРОТКИ КРОВИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Шафорост А.С.

Институт радиобиологии НАН Беларуси, Гомель (Беларусь)

E-mail: asofocl@mail.ru

Одним из последствий технологического прогресса является рост частоты онкологических заболеваний. Для решения возникшей проблемы необходима разработка более совершенных методик их диагностики и лечения, особенно на ранних стадиях.

В настоящей работе проводилось изучение визуализации биофизических изменений состояния сыворотки крови онкологических больных на различных стадиях лучевой терапии.

Для исследования использовалась сыворотка крови человека: 13 здоровых, 19 больных раком головы и шеи и 15 больных раком шейки матки. Исследования получаемого материала проводились с помощью метода клиновидной дегидратации. Он позволяет в сравнительно короткие сроки получить информацию о состоянии исследуемой биологической жидкости посредством анализа морфологической картины белковых пленок (фаций).

Фации сыворотки крови здоровых людей обладают выраженным радиальным строением и отсутствием дополнительных образований (бляшек, языков Арнольда и др.). У больных раком шейки матки на начальных стадиях лечения отмечается ухудшение морфологической картины сыворотки крови: нарушение радиальной симметрии, появление языков Арнольда, ковров Серпинского в периферической части образца. К концу курса их количество уменьшается, что можно объяснить наличием в крови продуктов распада раковых клеток.

Изучение реакции организма на облучение на протяжении полного курса лучевой терапии у больных раком головы и шеи выявило ухудшение морфологии фаций в период от поступления до середины курса. Это можно объяснить поступлением в кровь продуктов распада раковых клеток. Как и у онкогинекологических больных к моменту выписки наблюдается улучшение морфологической картины фации.

Визуализация биохимических и биофизических изменений, протекающих на разных этапах лучевой терапии позволяет получить дополнительную информацию о состоянии пациента и эффективности лечения.

РЕСПИРАТОРНЫЕ ЭФФЕКТЫ МИКРОИНЪЕКЦИЙ GRP НА УРОВНЕ ЯДРА СОЛИТАРНОГО ТРАКТА

Алиев А.А.

Самарский государственный университет, Самара (Россия)

E-mail: ruptrih@yandex.ru

На сегодняшний день неизученными остаются респираторные эффекты гастрин-рилизинг пептида на уровне ядра солитарного тракта как одного из структурно-функциональных отделов дыхательного центра. Тем не менее, о возможном участии данного нейропептида в центральных механизмах регуляции дыхания свидетельствует экспрессия специфических рецепторов к GRP в структурах бульбарного дыхательного центра и, в частности, в ядре солитарного тракта.

В рамках настоящей работы изучались респираторные эффекты локального введения 50 нл 10^{-5} М и 10^{-8} М гастрин-рилизинг пептида в вентролатеральную часть ядра солитарного тракта наркотизированных крыс. О характере реакций судили по изменениям паттерна внешнего дыхания, ЭМГ диафрагмы и наружных межреберных мышц.

Установлено, что гастрин-рилизинг пептид вызывает выраженные реакции биоэлектрической активности инспираторных мышц и паттерна внешнего дыхания. Наблюдалось возрастание амплитуды ЭМГ наружных межреберных мышц и диафрагмы, а также увеличение дыхательного объема. Микроинъекции исследуемого нейропептида вызывали удлинение продолжительности экспирации при неизменной длительности инспирации. Реакции со стороны регистрируемых показателей развивались на 10-20 минутах эксперимента, затем наблюдалась тенденция к их восстановлению.

Результаты работы вместе с данными об экспрессии бомбезиновых рецепторов в исследуемом ядре свидетельствуют об участии гастрин-рилизинг пептида в бульбарных механизмах регуляции дыхания на уровне ядра солитарного тракта.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВЕКТОРОВ НА ОСНОВЕ ЛЕНТИВИРУСОВ В ГЕННО-КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА

Мухаметова Л., Черенкова Е.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань (Россия)

E-mail: vixen_133@mail.ru

Термином «нейродегенеративные заболевания» определяется большая группа заболеваний, преимущественно позднего возраста, для которых характерна медленно прогрессирующая гибель определенных групп нервных клеток и как следствие постепенно нарастающая атрофия соответствующих отделов головного и/или спинного мозга. Для большинства нейродегенеративных болезней отсутствуют эффективные методы лечения, которые позволили бы замедлить патологический процесс и тем более обратить его вспять. Возможности симптоматической помощи таким пациентам ограничены, причем в поздних стадиях лечение особенно затруднено и нередко сопровождается многочисленными осложнениями.

Целью данной работы является разработка и создание генетических конструкций на основе лентивирусов, экспрессирующих терапевтические гены: FGF2 – основной фактор роста фибробластов; GDNF – глиальный нейротрофический фактор; VEGF – сосудистый эндотелиальный фактор роста. Для создания генетических конструкций проводили ПЦР-амплификацию с гено-специфичными праймерами, содержащими сайты рестрикции, с последующим клонированием ПЦР-фрагментов в плазмиды pWPT-GFP и pBabe-hygro-hTert. Эти экспрессионные векторные плазмиды входят в состав системы для получения рекомбинантных репликационно-дефектных лентивирусных частиц.

При ко-трансфекции экспрессионных векторных плазмид в клетки HEK293T вместе с плазмидами, кодирующие структурные и поверхностные белки лентивирусов, происходит экспрессия и самосборка инфекционных репликационно-дефектных вирусных частиц, которые можно очищать и использовать в различных экспериментах. Таким образом, получены конструкции на основе лентивирусов с различными терапевтическими генами, которые могут использоваться в доклинических экспериментах *in vitro* и *in vivo* для терапии нейродегенеративных заболеваний.

ИНСУЛИН - РЕГУЛЯТОР ЦИРКАДИАННОГО РИТМА ЛОКОМОТОРНОЙ АКТИВНОСТИ У КРЫС

Мистрюгов К.А.

Самарский государственный университет, Самара (Россия)

E-mail: *Mistryugov@yandex.ru*

Циркадианный осциллятор млекопитающих - супрахиазматическое ядро содержит инсулиновые рецепторы, а присутствие эндогенного инсулина в центральной нервной системе указывает на возможность участия этого гормона в модуляции активности циркадианного осциллятора.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния инсулина на циркадианный ритм локомоторной активности животных в беговом колесе. Эксперименты выполнены на белых крысах-самцах и включали три этапа. На 1-м этапе (12 дней) использовали чередование одинаковых по продолжительности периодов (12:12 часов) освещения белым светом и темноты. Второй этап экспериментов (8-9 дней) продолжали при постоянной темноте. Третий этап экспериментов (8-9 дней) осуществляли в тех же условиях и начинали интраназальным введением 6 мкг инсулина в один из 4 моментов суточного цикла: СТ=01:00, СТ=07:00, СТ=13:00, СТ=19:00 (СТ=0 соответствовало моменту включения света на 1-м этапе экспериментов).

Эксперименты показали, что на 1-м этапе локомоторная активность у всех крыс существенно преобладала в темновой фазе. На 2-м этапе экспериментов в отсутствие афферентации от сетчатки глаза суточный паттерн активности определялся собственным ритмом супрахиазматического ядра, тем не менее локомоторная активность продолжала соответствовать проекционной световой фазе. Данные, полученные на 3-м этапе, показали, что воздействие инсулина приводит к изменениям циркадианного ритма локомоторной активности, при этом наиболее выраженные реакции обнаружены при введении вещества в момент СТ=13:00. Реакции выражались в фазовом опережении, выраженность которого составляла более 3 часов, так что начало периода активности часто смещалось в конец предшествующей проекционной световой фазы.

Полученные результаты в совокупности с данными о наличии инсулиновых рецепторов в супрахиазматическом ядре свидетельствуют в пользу гипотезы о возможности модуляции функции циркадианного осциллятора эндогенным инсулином.

ЛОКАЛИЗАЦИЯ МУСКАРИНОВЫХ ХОЛИНОРЕЦЕПТОРОВ М1-ПОДТИПА В НЕРВНО-МЫШЕЧНОМ СИНАПСЕ КРЫСЫ

Маломуж А.И., Архипова С.С., Никольский Е.Е.

Учреждение Российской академии наук Казанский институт биохимии и биофизики
КазНЦ РАН, Казань (Россия)

E-mail: *artur57@list.ru*

Нейромедиаторная функция ацетилхолина опосредуется двумя типами холинорецепторов: ионотропными никотиновыми и метаботропными мускариновыми. Общеизвестно, что никотиновые холинорецепторы играют ключевую роль в передаче возбуждения с нерва на скелетную мышцу, тогда как мускариновые рецепторы опосредуют сокращение гладкой мускулатуры и участвуют в регуляции работы сердечной мышцы.

К настоящему моменту накоплено достаточное количество фактов, демонстрирующих участие разных подтипов мускариновых холинорецепторов в модуляции синаптической передачи между мотонейроном и скелетным мышечным волокном. Однако, вопрос о точной ультраструктурной локализации этих рецепторов в нервно-мышечном синапсе до сих пор оставался открытым, что и предопределило проведение настоящей работы.

В экспериментах на нервно-мышечном препарате диафрагмы крысы с использованием методов иммуноцитохимии и электронной микроскопии нами были выявлены мускариновые холинорецепторы М₁-подтипа и проведен анализ паттерна локализации этих рецепторов. Установлено, что данные рецепторы локализованы не только на пресинаптической мембране

нервного окончания, но и достаточно широко представлены на постсинаптической сарколемме, причем, основная их масса локализована в глубине постсинаптических складок.

Таким образом, впервые получены доказательства наличия M_1 -холинорецепторов на мембране иннервируемых скелетных мышечных волокон млекопитающего, что углубляет наши представления о роли мускариновых холинорецепторов в функционировании нервно-мышечного синапса.

Работа поддержана грантами РФФИ и Президента РФ (НШ-64631.2010.7; МК-8017.2010.4).

РЕСПИРАТОРНЫЕ РЕАКЦИИ НА МИКРОИНЪЕКЦИИ СОМАТОСТАТИНА В ЯДРО СОЛИТАРНОГО ТРАКТА

Петряшин И.О.

Самарский государственный университет, Самара (Россия)

E-mail: petryash1@gmail.com

Соматостатин является одним из регуляторных пептидов, обладающих респираторной активностью. Механизмы участия соматостатина в центральной регуляции дыхания изучены довольно слабо, однако представляют значительный интерес в связи с наличием данных о присутствии соматостатина и его рецепторов различных подтипов в структурах, ответственных за генерацию и регуляцию дыхательного ритма.

С целью исследования функций соматостатина на уровне бульбарного дыхательного центра изучались особенности респираторных реакций на локальное введение соматостатина в область ядра солитарного тракта у крыс.

Эксперименты выполнялись на белых крысах обоего пола, наркотизированных уретаном. Соматостатин растворяли в искусственной цереброспинальной жидкости до концентраций 10^{-5} и 10^{-7} М и вводили с помощью микрошприца МШ-1М через стеклянную микропипетку с диаметром кончика 20-30 мкм в количестве 100 нл в исследуемую область мозга; в контрольных экспериментах так же инъецировали искусственную цереброспинальную жидкость. Регистрировались показатели внешнего дыхания (по спирограмме) и ЭМГ диафрагмы и наружных межреберных мышц.

Микроинъекции соматостатина в область ядра солитарного тракта оказывали ингибирующий эффект на дыхание, что проявлялось в одновременном снижении частоты дыхания за счёт удлинения экспираторной фазы дыхательного цикла, уменьшении дыхательного объёма и минутного объёма дыхания; наблюдалось также снижение амплитуды интегрированной ЭМГ дыхательных мышц. Характерной реакцией являлось также появление глубоких продолжительных «вздохов» с последующим удлинённым выдохом. Респираторные реакции характеризовались коротким латентным периодом и большой продолжительностью (более 1 часа).

Полученные результаты наряду с некоторыми другими исследованиями свидетельствуют об участии эндогенного соматостатина в центральных механизмах регуляции дыхания.

ХРОНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЦИРКАДИАННОГО РИТМА У ПОДРОСТКОВ

Алексейчук И.В.

Белорусский государственный педагогический университет им. М.Танка,

Минск (Беларусь)

E-mail: ivan.aleks@yahoo.com

Температура тела поддерживается на относительно постоянном уровне независимо от условий среды, что позволяет обеспечивать нормальную жизнедеятельность человека. Тем не менее, существуют суточные колебания, которые можно представить в виде волновой функции косинуса, характеризующейся максимальной и минимальной значениями амплитуды (t_{\max} и t_{\min} , соответственно). В ситуации, когда исключены все ориентирующие сигналы, период «свободнотекущих» колебаний составляет 24-25 ч. У взрослого человека, который придерживается стандартного распорядка дня, t_{\max} достигается в 18-20 ч, а t_{\min} – в 4-6 ч. С

возрастом значения t_{\max} и t_{\min} могут снижаться, однако время их наступления у разных возрастных групп совпадает.

Знание динамики суточных температур является важной информацией, которая позволяет определить индивидуальный биологический ритм, а также периоды максимальной и минимальной активности организма.

Для того чтобы оценить суточные изменения температуры, рекомендуют проводить хронобиологические исследования циркадианного ритма. Нами исследована динамика суточной температуры тела у подростков 14-17 лет обоих полов. Температура тела измерялась в течение 8 недель. Измерения проводились в подмышечной впадине четыре раза в сутки: после сна в покое, в 14 ч дня, в 19 ч и 23 ч вечера. Установлено, что t_{\max} приходилось на 19 ч вечера и составляло 36,75°C, в то время как t_{\min} было зафиксировано в 7 ч утра и составляло 36,1°C. Средняя амплитуда показаний была равна 0,65°C.

Таким образом, температура тела подростков подвержена циклическим суточным колебаниям, которые связаны не с физической активностью, а с циркадианным ритмом.

ИНГИБИРОВАНИЕ ЭКСПРЕССИИ ПРИОНА IN VIVO С ПОМОЩЬЮ АНТИСЕНС-ОЛИГОДЕЗОКСИНУКЛЕОТИДОВ

**Иваницкая Л.А., Козак М.Р., Кушкевич М.В., Олийнык А.В., Заиченко О.С.,
Влизло В.В.**

Институт биологии животных НААН Украины; Национальный университет
«Львовская политехника», Львов (Украина)

E-mail: *ivanytska.lyudmyla@gmail.com*

Трансмиссивные спонгиозные энцефалопатии (ТСЭ) представляют собой группу нейродегенеративных заболеваний обусловленных аккумуляцией в организме патологической конформации клеточного приона. В патогенезе заболеваний участвует нормальная форма приона в качестве субстрата для конверсии. Нокаутные по гену приона животные являются резистентными к развитию ТСЭ, поэтому извлечение из организма клеточного приона может быть перспективной стратегией для разработки эффективных методов лечения и профилактики прионных инфекций. Целью данного исследования было ингибировать синтез приона в прион-реплицирующих органах и тканях млекопитающих с помощью антисенс-олигодезоксинуклеотидов (асОДН).

После скрининга *in vitro* были подобраны последовательности асОДН, которые ингибировали синтез приона на 95-98% ($p < 0,01$) в клеточной линии L1210. Это TCTGCTGCTCTGACAACGC, комплементарная к кэп-участку мРНК приона, AGTAGCCAAGGTTTCGCCAT, комплементарная к старт-кодону и ATGCTTGAGGTTGGTT, которая взаимодействует с центральным участком открытой рамки считывания мРНК. Для пролонгирования действия асОДН и защиты их от нуклеаз были созданы комплексы асОДН с наноразмерным полимерным катионным носителем. Вестерн блот анализ экспрессии клеточного приона в селезенке и тонком кишечнике лабораторных крыс линии Wistar демонстрирует снижение количества приона на 95% ($p < 0,05$) через 24 и 48 ч. после введения асОДН в комплексе с носителем. В центральном органе-мишене при патогенезе прионных инфекций - головном мозгу показано снижение уровня экспрессии приона на 60% ($p < 0,05$) на 48 ч. воздействия асОДН иммобилизованных на носителе.

Проведенные исследования показывают высокий потенциал предложенных антисенс – олигодезоксинуклеотидов в разработке методов лечения и профилактики прионных инфекций.

Авторы благодарят West-Ukrainian Biomedical Research Centre за финансовую поддержку.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРИРОДНЫХ ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

Готовцева В.Ю., Борисова Н.А., Бибикова М.В.

Московский государственный университет инженерной экологии, Москва (Россия)

E-mail: *minako@mail.ru*

В последние десятилетия все более остро встает проблема распространения резистентных возбудителей инфекционных заболеваний. В связи с этим поиск и получение новых биологически активных соединений является одним из важных направлений современной медицинской микробиологии. Одним из факторов, способствующих формированию резистентности, является способность микроорганизмов к образованию биопленок, устойчивость которых во многом определяется продуцированием бактериями так называемого полимерного матрикса. Среди прочих молекул, в состав матрикса входят липиды (рамнолипиды), полисахариды и внеклеточная ДНК.

Учитывая эти особенности строения биопленок, нами было изучено влияние комплексных природных гипополипидемических соединений, продуцируемых актиномицетами, на образование биопленок бактериями *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Micobacterium sp.* 3207 и совместное с гентамицином влияние этих соединений на выживаемость планктонных клеток *Ps. aeruginosa*. Также были проведены опыты по оценке антибиотического спектра исследуемых соединений.

В работе были исследованы спиртовые экстракты из мицелия 16 культур актиномицетов, проявляющих гипополипидемические свойства. Препарат №6 ингибировал образование биопленок *Micobacterium sp.* 3207 в концентрации 1мкг/мл на 29%, а в конц. 100 мкг/мл на 65%. При действии на планктонную культуру в дозе 1мкг/мл наблюдался максимум подавления роста (95%).

Препарат № 59 при концентрации 1 мкг/мл подавлял образование биопленок *Ps. aeruginosa* ATCC 27853 на 20%. Таким образом в ходе эксперимента было отобрано 5 экстрактов, ингибирующих образование биопленок.

При добавлении отобранных соединений совместно с гентамицином в питательную среду с бульонной культурой *Ps. aeruginosa* ATCC 27853, они усиливали действие антибиотика, снижая его МПК в 2 раза.

Все исследуемые соединения в разной степени подавляли рост лабораторных тест культур *Aspergillus niger*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans* и *E.coli*.

ВЛИЯНИЕ СИСТЕМНОГО ВВЕДЕНИЯ ЭНДОМОРФИНА-2 НА СПОНТАННОЕ ПОВЕДЕНИЕ САМЦОВ И САМОК БЕЛЫХ КРЫС

Иванова Е.А., Малышев А.В., Сарычева Н.Ю., Дубынин А.В.

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва (Россия)

E-mail: katya.kilgor@gmail.com

Эндоморфины – эндогенные пептиды, наиболее специфичные природные лиганды μ -опиоидных рецепторов.

Физиологические эффекты эндоморфинов ещё не полностью исследованы. Влияние эндоморфинов на нервную систему включает регуляцию исследовательского, оборонительного, полового поведения, действие на память и обучение. Антидепрессантное и анксиолитическое действие эндоморфинов опосредовано, в частности, влиянием на ГАМК-эргическую систему мозга.

В представленной работе изучалось влияние системного введения эндоморфина-2 (5 мг/кг, в/б) на спонтанное поведение белых крыс. В тестах «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) и «открытое поле» (ОП) использовано 32 самца и 24 самки.

При тестировании в ПКЛ у самцов крыс, получивших пептид, наблюдалось увеличение числа выходов на открытые лучи, переходов между открытыми лучами и свешиваний. Эти параметры относят к «поведению риска», связанному с усилением ориентировочно-исследовательской реакции и снижением тревожности. Таким образом, введение эндоморфина-2 снижает тревожность и усиливает исследовательскую мотивацию у самцов. В тесте ОП значимых изменений поведения у самцов опытной группы не обнаружено.

У самок под влиянием препарата оказалось увеличено число отходов от стенки и выходов в центр арены в тесте ОП, что трактуется как признак усиления ориентировочной мотивации и снижения тревожности. В то же время в тесте ПКЛ не было выявлено значимых изменений поведения у самок опытной группы.

Таким образом, при системном введении эндоморфина-2 наблюдается снижение тревожности; очевидно, это опосредовано действием препарата на μ -опиоидные рецепторы головного мозга. Однако у самцов данный эффект проявляется в условиях теста с избегаемым стрессогенным фактором (ПКЛ), а у самок - в эксперименте с неизбегаемым стрессором (ОП), что позволяет предположить существование межполового различия в устройстве системы опиоидных нейронов, контролирующей ГАМК-эргические области мозга.

ИЗУЧЕНИЕ СТРЕСС-ПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ АКТГ-ПОДОБНЫХ ПЕПТИДОВ

Ковалицкая Ю.А., Садовников В.Б., Наволоцкая Е.В.

Филиал института биоорганической химии им. акад. М.М.Шемакина и Ю.А.Овчинникова РАН, Пущино (Россия)

E-mail: *kovalitskaya@inbox.ru*

В настоящее время жизнь современного человека представляет собой череду стрессовых воздействий, различных по силе и продолжительности. Помимо положительной роли стресса – тренировка всех систем органов, есть и отрицательный эффект. При длительном стрессовом воздействии чрезмерное выделение гормонов надпочечников приводит к развитию патологических процессов. Введение экзогенных препаратов, защищающих организм от действия стрессора, позволит предотвратить патологические изменения в организме.

В нашей лаборатории был синтезирован пептид Lys-Lys-Arg-Arg, представляющий собой фрагмент АКТГ (15-18) и его аналоги $\text{CH}_3\text{CO-Lys-Lys-Arg-Arg-NH}_2$, и $\text{cyclo(Lys-Lys-Arg-Arg)}$. С помощью радиолигандного анализа мы установили, что фрагмент АКТГ (15-18) с высоким сродством взаимодействует с рецептором АКТГ на мембранах надпочечников крыс (K_d 2.1 ± 0.1 нМ), однако не влияет на активность фермента аденилатциклазы. Поскольку Lys-Lys-Arg-Arg демонстрирует свойства антагониста АКТГ, мы изучили действие синтезированных пептидов на уровень глюкокортикоидов и катехоламинов в крови и надпочечниках крыс при экстремальных стрессовых воздействиях.

Мы показали, что синтезированные пептиды при трехкратном интраназальном введении в дозе 10 и 20 мкг/животное до стрессового воздействия (тепловой и холодовой шок, гипобарическая гипоксия), а также при внутривенном введении в дозах 0.5 -2 мкг/животное сразу после острой геморрагии нормализуют уровень кортикостерона и адреналина в крови и надпочечниках крыс. Пептид $\text{CH}_3\text{CO-Lys-Lys-Arg-Arg-NH}_2$ (авторское название протектин), снижал уровень кортикостерона и адреналина в крови и надпочечниках крыс до контрольных значений в меньшей дозе, чем другие пептиды во всех экспериментах. Таким образом, протектин обладает наибольшей активностью, чем Lys-Lys-Arg-Arg и $\text{cyclo(Lys-Lys-Arg-Arg)}$, что позволяет рекомендовать создание на его основе стресс-протекторного препарата.

ВЛИЯНИЕ АЦЕТАТА СВИНЦА НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНУЮ СТРУКТУРУ ГЕПАТОЦИТОВ ПРИ СВИНЦОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Шиндёнкова С.И., Овечкина А.П., Кузьмичева Л.В.

Мордовский государственный университет им. Н.П.Огарева, Саранск (Россия).

E-mail: *owe4kina.alyona@yandex.ru*

Одним из наиболее активных факторов разрушающих нормальную структуру печени является воздействие солей тяжелых металлов, ведущее место среди которых занимает свинец.

Целью данной работы явилось исследование морфофункциональных изменений в печени крысы при свинцовой интоксикации.

Исследование проводилось на белых беспородных крысах обоего пола, массой 160-180 г. Животные делились на 2 группы: 1-ая – контрольная, рацион животных состоял из зерна и воды; 2-ая – помимо обычного кормления зерном крысы получали раствор ацетата свинца (100 мг/кг) в течение 7, 14 и 21 суток. Эксперименты на крысах осуществляли в соответствии с требованиями Женевской конвенции «International Guiding Principles for Biomedical Research

Inroling Animals» (Geneva, 1990). Материалом для исследования служили ткань печени крыс. Окраску осуществляли гематоксилином и эозином.

Результаты исследований показали, что после недели воздействия ацетата свинца наблюдалось полнокровие центральных вен, и обнаруживалась значительная отечность гепатоцитов по сравнению с контролем. При исследовании на 14 день после воздействия металла в некоторых участках наблюдалось расширение просвета синусоидных гемокапилляров и гиперхромность ядер. По истечении 21-х суток токсического воздействия в гепатоцитах наблюдались процессы склеротизации с последующими цирротическими изменениями. Были обнаружены обширные зоны с признаками некроза, представленные гепатоцитами с темными ядрами и бледной вакуолизированной цитоплазмой. Часто встречались участки с полностью разрушенными клетками.

Таким образом, свинец, попадая через воротную вену в печень, вызывает патологические изменения морфологической структуры гепатоцитов, приводящее к токсическому гепатиту.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВЕКТОРОВ НА ОСНОВЕ АДЕНОАССОЦИИРОВАННЫХ ВИРУСОВ В ГЕННОЙ ТЕРАПИИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Усманов Р.Х., Патрушев Ю.В., Черенкова Е.Е.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань (Россия)

E-mail: *spidey.91@mail.ru*

Нейродегенеративные заболевания возникают в результате потери нейронов, вызванных мутациями определенных генов, которые могут быть остановлены путём введения в геном клетки-мишени терапевтического гена с целью повышения жизненной стойкости нейрона.

Аденоассоциированный вирус (англ. Adeno-associated virus, AAV) инфицирует широкий спектр как делящихся, так и неделящихся клеток человека, может встраиваться в геном хозяина в строго специфичном месте, обладает низкой иммуногенностью. По этим причинам AAV используют для создания векторов для генной терапии нейродегенеративных заболеваний. Вектора на основе AAV безопасны в отличие от других вирусных векторов (например, ретровирусы обладают мутагенным эффектом, так как встраиваются в геном хозяина случайным образом).

Цель работы - получение рекомбинантных плазмидных векторов на основе аденоассоциированного вируса, кодирующих различные терапевтические гены.

В работе использовался вектор pAAV-IRES-hrGFP (Stratagene), в который были клонированы терапевтические гены VEGF, GDNF, NGF или BDNF. VEGF - эндотелиальный фактор роста сосудов, GDNF - глиальный нейротрофический фактор, NGF - нейростатин, BDNF - нейротрофический фактор мозга. Для наработки рекомбинантных плазмид проводили бактериальную трансформацию компетентных клеток *E. coli* набором One Shot® Top10 Competent Cells (Invitrogen) и выделяли плазмидную ДНК набором QIAfilter Plasmid Purification Midi Kit (Qiagen). Для проверки выделения проводили рестрикционный анализ, секвенирование плазмидной ДНК с геноспецифичными праймерами и сравнение полученных нуклеотидных последовательностей клонированных генов с базой данных нуклеотидных последовательностей GenBank.

Сравнение показало полную гомологию последовательностей терапевтических генов VEGF, GDNF, NGF и BDNF с имеющимися последовательностями в базе данных. Полученные препараты плазмидной ДНК, с вставкой терапевтических генов, будут использованы для получения инфекционных аденоассоциированных вирусных частиц для дальнейших исследований.

ПОВЫШЕНИЕ ДОЛИ МУТАНТНОЙ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК У ПАЦИЕНТОВ С РАКОМ ЛЕГКИХ

Стрелкова И.Ю., Безлепкина В.Г.

Учреждение Российской академии наук Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино (Россия)

E-mail: *xf2@rambler.ru*

Количественные и качественные изменения внеклеточной ДНК, циркулирующей в плазме крови, рассматриваются как удобные и неинвазивные маркеры для диагностики, мониторинга и прогнозирования характера развития опухолевых патологий.

Мы исследовали содержание мутантных копий циркулирующей внеклеточной митохондриальной ДНК (вк-мтДНК) в плазме крови у 8 больных раком легких до и после проведения радиотерапии, а также у здоровых доноров пожилого (средний возраст 66 лет) и молодого (23 года) возраста. Для определения содержания копий вк-мтДНК был использован ферментативный метод, основанный на расщеплении *CEL-I* эндонуклеазой участков ДНК с неспаренными основаниями. Количественная регистрация флюоресценции полос ДНК на электрофореграммах позволила определить процент продуктов, отщепившихся в результате действия фермента, относительно общей светимости ДНК на дорожке геля.

Было обнаружено, что доля митохондриальной ДНК с мутациями в составе общей циркулирующей ДНК в плазме здоровых пожилых доноров значительно выше, чем в плазме молодых доноров. С другой стороны, наблюдается существенное повышение доли вк-мтДНК с мутациями в плазме больных раком легких до проведения радиотерапии по сравнению с таковой у здоровых доноров пожилого возраста. У пациентов, страдающих раком легких, после проведения курса радиотерапии происходит двукратное увеличение доли вк-мтДНК с мутациями в составе общей циркулирующей ДНК плазмы.

Предполагается, что повышение доли мутантных копий вк-мтДНК в плазме крови может быть обусловлено высвобождением мутантных копий ДНК из гибнущих клеток опухоли и клеток, поврежденных радиационным воздействием нормальных тканей. Повышенное содержание вк-мтДНК с мутациями, циркулирующей в плазме крови, можно рассматривать как потенциальный маркер для оценки эффективности радиотерапии опухоли, а также для определения уровня генотоксического груза при радиационном поражении организма.

КОНСТРУИРОВАНИЕ МУЛЬТИЦИСТРОННЫХ ВЕКТОРОВ ДЛЯ ГЕННО-КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА

Черенкова Е.Е., Ризванов А.А.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань (Россия)

E-mail: *kathryn.cherenkova@gmail.com*

На сегодняшний день нет эффективных способов лечения нейродегенеративных заболеваний человека, в том числе бокового амиотрофического склероза. Существующие методы лечения симптоматичны и не позволяют замедлить или обратить основную причину заболевания - нейродегенерацию мотонейронов спинного мозга. В связи с этим встает вопрос разработки принципиально новых методов генной и клеточной терапии нейродегенеративных заболеваний. Мультицистронные генные конструкции способны существенно повысить эффективность генной и генно-клеточной терапии бокового амиотрофического склероза. 2А олигопептиды, полученные из вируса ящура, могут использоваться в генной терапии и биотехнологии для ко-экспрессии множества дискретных белков с одной открытой рамки считывания, в том числе для экспрессии комбинаций терапевтических генов для дальнейшего применения в лечении нейродегенеративных заболеваний.

Для создания мультицистронных конструкций проводили ПЦР-амплификацию с геноспецифичными праймерами, содержащими сайты рестрикции и 2А-пептидные фрагменты (p2A, T2A, E2A) с последующим клонированием ПЦР-фрагментов в экспрессионные плазмидные вектора.

Были разработаны генные конструкции, содержащие терапевтические гены, содержащие 2А-пептидные фрагменты: сосудистый эндотелиальный фактор роста - VEGF (изоформы 121, 165, 189); глиальный нейротрофический фактор - GDNF; основной фактор роста фибробластов - FGF2. В дальнейшем мы планируем создать мультицистронные генные конструкции, содержащие комбинации терапевтических генов, для клонирования в экспрессионные вектора, например на основе адено-ассоциированных вирусов, для разработки новых подходов генной и генно-клеточной терапии различных заболеваний человека.

РАДИОЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ БИОПОЛИМЕРА ХИТОЗАНА ПРИ ПРОФИЛАКТИКЕ ЛУЧЕВОЙ БОЛЕЗНИ

Ешкова О.Ю., Таламанова М.Н., Корягин А.С.

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

E-mail: oksana2027@mail.ru

В настоящее время актуален поиск природных радиопротекторов. Перспективен в этом направлении хитозан. Целью данной работы было исследование радиозащитного эффекта хитозана с молекулярной массой 130 кДа при профилактическом пероральном введении в условиях повреждающего действия γ -облучения.

Профилактическое введение хитозана (1 мл на животное перорально с помощью зонда периодичностью 1 раз в сутки) проводили в течение 7 суток, через сутки после окончания введения животные опытной и контрольной групп подвергались общему однократному γ -облучению в дозе 5 Гр (костномозговая форма лучевой болезни средней степени тяжести). На 3, 14 и 28 сутки после облучения в плазме крови животных определяли содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) – диеновых конъюгатов (ДК), триеновых конъюгатов (ТК) и оснований Шиффа (ОШ), уровень которых свидетельствует о повреждении биологических структур свободнорадикальными процессами.

Установлено, что на 3 сутки статистически значимых изменений уровня продуктов ПОЛ у животных контрольной и опытной групп не наблюдалось. На 14 сутки выявлено снижение ТК и ОШ в опытной группе ($p \leq 0,05$) относительно контрольных животных. На 28 сутки содержание ДК и ТК в опытной группе приблизилось к показателям интактных животных, а уровень ОШ снизился в 2 раза по отношению к контролю, что свидетельствует о снижении процессов пероксидации. Полученные данные могут свидетельствовать о радиопротективном действии высокомолекулярного хитозана при его профилактическом пероральном введении.

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *MTHFR* НА РАЗВИТИЕ И ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ МИГРЕНИ С АУРОЙ

Коробейникова Л.А.¹, Азимова Ю.Э.², Сергеев А.В.², Климов Е.А.^{1,3}, Табеева Г.Р.²

¹Учреждение Российской академии наук Институт общей генетики им. Н.И.Вавилова РАН; ²Научно-исследовательский центр Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М.Сеченова; ³Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, биологический факультет, Москва (Россия)

E-mail: korobeynikova_1@mail.ru

Мигрень – одно из наиболее распространенных социально значимых заболеваний, имеющих четкую генетическую предрасположенность. Одним из наиболее изученных генов, связываемых с мигренью, является ген *MTHFR*, кодирующий фермент 5,10-метилентетрагидрофолат редуктазу. Ранее было показано, что мутация С677Т в гене *MTHFR* достоверно чаще встречается у больных мигренью, чем у здоровых людей, причем в ряде работ корреляция обнаружена только для группы пациентов, страдающих мигренью с аурой. Целью данной работы была оценка частоты встречаемости однонуклеотидной замены С677Т в гене *MTHFR* в выборке пациентов с мигренью (с аурой и без ауры) и выборке здоровых жителей и сопоставление генотипов по данному локусу с рядом особенностей течения данного заболевания.

По нашим данным частоты генотипов по локусу С677Т в гене *MTHFR* в выборке пациентов с мигренью (n=83) составляют: СС - 38,5% (32 человека), СТ - 39,8% (33 человека), ТТ - 21,7% (18 человек). Соответствующие частоты в выборке здоровых жителей (n=50) составляют: СС - 52,0% (26 человек), СТ - 40,0% (20 человек), ТТ - 8,0% (4 человека). Таким образом, частота встречаемости замены С677Т в выборке пациентов с мигренью достоверно выше по сравнению

с частотой в выборке здоровых лиц ($\chi^2=4,96$, $p=0,02598$). Кроме того, мигрень с аурой достоверно чаще встречалась в группе пациентов-носителей Т-аллеля (37.2%) по сравнению с пациентами с СС генотипом (0%), $p<0,0001$. Также обнаружено, что у больных мигренью с аурой и мигренью без ауры с ТТ-генотипом по локусу 677MTHFR имеет место большая представленность сопутствующих симптомов (тошнота, фотофобия, фонофобия). Статистически достоверные различия получены только по фотофобии.

Согласно полученным данным аллель 677Т гена MTHFR может рассматриваться в качестве фактора риска развития мигрени с аурой.

НОВЫЙ МЕТОД КУЛЬТИВИРОВАНИЯ IN VITRO ТКАНЕЙ ГЛАЗА КРЫСЫ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ СОСТОЯНИЯ ТКАНЕЙ ПРИ ПАТОЛОГИЯХ IN VIVO

Новикова Ю.П.

Институт биологии развития им. Н.К.Кольцова РАН, Москва (Россия)

E-mail: novikovayulia@gmail.com

Нами предложен метод для органотипического роллерного 3D культивирования заднего сектора (комплекс «пигментный эпителий + сосудистая оболочка (хороид) + склеральная оболочка) и сетчатки глаза взрослой крысы альбиноса. Метод позволяет поддерживать жизнеспособную ткань *in vitro* в течение как минимум 14 дней, т.е. во много раз дольше, чем при использовании условий стационарного культивирования *in vitro*. Метод дает возможность наблюдения за поведением клеток пигментного эпителия сетчатки во взаимодействии с хориокапиллярной оболочкой, что не может быть сделано при использовании его клеточной культуры.

Основная новизна метода состоит в том, что органотипическое культивирование происходит в замкнутом объеме, без смены среды и при постоянном вращении. При этом образцы ЗСГ и сетчатки находились во взвешенном состоянии, не залипая на внутреннюю поверхность флаконов, что при постоянном перемешивании среды в результате вращения обеспечивало омывание препаратов свежей порцией среды и не допускало их деформации. С помощью предложенного метода проведено исследование пигментного эпителия сетчатки в составе комплекса и изолированной сетчатки и показано, что их клетки в условиях роллерного органотипического культивирования способны к трансформации фенотипа, миграции и пролиферации. В отсутствие взаимодействия с сетчаткой клетки пигментного эпителия активно проявляют свойства чистильщиков – фагоцитов как вне слоя, так и оставаясь в его составе. События, происходящие с клетками пигментного эпителия в условиях роллерного культивирования *in vitro*, аналогичны тем, что наблюдаются при различных патологиях сетчатки *in vivo*.

Данный подход может быть использован для а) исследования действия на пигментный эпителий и сетчатку глаза различных факторов при добавлении их в среду культивирования, б) моделирования процессов, происходящих в пигментном эпителии при повреждении и патологических состояниях сетчатки, и в) изучения регенерационных ответов клеток пигментного эпителия сетчатки у развивающихся и взрослых высших позвоночных животных.

СУБМИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОЧКИ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ЭНДОТОКСИКОЗЕ

Сорока Ю.В., Лисничук Н.Е., Демкив И.Я., Кулицкая М.И.

Тернопольский государственный медицинский университет им. И.Я.Горбачевского,
Тернополь (Украина)

E-mail: iria_ternopil@mail.ru

Целью данного исследования было изучение ультраструктурных изменений компонентов нефрона белых крыс при экспериментальном эндотоксикозе (ЭТ).

Животные были разделены на 4 группы: 1 группа - контрольная (10 крыс); 2-4 группы – животные с экспериментальным эндотоксикозом, выведенные из эксперимента на 2, 7, 14

сутки (30 животных). При моделировании ЭТ использована модель, основанная на введении малых доз бактериального липополисахарида и тетрахлорметана (Новочадов, 2005.)

Электронномикроскопическое исследование коркового вещества почки на 2 сутки эксперимента выявило его значительные изменения. В составе сосудистого клубочка почечного тельца базальная мембрана становится местами утолщенной. Эндотелиоциты кровеносных капилляров увеличены, в их цитоплазматических участках фенестры расширены. Цитопедиккулы, в зависимости от участка фильтрационного барьера, тонкие и удлиненные, или утолщенные и набухшие, отмечается слияние отдельных педиккул между собой. Просветы капилляров сосудистого клубочка расширены, содержат форменные элементы и вакуолеподобные структуры.

Субмикроскопические исследования коркового вещества почек на 7 сутки эксперимента выявили нарастание выраженности деструктивных изменений. Канальцы гранулярной эндоплазматической сетки и цистерны комплекса Гольджи расширены, частично фрагментированы. От гомогенной, неравномерной по толщине, базальной мембраны отходят короткие складки плазмолеммы, которые имеют неупорядоченное направление. В клетках наблюдаются гипертрофированные митохондрии со светлым матриксом и значительно разрушенными кристами. Ядра выглядят уменьшенными, их кариоплазма мелкозерниста.

На 14 сутки эксперимента визуализировались ультраструктурные изменения структурных компонентов нефрона, аналогичные отмеченным ранее. Однако следует заметить, что степень деструкции подоцитов и набухания их цитопедиккул менее выражена. Отмечено нормализацию базальной мембраны на отдельных участках, а также улучшение структуры эндотелиоцитов гемокапилляров.

ВЛИЯНИЕ ПАРАФАРМАЦЕВТИКА «ЛОНГОЛАЙФ-ИВМЕД» НА ПРОЦЕССЫ ОБУЧЕНИЯ И ПАМЯТИ У КРЫС

Масловская Е.В.¹, Кадималиев Д.А.², Коваленко А.П.¹

¹Научно-исследовательский, лечебно-реабилитационный центр
«Институт биологической медицины», Москва (Россия)

²Мордовский государственный университет им. Н.П.Огарева, Саранск (Россия)

E-mail: lenababich@yandex.ru

В первую очередь на поступление алкоголя в организм реагирует нервная система. Проникая внутрь нервной клетки, алкоголь нарушает строение ее цитоплазмы, в результате чего клетка утрачивает свою способность воспринимать и проводить раздражения. И если при редком употреблении спиртного эти нарушения носят функциональный, т.е. обратимый характер, то интоксикация алкоголем, длящаяся годами, вызывает стойкие морфологические изменения в различных органах.

Актуальным на сегодняшний день остается поиск новых высокоэффективных и безопасных средств, обладающих нейропротективным действием.

Для моделирования токсического полиорганного поражения этанол, разведенный водой, вводили крысам 3 раза в день на протяжении 5 дней. Парафармацевтик «ЛОНГОЛАЙФ-ИВМЕД» назначали с 6 дня, т.е. после формирования токсического поражения, в течение 14 дней. Влияние алкоголя на центральную нервную систему животных проявлялось в нарушении процесса обучения и памяти, для регистрации которого использовалась установка условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ).

Прежде всего, следует отметить, что клиническая картина в группе животных, получавших алкоголь без лечения, характеризовалась некоторой гиподинамией, взъерошенностью шерсти, неопрятностью животных. Данная группа животных, после обучения в 2,7 раза дольше находилась в темной камере, латентное время реакции перехода было на 26% дольше показателей интактной группы. Количество обученных животных не превышало 50%.

Прием препарата положительно отразился на восстановлении функции центральной нервной системы животных. В группе животных, получавших исследуемый парафармацевтик, в тесте УРПИ число обученных животных составляло 100%. Латентный период не превышал показатель интактной группы. Также увеличилось время пребывания животных в светлой

камере и сократилось время пребывания в темной, что практически соответствовало показателям интактной группы.

Из всего выше сказанного можно заключить, что парафармацевтик «ЛОНГОЛАЙФ-ИВМЕД» практически полностью и достоверно нормализует состояние и функции мозга, то есть оказывает нейропротективное действие.

ВЛИЯНИЕ ЭМОЦИОНАЛЬНО-БОЛЕВОГО СТРЕССИРОВАНИЯ НА МОРФОЛОГИЮ ПИРАМИДНЫХ НЕЙРОНОВ ГИППОКАМПА КРЫС ДВУХ ЛИНИЙ

Левина А.С.

Институт физиологии им. И.П.Павлова РАН, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: *anna.avia@gmail.com*

В настоящее время известно, что сильные эмоциональные потрясения способны вызвать как временные, так и длительные депрессивные и тревожные психические расстройства. К последним относится посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР), для которого клинически показан не только комплекс долговременных эмоциональных и когнитивных нарушений, но и морфологические изменения структур головного мозга, в частности - уменьшенный объём гиппокампа. Один из возможных механизмов этого явления - повреждение и/или гибель нейронов вследствие их гипервозбуждения, сопровождающего стрессовое состояние. К тому же, на предрасположенность индивида к развитию стрессогенных психических расстройств влияют наследственно обусловленные особенности его нервной системы.

В данной работе на модели ПТСР - двух линиях крыс, различающихся по порогу возбудимости нервной системы - изучалось влияние эмоционально-болевого стрессирования на морфологию пирамидных нейронов гиппокампа. На окрашенных фронтальных срезах гиппокампа были выявлены клетки с аномальной морфологией - так называемые «тёмные нейроны» (компактные, неправильной формы, со смещённым ядром) - после чего было рассчитано процентное отношение числа «тёмных» клеток к общему числу пирамидных нейронов в каждом структурном поле гиппокампа справа и слева.

На основании этих данных были показаны эффекты стресса на морфофункциональное состояние нервных клеток. В частности, было продемонстрировано достоверное увеличение числа аномальных нейронов в результате стрессирования у крыс обеих линий. Обсуждаются возможные механизмы влияния стресса на изменение морфологии пирамидных нейронов гиппокампа.

ИССЛЕДОВАНИЕ ТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК

Полякова И.А.¹, Гусев А.А.¹, Емельянов А.В.¹, Ткачев А.Г.²

¹Тамбовский государственный университет им. Г.Р.Державина;

²ООО «НаноТехЦентр», Тамбов (Россия)

E-mail: *Inok_tambov@mail.ru*

За последние 20 лет резко возрос риск воздействия техногенных наночастиц на население. По данным Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека количество наноматериалов, зарегистрированных в мире с 2008-го по октябрь 2010-го года выросло с 1180 до 2610. Отмечается, что 30% всех зарегистрированных наноматериалов - углеродные нанотрубки (УНТ) и фуллерены. При этом нанотрубки сложно исследовать на токсичность: вредное воздействие на живой организм может сильно отличаться от размеров и структуры трубки.

К настоящему времени проведено большое число токсикологических исследований углеродных нанотрубок на млекопитающих и результаты оказались весьма противоречивыми. Учёные Национального института по обеспечению безопасности и охране здоровья в области профессиональной деятельности (National Institute for Occupational Safety and Health, NIOSH, США), а также ряда других организаций показали, что УНТ при попадании в легкие у мышей

вызывают развитие воспалительного процесса. Исследователи из University of Dayton (США) L.Zhu, D.Chang, L.Dai и Y.Hong выяснили, что УНТ способны накапливаться внутри эмбриональных стволовых клеток мышцы, вызывая повреждения ДНК.

В то же время, ученые Стэнфордского университета, работающие под руководством профессора Hongjie Dai пришли к выводам, что аккумулирующиеся в организме мышей углеродные нанотрубки не обладают токсическим действием.

В доступной литературе нами не было обнаружено исследований возможного негативного воздействия углеродных нанотрубок на репродуктивную систему млекопитающих.

Проведено исследование токсичности УНМ «Таунит» (многостенные углеродные нанотрубки, производитель – ООО «НаноТехЦентр», г. Тамбов). Установлено, что наноматериал в дозировке 30 мг/кг проявляет токсическое действие, которое выражается в подавлении репродуктивной деятельности лабораторных мышей. Данные исследования должны получить продолжение для обеспечения безопасного внедрения УНТ в качестве конструкционного материала нового поколения.

ФЕРМЕНТЫ ОБМЕНА АММИАКА В ПЕЧЕНИ И ОТДЕЛАХ МОЗГА ПРИ ОСТРОМ ОТРАВЛЕНИИ АММИАКОМ

Белоушко Е.Е., Тихонова Л.А., Косенко Е.А., Каминский Ю.Г.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН; Пушкинский
государственный университет, Пушкино (Россия)

E-mail: *katrin.macabre@mail.ru*

Аммиак является нормальным клеточным метаболитом, но повышение его концентрации в крови, или гипераммониемия, приводит к неблагоприятным последствиям, включая судороги, кому и смерть. Концентрация аммиака в тканях и жидкостях организма животного у человека поддерживается на невысоком уровне благодаря наличию в печени ферментов цикла мочевины. В обмене аммиака прямо или косвенно участвуют также многие другие ферменты, в том числе глутаматдегидрогеназа, глутаминаза, глутаминсинтетаза, аспаратаминотрансфераза, аланинаминотрансфераза, аденозиндезаминаза и АМФ-дезаминаза, однако их роль в развитии или защите от гипераммониемии изучена недостаточно.

В данной работе измерена активность указанных ферментов в митохондриях и цитоплазме печени, неокортекса, мозжечка, полосатого тела и гиппокампа крыс в норме и после внутрибрюшинного введения летальной дозы ацетата аммония.

Многokратное повышение содержания аммиака в крови, печени и всех отделах мозга наблюдалось уже через 11 мин после введения. Острая гипераммониемия сопровождалась повышением активности глутаминсинтетазы в цитоплазме неокортекса при неизменной активности в мозжечке, полосатом теле, гиппокампе и печени. Активность аспаратаминотрансферазы повышалась в цитоплазме неокортекса и гиппокампа и в митохондриях неокортекса, снижалась в цитоплазме мозжечка и митохондриях полосатого тела. Активность аланинаминотрансферазы снижалась в митохондриях, не менялась в цитоплазме всех отделов мозга. Активность глутаминазы в митохондриях, АМФ-дезаминазы и аденозиндезаминазы в цитоплазме повышалась в 2-5 раз почти во всех отделах мозга и печени.

Таким образом, разные отделы мозга имеют разную чувствительность к аммиаку, что выражается в разной степени активации ферментов, участвующих в детоксикации этого нейротоксина. При острой гипераммониемии наименее уязвима кора мозга, а дополнительную роль в токсичности аммиака в гиппокампе, мозжечке и полосатом теле играют глутаминаза, АМФ-дезаминаза и аденозиндезаминаза.

Работа поддержана грантом РФФИ № 09-08-00420.

ВЛИЯНИЕ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ-ГИПЕРКАПИИ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЭРИТРОЦИТОВ

Сладкова Е.А., Забияков Н.А.

Белгородский национальный исследовательский университет, Белгород (Россия)

E-mail: *serious2x@rambler.ru*

Гипоксия – состояние организма, сопровождающееся нарушением структуры и свойств клеток крови. Цель исследования – изучить воздействие острой гипоксии-гиперкапнии на морфофункциональные показатели эритроцитов.

Эксперимент выполнен на 12 половозрелых самцах беспородных лабораторных крыс. Состояние острой гипоксии-гиперкапнии моделировали путем помещения животных в замкнутый сосуд. Крыс контрольной группы содержали в клетках при стандартных условиях окружающей среды. Исследования выполнены с соблюдением требований Хельсинкской декларации по гуманному обращению с животными. Морфометрические параметры эритроцитов изучали на атомно-силовом микроскопе в режиме полуконтактного сканирования. Поверхностный потенциал клеток измеряли, используя метод пробы Кельвина.

В результате проведенных экспериментов установлено снижение высоты, уменьшение объема и площади поверхности эритроцитов соответственно на 9,8, 15 и 7% ($p < 0,05$) в группе опытных крыс по сравнению с контролем. В периферической крови подопытных крыс присутствовали гипохромные эритроциты, поверхностный потенциал которых увеличивался на 27,8% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем.

Таким образом, состояние острой гипоксии-гиперкапнии вызывает существенную перестройку популяционного состава циркулирующих эритроцитов. При повышенном кислородном запросе организма функциональная активность системы увеличивается за счет появления микроцитов с повышенным поверхностным потенциалом. Уменьшение размеров клеток, сопровождаемое возрастанием их заряда, обеспечивает повышение скорости оксигенации в тканях.

ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ЮНОШЕЙ И ДЕВУШЕК ГОРОДА СТЕПАНАКЕРТА

Галстян А.Г.

Арцахский государственный университет, Степанакерт (Армения)

E-mail: *ghg77@mail.ru*

Количественные показатели периферической крови человека являются одними из самых информативных при оценке состояния его здоровья, а знание гематологической нормы в возрастном аспекте необходимо для диагностирования пограничных состояний и выявления групп риска. При этом необходимо принимать во внимание этническую принадлежность человека и особенности среды. Ввиду малоизученности данного вопроса в регионе задача ставилась с учетом обнаружения некоторых региональных особенностей и установления нормативных значений этих показателей на данный период обследования.

Изучение материала, собранного по результатам общего анализа крови, производилось по общепринятой методике у 100 практически здоровых коренных жителей города Степанакерта обоего пола в возрасте 18-20 лет, с учетом отсутствия у них приема медикаментов, физиотерапевтических процедур, инъекций и рентгеновских исследований.

В результате статистической обработки данных были получены следующие значения: количество эритроцитов (парни и девушки) – 5.1 ± 0.5 и $4.1 \pm 0.3 \cdot 10^{12}/л$, гемоглобина – 149 ± 10.6 и 132 ± 7.9 г/л, цветной показатель – 0.88 ± 0.1 и 0.91 ± 0.1 , лейкоциты – 6.2 ± 1.3 и $5.8 \pm 1.3 \cdot 10^9/л$, СОЭ – 5.0 ± 3.4 и 8.0 ± 5.6 мм/ч, количество сахара крови – 4.0 ± 0.4 и 4.1 ± 0.4 ммоль/л соответственно. Наиболее вариабельным признаком оказалась СОЭ (коэффициент вариации составил 68.2 - 70.5%), крайними ее значениями у обследованных были 2 и 20 мм/ч. Более стабильным являлось количество гемоглобина (6.0-7.1%). В данных сахара крови наблюдалась тенденция к превалированию низких значений. Высокодостоверные различия ($p < 0.001$) между показателями парней и девушек наблюдались в отношении количества эритроцитов и гемоглобина, а также СОЭ ($p < 0.05$).

Проведенное исследование выявило, что основные показатели периферической крови юношей и девушек города Степанакерта находятся в пределах физиологической нормы, имеют определенные региональные особенности их уровня и характеризуются неоднородностью распределения. Полученные данные представляют информативный интерес и послужат базой для последующих наблюдений в динамике.

МЕХАНИЗМЫ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ БЕТА-АМИЛОИДНЫХ ПЕПТИДОВ

Соломадин И.Н., Тихонова Л.А., Косенко Е.А.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино (Россия)

E-mail: *iliusmaster@rambler.ru*

Достижения медицины расширили временные границы жизни до интервала 70 - 90 лет. С приближением столь пожилого возраста нас поджидает катастрофическое по своим последствиям заболевание - деменция «Альцгеймеровского» типа. Механизмы спорадического возникновения этой патологии до сих пор остаются не выясненными. Особые надежды исследователи связывали с открытием основного компонента «альцгеймеровых» бляшек - бета - амилоидных пептидов. Оптимистичные прогнозы рассказывали о грядущей победе над заболеванием, но до сих пор, спустя 25 лет, мы не можем добиться сколь-нибудь значимых результатов в раскрытии тайны возникновения и развития этой деменции. Завершая один из этапов работы по определению возможных путей развития болезни Альцгеймера, в рамках «каскадной амилоидной гипотезы», представлены результаты многочисленных экспериментов авторов по определению механизмов токсического действия бета - амилоидных пептидов на различные компоненты и системы клеток мозга и крови.

Рассмотрены нарушения в системе обмена активированных кислородных метаболитов (АКМ), как основной причины развития окислительного стресса, в условиях введения амилоидных пептидов в мозг. Показаны изменения в активностях ферментов, участвующих в процессах утилизации АКМ. Наблюдались изменения в активности супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, каталазы. Обнаружено снижение количества восстановленного глутатиона и накопление окисленной формы этого важного компонента антиокислительной защиты. Приведены результаты экспериментов по изучению воздействия амилоидных пептидов на эритроциты крысы и человека. Описаны возможные механизмы, включая нарушения в ионном балансе клеток, нарушение метаболизма клеток, изменения в асимметрии мембран - выход фосфатидилсерина в поверхностный слой липидов. Обнаружены изменения в составе мембранносвязанных белков. Открытие механизмов токсического действия бета - амилоидных пептидов не дало нам ответа на главные вопросы:

1. Являются амилоидные пептиды причиной развития болезни Альцгеймера?
2. Каковы возможные причины накопления бета амилоидных пептидов в мозге?

Поиску ответов на эти вопросы будет посвящена дальнейшая работа.

АПОПТОЗ-ИНДУЦИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ КОМБИНАЦИЙ СИСТЕМНЫХ КОРТИКОСТЕРОИДОВ С ЦИТОЗИНАРАБИНОЗИДОМ НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ

Багина У.С., Курмышкина О.В.

Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск (Россия)

E-mail: *volkovato@yandex.ru*

Апоптоз является физиологическим механизмом устранения избыточных и/или функционально аномальных клеток, необходимым как для нормального развития многоклеточного организма в эмбриональном периоде, так и для поддержания тканевого гомеостаза у взрослых особей. Нарушения механизмов индукции апоптоза могут являться важным фактором патогенеза различных заболеваний, в том числе онкологических.

В настоящей работе нами была изучена способность группы системных кортикостероидов гидрокортизона, преднизолона и дексаметазона (концентрация реагентов 10 мкМ) в комбинации с цитозинарабинозидом (концентрация 2 мМ) индуцировать апоптоз в эритролейкемических клетках человека K562.

Показано, что одиночное использование указанных соединений не индуцировало апоптоз в опухолевых клетках в течение 2-х суток инкубации. На 4-е сутки в пробах, обработанных дексаметазоном или цитозинарабинозидом, имели место повышение внутриклеточной

концентрации Ca^{2+} , активности каспаз-8, -9, -3, и индукция фрагментации ДНК. При комбинированном действии веществ на клетки апоптоз наблюдался на 2-е сутки. Наиболее сильный апоптоз-индуцирующий эффект отмечен для комбинаций дексаметазона или преднизолона с цитозинарабинозидом. Количество опухолевых клеток с регистрируемыми признаками апоптоза составляло порядка 55–60%, тогда как в контрольных клетках этот показатель находился на уровне 3–5%.

В работе обсуждаются возможные пути реализации программы апоптоза на уровне вторичных мессенджеров при одновременном действии на клетки структурно различных химических реагентов.

Работа выполнена при финансовой поддержке НШ-3731.2010.4.

ПЛОТНОСТЬ КАПИЛЛЯРНОЙ СЕТИ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ В НОРМЕ И У ПАЦИЕНТА С ХАН ПОСЛЕ ПОВТОРНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Мавликеев М.О., Табанакова А.В., Трондин А.А., Певнев Г.О., Плотников М.В., Максимов А.В., Калигин М.С., Йылмаз Т.С., Газизов И.М., Гумерова А.А., Киясов А.П.

Казанский государственный медицинский университет, Казань (Россия)

E-mail: mikhail.mavlikeev@yahoo.com

Изучение механизмов терапевтического эффекта трансплантации стволовыми клетками (СК) при сердечно-сосудистых заболеваниях привлекает в последние годы большое внимание. Целью нашей работы стало сравнение плотности капиллярной сети в норме и у пациента с хронической артериальной недостаточностью (ХАН) нижних конечностей после двукратной трансплантации аутологичных СК периферической крови (СКПК).

Исследование выполнено на парафиновых срезах биоптатов икроножной мышцы пациента с ХАН ПБ степени в возрасте 56 лет, полученных до внутримышечных трансплантаций СКПК, произведенных с интервалом в 12 месяцев, и через 3 месяца после них, а также аутопсиях 4-х мужчин в возрасте $44 \pm 2,94$, умерших не от сердечно-сосудистой патологии. Производили иммуногистохимическое окрашивание образцов ткани с антителами к CD34 (маркер эндотелия), производили морфологический анализ окрашенных срезов, подсчет плотности капиллярной сети (ПКС). Статистическую обработку данных проводили путём оценки достоверности различий с помощью критерия Колмогорова-Смирнова.

По данным окрашивания с антителами к CD34 соотношение «число капилляров/число мышечных волокон» спустя 3 месяца после первой трансплантации достоверно повысилось (с $1,34 \pm 0,131$ до $1,72 \pm 0,173$, здесь и далее $p=0,01$), затем в течение года менялось незначительно (до $1,94 \pm 0,308$). Через 3 месяца после повторной трансплантации (15 месяцев после первой) наблюдали достоверный рост числа капилляров (до $2,5 \pm 0,634$). Средняя ПКС по данным окрашивания аутопсий составила $2,41 \pm 0,46$.

Таким образом, при ХАН происходит достоверное снижение ПКС. Трансплантация СКПК приводит к росту плотности капиллярной сети, эффект от однократной трансплантации СК сохраняется не менее 12 месяцев. Повторная аутотрансплантация СК приводит к дальнейшему росту капиллярной сети и восстановлению средневозрастных показателей ПКС.

ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПРОТИВОРАКОВОГО ЦИТОКИНА TRAIL И ЕГО МОДИФИЦИРОВАННОЙ ФОРМЫ IN VITRO

Долгих Н.В., Фадеев Р.С., Чеканов А.В., Акатов В.С.

Иркутский государственный университет, Иркутск (Россия)

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино (Россия)

E-mail: n.v.dolgikh@gmail.com

TRAIL (Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand) – это природный цитокин суперсемейства TNF, представлен трансмембранным белком на некоторых клетках иммунной

системы. Интерес к TRAIL как к природному противоопухолевому препарату связан с его способностью селективно вызывать гибель опухолевых клеток, не повреждая нормальные. В нативной форме TRAIL высокоактивен благодаря связи с клеточной мембраной, поддерживающей стабильность трехмерной конформации его внеклеточного домена. Однако для использования в противоопухолевой терапии возникает необходимость создания растворимой формы TRAIL. С помощью генной инженерии возможно создание растворимой внеклеточной части TRAIL обладающей противоопухолевой активностью. В настоящее время в США проводятся клинические испытания немодифицированной формы белка TRAIL (т.н. дикого типа), противоопухолевая активность которого не высока. В нашей лаборатории создан растворимый рекомбинантный модифицированный цитокин TRAIL, имеющий стабильную конформацию в растворе.

Целью настоящей работы является сравнительное изучение цитотоксического действия противоракового цитокина TRAIL (дикого типа) и его модифицированной формы на линии клеток опухолевого происхождения.

Противоопухолевое действие TRAIL исследовалось на линиях карцином человека (HEp2, HEpG2, OVCAR-3, LNCaP). Большинство исследованных клеточных линий слабо чувствительны или не чувствительны к белку TRAIL дикого типа. В результате исследований было показано, что цитотоксическая активность модифицированного белка TRAIL значительно выше, чем TRAIL дикого типа. В зависимости от клеточной линии уровень активности модифицированного цитокина TRAIL превышает активность TRAIL дикого типа в 500-800 раз.

ЭКСПРЕССИЯ БЕЛКОВ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА И CDK5 В ОТДЕЛАХ МОЗГА ЯКУТСКИХ СУСЛИКОВ НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ГОДОВОГО ЦИКЛА

Волкова Е.П., Сергунькина М.А., Яковлев А.А., Онуфриев М.В., Семенова Т.П.

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва (Россия)

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва (Россия)

Пензенский государственный педагогический университет им. В.Г.Белинского,
Пенза (Россия)

Учреждение Российской академии наук Институт биофизики клетки РАН,
Пушино (Россия).

E-mail: sciuriny@gmail.com

Зимняя спячка сопровождается понижением уровня метаболизма и представляет собой форму адаптации животных к действию неблагоприятных условий обитания. У гибернарующих животных наблюдаются пластические изменения нейронов: древовидные структуры дендритов укорачиваются при понижении температуры тела и растут при её повышении. Очевидно, что должны происходить изменения процессов, связанных с клеточным циклом. В связи с этим, целью работы явилось исследование экспрессии белков клеточного цикла (циклина B1 и cdk1) и связанной с пластичностью нейронов циклинзависимой киназы cdk5 в мозге якутских длиннохвостых сусликов (*Spermophilus undulates*) на разных стадиях годового цикла.

В работе использовали отделы мозга взрослых сусликов, отловленных в Якутии. Опыты проведены на 7 группах животных, взятых в эксперимент в разные фазы годового цикла и на разных стадиях снижения и повышения у них температуры тела. Уровень экспрессии оценивали по количеству мРНК, нормализованном на актин. Статистическую обработку результатов проводили методом Манна-Уитни.

Изменения экспрессии мРНК сравнивали с изменениями экспрессии белков (Вестерн блот). Экспрессия мРНК и белков менялась разнонаправлено на разных стадиях гибернации сусликов по сравнению с летними активными животными, служившими контролем, и зависела от исследуемого отдела мозга. Были обнаружены различия между группами на входе в спячку у сусликов с разной температурой тела. Например, в коре больших полушарий при вхождении в спячку уровни экспрессии cdk1 и циклина B1 были достоверно выше при температуре тела животного +10°C по сравнению с группами животных в спячке и животных, имеющих температуру тела +36°C в осенний период при подготовке к спячке. Т.е. уровень экспрессии

cdk1 и циклина В1 во фронтальной области коры сусликов возрастает по мере снижения температуры тела и падает при переходе к спячке.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА МОДЕЛИ ФЛУОРЕСЦИРУЮЩЕЙ ОПУХОЛИ

Малеханова Е.А., Леканова Н.Ю., Крутова И.В., Балалаева И.В., Деев С.М.

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

Институт биоорганической химии им. акад. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН,
Москва (Россия)

E-mail: malehanova@mail.ru

Использование флуоресцентных агентов для визуализации клеток и отдельных молекул расширяет возможности изучения разнообразных процессов в живых системах. С недавнего времени в этом качестве используются генетические маркеры - флуоресцентные белки, уникальные свойства которых (стабильность флуоресценции, независимость от кофакторов, отсутствие токсического эффекта) делают их удачной альтернативой органическим красителям. Перспективной областью использования флуоресцентных белков является экспериментальная онкология.

Целью исследования являлись, во-первых, апробация флуоресцентной опухолевой модели для оценки эффективности терапевтического воздействия; во-вторых, сравнение информативности метода флуоресцентного биоимиджинга и стандартной методики измерения размеров опухоли.

Эксперимент проводился на бестимусных мышах-самках линии nude с подкожно привитой карциномой яичника человека, трансфицированной флуоресцентным белком Katushka (SKOV-3-kat). В качестве терапевтических агентов использовались стандартный химиоагент цисплатин и иммунотоксин 4D5-ЕхоА, сконструированный на основе миниантитела 4D5 к рецептору HER-2/neu. Двумерные флуоресцентные изображения получали *in vivo* на установке для поверхностного флуоресцентного имиджинга (Институт прикладной физики РАН).

Осуществленный в данной работе прижизненный мониторинг роста опухоли с помощью флуоресцентного имиджинга и стандартной методики (измерение размеров опухоли вручную) обнаружил выраженную корреляцию между изменениями объема опухоли и интегральной флуоресценции. Более того, показано, что флуоресцентный метод дает дополнительную информацию о распределении клеток в объеме опухолевого узла и обеспечивает визуализацию непальпируемых опухолей, позволяя оценивать действие терапии на ранних стадиях. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности применения красных флуоресцентных белков для неинвазивного изучения роста опухоли и ее ответа на действие терапии.

АНТИСИНЕГНОЙНАЯ АКТИВНОСТЬ БАКТЕРИОЦИНОПОДОБНЫХ ВЕЩЕСТВ БАКТЕРИЙ РОДА *PSEUDOMONAS*

Балко А.Б., Авдеева Л.В.

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К.Заболотного НАН Украины,
Киев (Украина)

E-mail: aleks-balko1@yandex.ru

Бактериям вида *Pseudomonas aeruginosa* характерна множественная устойчивость к антимикробным препаратам, в связи с чем лечение вызванных ими заболеваний не дает положительного результата. Поэтому поиск, изучение и введение в медицинскую практику новых, альтернативных антибиотикам противомикробных средств является очень актуальным. Целью нашей работы было выделение бактериоциноподобных веществ бактерий рода *Pseudomonas*, высокоактивных по отношению к штаммам *P. aeruginosa* различного происхождения.

Выделение бактериоциноподобных веществ проводили из 94 штаммов 16 видов бактерий рода *Pseudomonas*. В качестве индикаторных культур использовали 18 коллекционных, 9 клинических мультирезистентных и 2 фитопатогенных изолята *P. aeruginosa*. Согласно уровню антисинегнойной активности исследованные лизаты бактерий рода *Pseudomonas* были разделены на две группы. Первая группа включала вещества большинства исследуемых видов псевдомонад, которые характеризовались низким и умеренным уровнями активности. В этой группе максимально активными оказались лизаты штаммов *P. mendocina*, *P. fragi* и *P. taetrolens*, которые влияли на 30-50% индикаторных культур.

Вторая группа была представлена штаммами *P. aeruginosa*, которые продуцировали киллерные факторы со значительно высшими показателями антисинегнойной активности. Лизаты 10 штаммов этой группы угнетали рост 50-75% индикаторных культур, а вещества 4 штаммов влияли более чем на 75% использованных индикаторов. Было показано, что данные вещества принадлежат к колициноподобным пиоцинам S типа. Спектры активностей лизатов № 21, 22 и 41 перекрывались, между ними не наблюдалось выраженного взаимного антагонизма, что позволило совместно влиять указанными веществами на все доступные штаммы *P. aeruginosa*. Активность лизатов относительно всех культур, в т.ч. и клинических штаммов составляла 2000 Ед, что позволяет рассматривать исследуемые вещества как перспективные антисинегнойные препараты.

ВЛИЯНИЕ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ

Михеева Э.Р., Плескова С.Н., Горшкова Е.Н., Пудовкина Е.Е.

Нижегородский государственный технический университет им. Р.Е.Алексеева;

Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского,

Нижний Новгород (Россия)

E-mail: biomikheeva@gmail.com

Квантовые точки являются перспективным инструментом для биомедицинских исследований благодаря своим уникальным оптическим свойствам. Однако помимо ряда преимуществ квантовых точек, по сравнению с традиционными флюорофорами, выявлены и недостатки – возможная токсичность.

В данной работе исследовалась жизнеспособность нейтрофильных гранулоцитов после их инкубации с квантовыми точками CdSe/ZnS, покрытыми меркаптопропиононовой кислотой (МПК) и (CdSe/CdZnS)ZnS, покрытыми polyT, производства «Нанотех-Дубна» (Дмитров, Россия).

Нейтрофильные гранулоциты выделяли из венозной крови здоровых доноров на двойном градиенте фиколла-урографина, дважды отмывали физиологическим раствором и ресуспендировали в конечной концентрации $2 \cdot 10^6$ клеток/мл. Квантовые точки, взятые в конечной концентрации 1; 10^{-1} ; 10^{-2} ; 10^{-3} ; 10^{-4} мг/мл, инкубировали с клетками (30 мин, 37°C) в чашках Петри (Corning, США). Далее фиксировали 96% этанолом и окрашивали раствором пропидиума йодида (PI) конечной концентрации $5 \cdot 10^{-5}$ мг/мл. Подсчет клеток проводили на флуоресцентном микроскопе Olympus IX71 (NT-MDT, Россия), возбуждение осуществляли галогенной лампой (100 Вт), флуоресценцию фиксировали с использованием светофильтра U-MNG2. В каждой чашке подсчитывали 100 клеток: клетки, флуоресцирующие за счет комплекса ДНК-PI, считались погибшими.

В результате было выявлено снижение жизнеспособности нейтрофилов в зависимости от концентрации квантовых точек, а также значения LD₅₀: для CdSe/ZnS-МПК LD₅₀=0,025 мг/мл; для квантовых точек (CdSe/CdZnS)ZnS- polyT LD₅₀=0,04 мг/мл.

Работа выполнена при поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009-2013 годы».

ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ ЛЕБЕТАЗЫ НА АГРЕГАЦИЮ ТРОМБОЦИТОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

Алланазарова И.А., Чернова Л.А., Насиров К.Э. Усманов П.Б.
Институт физиологии и биофизики АН РУз, Ташкент (Узбекистан)

E-mail: K_nasirov@front.ru

Патогенез одной из основных клинических форм ишемической болезни сердца связан с нарушением функциональной активности тромбоцитов, что определяет актуальность изучения различных механизмов их агрегации. Регуляторами функционального состояния тромбоцитов являются аденозиндифосфат (АДФ) и адреналин, эффекты которых реализуются через специфические рецепторы тромбоцитарной мембраны.

При исследовании агрегации тромбоцитов, индуцированной АДФ, адреналином и тромбином у больных с различными формами ишемической болезни сердца установлено, что в плазме крови у больных со стабильной стенокардией, степень адреналин-индуцированной агрегации превышает таковую у больных с нестабильной стенокардией и здоровых людей. У больных со стабильной и нестабильной стенокардией не отмечено различий в показателях максимальной степени агрегации тромбоцитов, индуцированной АДФ и тромбином по сравнению со здоровыми людьми.

При изучении влияния лебетазы (компонента выделенного из яда гюрзы *Vipera lebetina*) на агрегацию тромбоцитов в плазме крови здоровых доноров, было установлено, что без индуктора лебетаза в концентрации 100 мкг/мл не влияет на агрегацию тромбоцитов, но дозозависимо (10-100 мкг/мл) в разной степени ингибирует АДФ и адреналин-индуцированную агрегацию тромбоцитов. Выраженное ингибиторное действие лебетазы проявляется тогда, когда агрегация тромбоцитов индуцируется АДФ.

При изучении влияния лебетазы на АДФ- и адреналин-индуцированную агрегацию тромбоцитов на плазму больных с нестабильной и стабильной стенокардией установлено, что лебетаза в концентрациях 10 мкг/мл вызывает наибольшее ингибирование адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов в плазме крови больных стабильной стенокардией.

Если учесть, что лебетаза активируется в присутствии ионизированного кальция и фосфолипидов, а действие адреналина связано с модуляцией мембран и изменением их проницаемости к ионам Ca^{2+} при взаимодействии с α -адренорецепторами плазматической мембраны, то возможно, при стабильной стенокардии в плазме крови больных изменяется уровень внеклеточного кальция, что влияет на ингибирующую активность лебетазы.

АМИЛОИДНЫЕ СВОЙСТВА ГЛАДКОМЫШЕЧНОГО БЕЛКА СМИТИНА

Окунева А.Д., Бобылёва Л.Г., Бобылёв А.Г., Шпагина М.Д., Вихлянцев И.М.,
Фрейдина Н.А., Подлубная З.А.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН; Пущинский
государственный университет, Пущино (Россия)

E-mail: a-okyneva@yandex.ru

Амилоидные отложения – основной признак амилоидозов, конформационных болезней человека и животных, возникающих в результате наследственного или приобретенного нарушения сворачивания белка. Накопление амилоидных депозитов разрушает структуру органов и тканей, приводя к летальному исходу. Амилоидные агрегаты наблюдаются при болезни Альцгеймера, Паркинсона, прионных заболеваниях и др. Амилоидные отложения были обнаружены также в сосудах, в сердечной и скелетной мускулатуре при кардиомиопатиях, миокардитах, миозитах, включая и амилоидную кардиомиопатию, однако белки-предшественники обнаруженных амилоидных отложений мало изучены.

С помощью электронной микроскопии мы показали, что гладкомышечный белок смитин из желудка кролика (аналог тайтина скелетных и сердечной мышц) формирует в растворе 0.15 М глицин-КОН, рН 7.0 аморфные агрегаты, подобные агрегатам других амилоидных белков. Для подтверждения амилоидной природы аморфных агрегатов смитина нами были использованы специфические красители на амилоиды тиофлавин Т и Конго красный.

Обнаружено, что агрегаты смитина увеличивают интенсивность флуоресценции тиофлавина Т в ~2 раза по сравнению с интенсивностью флуоресценции красителя в присутствии молекулярной формы этого белка. В присутствии аморфных агрегатов смитина наблюдался также сдвиг спектра поглощения Конго красного в длинноволновую область от ~490 нм к ~500 нм. Проведенные *in vitro* исследования указывают на специфичность связывания красителей с агрегатами смитина, подтверждая их амилоидную природу. Это свидетельствует о возможности данного белка участвовать в амилоидогенезе *in vivo*.

Работа поддержана программой Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине», грантами РФФИ № 09-04-01161, РФФИ № 10-04-00141, грантами Федеральной целевой программой «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» Федерального Агентства по науке и инновациям, ГК № 02.740.11.0301, ГК № 02.740.11.0710.

СОСТОЯНИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ЭНДОТОКСИКОЗЕ

Лисничук Н.Е., Демкив И.Я., Кулицкая М.И.

Тернопольский государственный медицинский университет им. И.Я.Горбачевского,
Тернополь (Украина)

E-mail: *iria_ternopil@mail.ru*

Целью исследования было выяснить динамику хода иммунологических процессов в организме подопытных животных при индуцированном тетрахлорметаном эндотоксикозе (ЭТ).

Животные были разделены на 4 группы: 1 группа - контрольная (10 крыс); 2-4 группы – животные с экспериментальным ЭТ выведенные из эксперимента на 2, 7, 14 сутки (30 животных). При моделировании ЭТ использована модель, основанная на введении тетрахлорметана (Короленко, 1975).

Исследование гуморального звена иммунитета проводили, определяя концентрации иммуноглобулинов (IgG A, M, G) и циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови (Гриневич, 1981; Чернушенко, 1978). В цельной крови определяли активность фагоцитирующей системы а именно: фагоцитарное число и процент фагоцитирующих лейкоцитов (Чернушенко, 1978).

Определение концентраций сывороточных IgG A, M, G выявило что на фоне индуцированного тетрахлорметаном ЭТ во всех исследуемых группах животных достоверно уменьшалась концентрация Ig A в течение всего эксперимента и существенно повышалась концентрация IgG M и G в течение всего эксперимента относительно контрольной группы животных. При экспериментальном ЭТ достоверно возрастала концентрация ЦИК на 2 (2,9 разы), 7 (5,1 разы) и 14 (3,9 разы) сутки эксперимента соответственно по сравнению с группой контрольных животных. Нарушение элиминации и длительная персистенция ЦИК в организме создают условия для их патогенного действия на ткани и сосуды гемомикроциркуляторного русла. Важным фактором обезвреживания ЦИК является фагоцитоз в процессе которого иммунные комплексы присоединяют компоненты комплемента и фагоцитируются мононуклеарными клетками.

Результаты исследований показали, что при индуцированном тетрахлорметаном ЭТ происходит снижение активности фагоцитоза (достоверно уменьшалось и фагоцитарное число, и процент лейкоцитов, которые участвовали в фагоцитозе) во всех исследуемых группах животных относительно группы контрольных животных.

ГЕМОКОАГУЛЯЦИОННЫЕ ЭФФЕКТЫ НЕКОТОРЫХ НПВС С ЛЕБЕТОКСОВЫМ ТЕСТОМ ПРИ ЭВМК

Аллоназарова И., Наджимова Х.К., Насиров К.Э., Усманов П.Б.

Институт физиологии и биофизики АН РУз, Ташкент (Узбекистан)

E-mail: *khurshida07@inbox.ru*

При исследовании фармакологического действия яда гюрзы *Vipera lebetina* и его компонентов было обнаружено, что в его составе имеются компоненты, обладающие противовоспалительным и болеутоляющим действием.

С целью уточнения механизма действия яда гюрзы, исследовали действие яда на фоне некоторых НПВС на гемокоагуляционный потенциал при патологии. Изучено действие фракции яда гюрзы (лебетоксовый тест) в различные сроки экспериментального внутримозгового кровоизлияния у ложно оперированных животных (ЛОЖ), и экспериментально внутримозговым кровоизлиянием (ЭВМК) на фоне НПВС.

В экспериментах проведенных с ЛОЖ и ЭВМК пролеченных неселективным блокатором циклооксигеназой (ЦОГ-1 и ЦОГ-2) -диклофенаком натрия, в первые часы наблюдалось укорочение лебетоксового времени, но уже к 6-часу эксперимента лебетоксовое время значительно изменялось в сторону удлинения (35+2 сек.) по сравнению с контролем (28+2 сек.). Через сутки у ЛОЖ лебетоксовое время было близко к контролю, тогда как у ЭВМК животных время продолжало удлиняться (до 42+2сек.)

У животных с ЭВМК пролеченных целебрексом ($C_{17}H_{14}F_3N_3O_2S$) и нимесулидом (N-(4-Нитро-2-феноксифенил)) селективным блокатором циклооксигеназой 2 (ЦОГ2), участвующий в синтезе простагландинов в отличие от препарата диклофенака, лебетоксовое время в начале незначительно ускорялось (до 23-25сек) и практически на всем протяжении эксперимента не изменялось.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что применение диклофенака натрия сопровождается ингибированием Ca^{2+} из внутриклеточных депо, что приводит к удлинению лебетоксового времени. Ингибиторы ЦОГ-2 целебрекс и нимесулид приводят к усилению свертываемости крови животных ЭВМК и повышению тромбообразования при лебетоксовом тесте, вероятно из-за нарушения соотношения продукции простаглицина I₂ и тромбоксана A₂.

ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ СИНТЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ТРИТЕРПЕНОИДОВ НА КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК SPEV

Шевченко И.К., Аникина Л.В., Вихарев Ю.Б.

Пермский государственный технический университет;
Институт технической химии УрО РАН, Пермь (Россия)

E-mail: iriin4ik@yandex.ru

Одним из наиболее перспективных для практического использования представителей модифицированных тритерпеноидов, выделенных из природного сырья и соединений, синтезированных на их основе, является бетулин, а так же его производные. Предыдущие исследования показывают, что модифицированные тритерпеноиды имеют противовирусную, антибактериальную, противогрибковую и противовоспалительную активность.

Цель работы – определение цитотоксичности *in vitro* синтетически модифицированных тритерпеноидов на культуре клеток почек эмбриона свиньи (SPEV).

Объектами исследования служили вновь синтезированные производные бетулина, 32 соединения модифицированных в А-кольце и различными заместителями при С28. Соединения растворялись в ДМСО в концентрации не превышающей 0,1%.

Цитотоксичность определяли культивированием культуры SPEV с исследуемыми соединениями в питательной среде. Контролем служила выживаемость клеток в питательной среде, содержащей 0,1% ДМСО. Через 72 часа после культивирования в CO₂-инкубаторе была определена активность соединений по значению IC₅₀ (концентрация соединения, выживаемость клеток при которой 50%) МТТ-тестом.

Анализируемые соединения производных бетуллона проявили различное влияние на жизнеспособность клеток культуры SPEV. Наибольшую активность на культуре клеток SPEV проявили Т-9 и Т-31.

Отличительной особенностью данных соединений является наличие гидроксиммино группы (=NOH) во втором положении цикла А. Можно предположить, что именно наличие данной группы обуславливает наличие цитотоксических свойств данных соединений в отношении линии SPEV.

Полученные данные коррелируют с ранее проведенными исследованиями на мышинных тимоцитах. Максимально широкой цитотоксичностью обладает соединение **Т-9** (2,3-секо-2-циано-луп-20(29)-ен-3-аль-28-овая кислота), которое активно как на опухолевых клетках, так и на здоровых, а также имеет противовирусную активность. Соединение не токсично в опытах *in vitro*, его ЛД₅₀ больше 1000 мг/кг при внутрибрюшинном введении мышам, поэтому в дальнейшем стоит определить степень селективности данного соединения к другим нормальным и опухолевым клеткам, а также безопасность применения для целого организма.

ТИРЕОИДНЫЕ ГОРМОНЫ И АДАПТАЦИОННЫЕ СПОСОБНОСТИ КРЫС ПРИ ХОЛОДОВОЙ АККЛИМАЦИИ

Венцковская Е.А., Шило А.В., Бабийчук Г.А.

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков (Украина)

E-mail: elena.vens@gmail.com

При изучении особенностей акклимации к холоду теплокровных организмов наиболее широкое распространение получили 2 экспериментальных подхода: длительной и кратковременной акклимации. Известно, что при длительной акклимации (ДА) к холоду происходит значительное напряжение тиреоидной функции организма, приводящее к диспропорциям в гормональном статусе, повышению общих расходов энергии, повреждению периферических тканей и суставов, повышению кровяного давления и т.д. Тиреоидный статус при различных режимах кратковременной акклимации (КА), являющейся более естественным способом адаптации, остается малоисследованным.

Эксперименты проведены на крысах самцах Вистар. КА осуществляли в течение 2 дней: каждый час животных охлаждали при температуре -12°C или $+10^{\circ}\text{C}$ в течение 15 мин, последующие 45 мин животные находились при комнатной температуре. ДА проводили в течение 30 дней при $+4^{\circ}\text{C}$. Концентрацию тиреоидных гормонов (общего тироксина (T_4)) в сыворотке крови определяли радиоиммунологическим методом. Адаптационные способности оценивали в тесте вынужденного плавания в холодной воде по устойчивости температуры тела (T_t).

ДА приводила к повышению устойчивости крыс к холоду судя по увеличению устойчивости T_t (с $21,8 \pm 0,9$ до $26,4 \pm 1,4^{\circ}\text{C}$) на фоне значительного повышения уровня T_4 (с $84,3 \pm 7,3$ до $157,1 \pm 23,7$ нмоль/л). КА (-12°C) также приводила к повышению устойчивости T_t (с $21,3 \pm 0,4$ до $26,8 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$), однако уровень T_4 увеличивался незначительно (с $84,3 \pm 7,3$ до $125,8 \pm 9,8$ нмоль/л). Следует отметить, что повышение устойчивости T_t после ДА и КА (-12°C) сохранялось в течение длительного периода времени. В то время как после КА ($+10^{\circ}\text{C}$) уровень T_4 достоверно не изменялся, а эффект повышения устойчивости T_t был кратковременным.

Таким образом, интенсивность реакции тиреоидной системы на холод зависит от уровня температурной нагрузки (ДА > КА(-12°C) > КА($+10^{\circ}\text{C}$)) и для формирования долговременной холодовой адаптации необходим хотя бы минимальный уровень ее активации.

ИЗУЧЕНИЕ ЗАЩИТНЫХ СВОЙСТВ rHNSP70 ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНОМ СЕПСИСЕ У КРЫС

Сапронова А.А. Остров В.Ф.

Филиал Института биоорганической химии им. акад. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Пущино (Россия)

E-mail: sashulka.s@gmail.com

Цель исследования – изучить защитные свойства и острую токсичность рекомбинантного человеческого белка теплового шока 70 кДа (rhHSP70) на модели экспериментального сепсиса у крыс. Эксперименты выполнены на самцах крыс Sprague-Dawley массой 300-350 г. Грамположительный сепсис моделировали путем введения липотейхоевой кислоты (LTA) из *St. aureus* (Sigma) в дозе 3 мг/кг. В эксперименте использовали препарат rhHSP70, полученный генно-инженерными методами из культуры эукариотических клеток, который вводили за 10

минут до LTA в дозе 266 мкг/кг. Регистрировали параметры гемодинамики и гемостаза в течении 5 часов, выживаемость животных в течение 3 суток.

Предварительное введение rhHSP70 оказывает выраженное защитное действие и уменьшает токсические эффекты LTA. Введение rhHSP70 здоровым крысам не влияет на изучаемые параметры крови. Выживаемость увеличивается с 50% в группе с LTA до 90% в группе, животные в которой предварительно получали rhHSP70.

Для проведения предварительного исследования токсичности rhHSP70 была выбрана доза 26,6 мг/кг, превышающая в 100 раз дозу, эффективную при экспериментальном сепсисе, для которой были показаны защитные свойства. Белок вводили мышам CD-1 однократно в хвостовую вену. Не зафиксировано отклонений по показателям поведения, внешнего вида животных, а также в реакциях на внешние раздражители. Случаев смерти животных не отмечено. Биохимический анализ крови не показал статистически значимых отклонений от группы животных, получавших физиологический раствор. Были рассчитаны токсикологические показатели: терапевтический индекс (ТИ), среднесмертельная и среднеэффективная дозы. rhHSP70 является малоопасным, умеренно токсичным веществом и не проявляет токсического действия при однократном внутривенном введении мышам в дозе 26,6 мг/кг.

По результатам исследования, рекомбинантный человеческий белок теплового шока 70 кДа может быть рекомендован для проведения дальнейших доклинических испытаний как эффективное средство профилактики септических процессов.

ВОЗДЕЙСТВИЕ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА РАКОВЫЕ КЛЕТКИ В ПРИСУТСТВИИ ЗОЛОТЫХ НАНОЧАСТИЦ

**Елагин В.В., Брилкина А.А., Сергеева Е.А., Южакова Д.В., Надточенко В.А.,
Загайнова Е.В.**

Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород (Россия)

Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского,

Нижний Новгород (Россия)

Институт прикладной физики РАН, Нижний Новгород (Россия)

Институт химической физики РАН, Москва (Россия)

E-mail: *elagin.vadim@gmail.com*

Целью нашей работы являлась оценка эффективности проведения лазерного воздействия на раковые клетки в присутствии золотых наночастиц.

Исследование выполнено на клетках линии SKOV-3. В работе использовали золотые наночастицы - в форме стержней, покрытые полиэтиленгликолем (ПЭГ) с молекулярной массой 6000Да и 40000Да. Взаимодействие наночастиц с клетками исследовали методом многофотонной флуоресцентной микроскопии. Лазерное воздействие для изучения механизмов гипертермии опухолей осуществляли в непрерывном режиме с выходной мощностью от 0,5 до 3Вт и длительностью - 10мин.

Методом многофотонной флуоресцентной микроскопии было установлено, что наночастицы, покрытые ПЭГ 6000Да, способны проникать в клетки, сигнал флуоресценции регистрировался из цитоплазмы клеток. Напротив, частицы, покрытые ПЭГ 40000Да, были не способны проникать в цитоплазму, и сигнал регистрировался с внешней стороны мембраны. При лазерном воздействии на клетки, содержащие наночастиц, отмечалось увеличение процента погибших клеток с 33% при 0,5 Вт до 89% при 3 Вт. Тогда как воздействие на клетки, не содержащие наночастицы, сопровождалось гибелью 64% и 72% при мощностях 2,5 Вт и 3 Вт, соответственно. Важно отметить, что при воздействии на клетки, инкубированные с наночастицами, отмечалось более значимое повышение температуры, чем при воздействии на клетки, не содержащие наночастиц.

Таким образом, нами установлено, что наночастицы, покрытые ПЭГ 6000Да, способны проникать внутрь клеток. Также показано, что наличие данных наночастиц позволяет повысить процент гибели клеток при проведении лазерного воздействия.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (ГК № 02.740.11.0713, договор № 11.G34.31.0017), РФФИ (проект № 09-02-00539).

ИДЕНТИФИКАЦИЯ БИОМИШЕНЕЙ «НООПЕПТА» КАК ОСНОВА ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В КАЧЕСТВЕ МУЛЬТИЦЕЛЕВОГО АНТИДЕМЕНТНОГО ПРЕПАРАТА

Фаткуллина У.Ш., Салимгареева М.Х., Вахитова Ю.В., Островская Р.У.

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и генетики
УНЦ РАН, Уфа (Россия)

Учреждение Российской академии медицинских наук Научно-исследовательский институт фармакологии им. В.В.Закусова РАМН, Москва (Россия)

E-mail: ulia-bio@yandex.ru

Созданный в НИИ фармакологии РАМН препарат «Ноопепт» (этиловый эфир фенилацетил-L-пролил-глицин) обладает выраженным антиамнестическим эффектом, подтвержденным в клинических исследованиях на больных с мягкими когнитивными нарушениями, которые являются промежуточной стадией между нормальным старением и начальной фазой болезни Альцгеймера (БА). Нами проводилось комплексное изучение молекулярных механизмов действия «Ноопепта» в условиях экспериментального моделирования БА *in vivo* и *in vitro*.

В условиях стрептозотоциновой модели БА *in vivo* показано снижение экспрессии нейротрофических факторов (NGF и BDNF) в коре и гиппокампе крыс, снижение уровня МАП-киназ SAPK/JNK и ERK1/2 и накопление малонового диальдегида в тканях головного мозга. Установлено, что «Ноопепт» ослабляет метаболические и биохимические эффекты стрептозоцина и сопутствующий поведенческий дефицит.

В модельных экспериментах *in vitro* нейродегенеративные изменения, специфичные для БА, индуцировались внесением фрагмента амилоидного белка A β 25-35 в культуру дифференцированных клеток PC12 (5 мкМ, 24 ч). Показано, что «Ноопепт» (10 мкМ, 72 ч) устраняет вызванное A β 25-35 усиление апоптоза клеток PC12 и способствует улучшению выживаемости клеток. Выявлена способность препарата снижать уровень фосфорилированного tau-белка (Ser396) и увеличивать уровень pGSK-3 β (Ser9) на фоне действия A β 25-35. Отмечено положительное влияние «Ноопепта» на морфометрические характеристики дифференцированных PC12 клеток, а именно увеличение количества нейритов и их длины.

Таким образом, полученные данные позволяют предположить наличие у «Ноопепта» специфического эффекта в отношении патогенетических механизмов БА. Исходя из концепции континуума «Мягкие когнитивные нарушения – болезнь Альцгеймера», выявленные свойства «Ноопепта» являются аргументом в пользу его превентивного применения с целью предотвращения перехода мягких когнитивных нарушений в БА.

ПОЯВЛЕНИЕ FMRF-ЕРГИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ В ЦЕРЕБРАЛЬНОМ ГАНГЛИИ РЕГЕНЕРИРУЮЩИХ ХВОСТОВЫХ ФРАГМЕНТОВ *GIRARDIA TIGRINA*

Толстенков О.О., Крещенко Н.Д.

Учреждение Российской академии наук Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н.Северцова, Москва (Россия)

Учреждение Российской академии наук Институт биофизики клетки РАН,
Пушино (Россия)

E-mail: otolo@mail.ru

У планарий *Girardia tigrina* изучали формирование церебрального ганглия в ходе регенерации отсеченных хвостовых фрагментов, размером 1/4 длины тела интактных особей. Динамику появления нервных элементов (клеток и волокон) исследовали на 1; 2; 3; 5, 7 сут регенерации с использованием антител к нейропептиду FMRF. Интенсивная иммуоокраска к FMRF присутствовала в старых тканях фрагмента: в клетках и волокнах брюшных нервных стволов, поперечных комиссурах, в периферической нервной сети. Размер тел биполярных и мультиполярных нейронов, иммунопозитивных к FMRF, достигал 14,5-18 мкм. На 1 сут после операции на раневой поверхности образовывался тонкий слой клеток головной

регенерационной бластемы. К 1-2 сут в бластеме были выявлены очень тонкие FMRF-иммунопозитивные нервные волокна, направленные к апикальному концу бластемы. На границе между бластемой и старыми тканями иммуноокраска к FMRF усиливалась в отсеченных концах нервных стволов и периферических волокнах, которые утолщались, и «охватывали» кольцом новые ткани.

На 2-й день регенерации были заметны волокна, «прорастающие» из нервных стволов. К 3 сут регенерации волокон становилось больше, они смыкались, образуя «макет» будущего ганглия. По самому переднему краю бластемы из нервных отростков субэпителиальной нервной сети формировалась еще одна тонкая дуга. Между концами нервных стволов появлялась перемычка, содержащая FMRF-позитивные клетки и волокна. К 5 сут церебральный ганглий утолщался, окраска волокон становилась сплошной. На 4-6 сут в бластеме появлялись фоторецепторы - пара просто устроенных глаз. К 7 сут регенерации новый церебральный ганглий по своим морфологическим показателям соответствовал таковому у интактных животных, однако его размеры, как и размеры самого регенеранта, оставались существенно меньшими.

Поддержано грантами РФФИ 09-04-00243а и Президента РФ МК-1093.2011.4.

РЕАКЦИЯ ТКАНЕЙ МОЛЛЮСКОВ *LYMNAEA AURICULARIA* НА РАЗВИВАЮЩИХСЯ ЛИЧИНОК *ORIENTOBILHARZIA TURKESTANICA* (SKRJABIN, 1913)

Шакарбаев У.А.¹, Акрамова Ф.Д.¹, Хакбердиева Д.М.²

¹Институт зоологии АН РУз; ²Республиканский патологоанатомический центр Минздрава РУз, Ташкент (Узбекистан)

E-mail: ushakarbaev@mail.ru

Нами изучены гистологические изменения гепатопанкреаса пресноводных моллюсков *Lymnaea auricularia*, зараженных личинками трематод *Orientobilharzia turkestanica* (*Schistosomatidae*).

При просмотре препаратов незараженных контрольных моллюсков паренхима гепатопанкреаса состояла из ацинусов, образованных железистым эпителием, состоящим из печеночных и панкреатических клеток. Печеночные клетки конические, цилиндрические. Среди печеночных клеток встречаются крупные округлой формы клетки с крупными центрально расположенными ядрами (панкреатические). Ацинусы заканчиваются каналами из высоких цилиндрических клеток. Промежутки между ацинусами заполнены рыхлой соединительной тканью, в которой проходят сосуды и нервы. Мускульный отдел желудка выстлан многослойным эпителием, имеет толстый мышечный слой. Пилорический отдел выстлан однослойным эпителием. Очагов дистрофии и некроза выявлено не было. Картина соответствовала нормальному строению органов, без признаков воспаления. Признаки патологического процесса не отмечались.

Исследованных препаратов зараженных моллюсков в их гепатопанкреасе были обнаружены партениты и церкарии. При этом соединительнотканые прослойки подвергались разрушению. Отмечались очаги лизиса, дистрофии, некроза. Кровеносные сосуды были сдавлены, фиброциты набухшие, вакуолизированы, имели признаки разрушения. Такие же дистрофические, некротические изменения наблюдались в волокнах и межклеточном веществе. Стенки ацинусов сближены, просвет уменьшен. Клетки ацинусов деформированы. Они из цилиндрических становились кубическими. Вокруг церкарий клетки и межклеточное вещество были лизированы.

Личинки трематод вызывают значительные морфологические изменения в тканях моллюсков *L. auricularia*. Чем интенсивнее заражения, тем значительнее эти изменения.

Можно сделать вывод, что все компоненты соединительной ткани и железистого эпителия подвергаются воздействию паразита. Об этом свидетельствует лизис межклеточного вещества вокруг церкарий.

РОЛЬ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ПАЛЬМИТАТ/ Ca^{2+} -ИНДУЦИРОВАННОЙ ПОРЫ В МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ГЛУТАМАТОМ

Трудовишников А.С., Белослудцев К.Н., Белослудцева Н.В.

Учреждение Российской академии наук Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино (Россия)

E-mail: *idillviell@gmail.com*

До недавнего времени многие исследователи полагали, что отсроченная кальциевая дисрегуляция (ОКД), развивающаяся в нейронах при длительном воздействии глутамата (Глу), является необратимым процессом. Однако, как показали эксперименты, в начале своего развития ОКД может быть быстро подавлена путем удаления Глу или Ca из наружного раствора. ОКД и развивающаяся параллельно с ней митохондриальная деполяризация (МД) сопровождается повышением ионной проводимости внутренней мембраны митохондрий, связанным с открытием ионной поры. Вопрос об участии в этом процессе «классической» МРТР наталкивается на ряд серьезных противоречий, поскольку МД во время плато ОКД не достигает своего максимума и может быть усилена с помощью протонофоров, а замена Ca на Sr не препятствует возникновению отсроченной МД, хотя Sr , в отличие от Ca , не способен индуцировать МРТР. Вместе с тем, МД, наблюдаемая в нейронах при воздействии Глу, сходна с МД, вызываемой в опытах на суспензии митохондрий липидной Ca -зависимой порой. Липидная пора формируется в митохондриях при образовании комплексов ионов Ca^{2+} с жирными кислотами, за появление которых в митохондриальной мембране ответственна фосфолипаза A_2 (PLA_2), активирующаяся в ответ на повышение концентрации ионов Ca^{2+} (Sr^{2+}) в цитоплазме.

Показано, что ряд ингибиторов Ca -зависимой PLA_2 существенно снижают вероятность возникновения ОКД и МД в культуре нейронов, а в суспензии митохондрий мозга и печени подавляют выброс ионов Sr^{2+} из митохондриального матрикса, существенно снижают степень МД и набухания митохондриального матрикса, а также препятствуют его закислению, наблюдаемому при открытии поры. В тоже время ингибиторы Ca -независимой PLA_2 подобным действием не обладали. При этом ингибиторы PLA_2 не влияли на дыхание митохондрий и скорость входа Sr^{2+} .

Работа поддержана грантом РФФИ 09-04-01024а.

НАБЛЮДЕНИЕ ПРОЦЕССОВ РЕГЕНЕРАЦИИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА ПОСЛЕ ЛАЗЕРНОЙ ФРАКЦИОННОЙ ОБРАБОТКИ МЕТОДОМ КП ОКТ

Карабут М.М., Киселева Е.Б., Гладкова Н.Д., Фомина Ю.В., Евдокимова О.С., Снопова Л.Б., Фельдштейн Ф.И.

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

Нижегородская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития,
Нижний Новгород (Россия)

Фирма «Дентал Фотоникс», Бостон (США)

E-mail: *maria.karabut@gmail.com*

В работе впервые исследовались эффекты воздействия фракционного лазерного фототермолиза (ФЛФ) на слизистую оболочку полости рта. При фракционной лазерной обработке уровень повреждения ткани и побочные эффекты минимальны за счет сочетания высокой эффективности и минимальной инвазивности процедуры при сохраняющейся активации регенерации ткани без рубцевания. Ожидается, что применение ФЛФ окажется эффективным для лечения и профилактики различных воспалительных заболеваний полости рта. Использовался диодный лазер на длине волны 980 нм, генерирующий излучение мощностью 20 Вт с продолжительностью единичного импульса 80, 120 и 150 мс. Каждая колонка создавалась при контакте сапфирового наконечника диаметром 400 мкм с тканью.

Эксперименты проводились на 18 новозеландских кроликах. Лазерные колонки наносились на слизистую оболочку верхней челюсти животных в области резцов. Гистологический анализ зон лазерного повреждения показал, что первые признаки восстановления эпителия определялись уже на 1-2 сутки после лазерной обработки. Повышенная активность фибробластов, свидетельствующая о начале восстановления соединительной ткани, обнаруживалась на 3, 4 и 5 день при 80, 120 и 150 мс соответственно. Полное восстановление структуры ткани происходило на 28 день после обработки, однако наблюдались признаки несовершенного ороговения эпителия, которые полностью исчезали к 90 дню. Для прижизненного наблюдения повреждения и заживления мягких тканей полости рта после ФЛФ применялась кросс-поляризационная оптическая когерентная томография (КП ОКТ). Продемонстрировано, что КП ОКТ прижизненно отражает наиболее значительные этапы изменения тканей полости рта при нанесении лазерных колонок и их заживлении, а также отдаленные последствия лазерной обработки. Кроме того, сделан вывод, что дальнейшее использование КП ОКТ может быть полезно при выборе оптимальных режимов и методик (повторных курсов) лазерного лечения.

Работа поддержана Государственным контрактом РФ № 02.740.11.5149 и грантом РФФИ №10-02-01175.

ВЕЩЕСТВА, СПЕЦИФИЧЕСКИ СВЯЗЫВАЮЩИЕ БЕЛОК GAPDH, СНИЖАЮТ УРОВЕНЬ АГРЕГАЦИИ ХАНТИНГТИНА В МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ ХАНТИНГТОНА

**Василенко Ю.А., Лазарев В.Ф., Казначеева А.В., Ипполитова М.В., Гужова И.В.,
Маргулис Б.А.**

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: yulvasilenko@gmail.com

Болезнь Хантингтона – это прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, причиной которого является мутация элонгации CAG триплета, кодирующего аминокислоту глутамин, в гене белка хантингтина. Белок, несущий такую мутацию, принимает в клетке неправильную конформацию и начинает формировать нерастворимые агрегаты, ведущие к дегенерации и гибели нейронов отдельных областей мозга.

Согласно полученным в нашей лаборатории результатам, ферменты тканевая транслугтаминаза (tTG) и глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (GAPDH) играют важную роль в образовании агрегатов мутантного хантингтина. На клеточной модели болезни Хантингтона была показана колокализация обоих этих ферментов с агрегатами. То обстоятельство, что применение известного ингибитора tTG цистамина приводило к снижению уровня агрегации, также свидетельствует в пользу рассматриваемой гипотезы. Основываясь на полученных данных, мы предположили, что низкомолекулярные вещества, способные связывать GAPDH с высокой степенью специфичности, могут так же оказывать влияние на уровень агрегации мутантного хантингтина.

Для проверки эффективности потенциальных ингибиторов агрегации в нашей лаборатории была разработана тест-система, основанная на клеточной модели болезни Хантингтона. С помощью этой системы был проведен анализ четырех низкомолекулярных соединений, способных специфически взаимодействовать с ГАФДГ и таким образом модулировать функционирование данного фермента: депренил (L-(—)-N-(1-фенилизопропил)-N-метил-N-2-пропинамин), PGL-135 (2-амино-4,7-диметил-6-гидроксибензотиазол гидрохлорид моногидрат), NMC (N-[(2R)-2-гидрокси-2-фенилацетил]-L-цистеинат) и GSH (N-карбоксит-N-(фенилацетил)-β-аланил-D-цистеинилглицинат). Была показана способность этих соединений подавлять агрегацию мутантного хантингтина.

Полученные результаты могут послужить основой для нового терапевтического подхода, основанного на поиске и проверке веществ, способных предотвращать агрегацию мутантных белков при болезни Хантингтона и подобных ей нейродегенеративных патологиях.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ФИЛЯРИАТ МЛЕКОПИТАЮЩИХ И ИХ ПРОМЕЖУТОЧНЫХ ХОЗЯЕВ В УЗБЕКИСТАНЕ

Дадаев С.Д.¹, Сапаров К.А.², Бобокулов А.Д.²

¹Гулистанский педагогический университет; ²Ташкентский государственный педагогический университет им. Низами, Ташкент (Узбекистан)

E-mail: shga2006@yandex.ru

Филяриаты широко распространены среди млекопитающих биогеоценозах Узбекистана и наносят значительной ущерб животноводству. Приводятся результаты многолетних исследований и анализ литературных данных, как по видовому составу филяриат млекопитающих, так и их промежуточных хозяев в условиях Узбекистана.

У исследованных млекопитающих зарегистрировано 24 вида филяриат: *Onchocerca gutturosa*, *O.lienalis*, *O.cervicalis*, *O. caprae*, *O. fasciata*, *O.reticulate*, *Dipetalonema evansi*, *D.viteae*, *Parafilaria multipapillosa*, *P. antipini*, *P. bovicola*, *Setaria labiato-papillosa*, *S. digitata*, *S. cervi*, *S. equina*, *S. bernardi*, *Skrjabinodera saiga*, *Stephanofilaria stilesi*, *S. assamensis*, *Dirofilaria immitis*, *D. repens*, *Micipsella numidica*, *Litomosa skarbilovitchi*, *L. dogieli*. При этом у парнокопытных отмечено 12 видов филярий: у непарнокопытных (лошадей и ослов) - 6; у мозолоногих (одногорбого и двугорбого верблюда) - 3; у хищников (собаки, шакала и камышовой кошки) - 2; у зайцеобразных и грызунов зарегистрировано по одному виду, а у рукокрылых - 2.

Большинство видов филярий оказались паразитами представителей отрядов парнокопытных и непарнокопытных. В качестве промежуточных хозяева различных видов филярий в условиях Узбекистана нами установлены кровососущие членистоногие, которые во время питания вместе с кровью поглощают и микрофилярии паразитов. При этом промежуточными хозяевами для онхоцерков установлено 3 вида мошек (*Odagmia ornata*, *Odagmia sp.*, *Friesia alajensis*), для сетарий - 3 вида кровососущих мух и комаров (*Aedes caspius caspius*, *Stomoxys calcitrans* и *Culex sp.*), для стефанофилярий - 3 вида кровососущих мух (*Lyperosia titillans*, *L. irritans*, *Stomoxys calcitrans*), для парафилярий - мухи жигалки (*Haematobia aripalpis*), для дипеталонем - 4 вида комаров и клещей (*Aedes caspius caspius*, *Ornithodoros tartakowskyi*, *O.erraticus* и *Rhinocephalus sp.*) и для диروفиларий - представители комаров - *Anopheles*, *Culex* и *Aedes*.

Представленные материалы приобретают, несомненно, большое значение, которые способствуют более глубокому познанию общих закономерностей становления жизненных циклов рассматриваемых нематод и их онтогенеза.

ПОИСК НОВЫХ АЛЬГЕТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ПОЛИПЕПТИДНЫХ МОДУЛЯТОРОВ TPRV1 РЕЦЕПТОРА ИЗ МОРСКОЙ АНЕМОНЫ НЕТЕРАСТ

Дьяченко И.А.

Филиал Учреждения Российской академии наук Института биоорганической химии им. им. акад. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Пущино (Россия)

E-mail: dyachenko@fibkh.serpukhov.su

Полипептидные модуляторы TPRV1 могут иметь важное значение для разработки новых анальгетических средств. По сравнению с низкомолекулярными аналогами они способны оказывать более специфическое терапевтическое действие и вызывать меньшее количество системных побочных эффектов. Кроме того, на их основе открывается возможность оптимизации структуры и, следовательно, биологических свойств молекулы путем мутагенеза.

Морские анемоны - один из самых древнейших хищных животных. Они охотятся при помощи стрекательных желез (нематоцитов) шупалец. Из яда анемонов было выделено большое количество биологически активных молекул: мембранно активные пептиды и белки, нейротоксины (блокаторы Na⁺ - и K⁺ - каналов), ингибиторы сериновых протеиназ.

Помимо нейтральных и токсичных компонентов анемоны продуцируют полипептидные компоненты с анальгетическим действием. Такой эффект достигается за счет блокирования или

изменения характеристик проведения сигнала (модулирование действия) ряда нейрональных рецепторов.

Целенаправленные исследования по поиску природных анальгетических соединений позволило нам выделить 3 активных полипептида АРНС1, АРНС2, АРНС3. Эти полипептиды обладают различной способностью ингибировать болевые стимулы. Эффективность их анальгетического действия на животных моделях была также различна. Полученные данные позволяют предположить, что полипептиды АРНС1 – 3 способны эффективно ингибировать TRPV1 каналы, а также могут быть использованы в качестве основы для создания новых селективных анальгетических лекарственных препаратов.

ИССЛЕДОВАНИЕ ДОРМАНТНЫХ ФОРМ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* НА НОВОЙ МОДЕЛИ ЛАТЕНТНОГО ТУБЕРКУЛЕЗНОГО ПРОЦЕССА У МЫШЕЙ

Шрамко П.А., Потапов В.Д., Грищенко Н.С., Рудницкая Т.И.

Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии,
Оболенск (Россия)

E-mail: shramko99@mail.ru

Одной из важнейших задач при изучении латентного состояния *Mycobacterium tuberculosis*, является создание удобной модели хронического туберкулеза. Обычно, для изучения латентного туберкулеза используются мыши. Они способны вырабатывать выраженный иммунитет к *M. tuberculosis*, т.е. относительно устойчивы к заражению малыми дозами и могут быть носителями латентной туберкулезной инфекции, не вызывающей активного диссеминированного поражения. Как и у людей, подобная инфекция может рецидивировать по мере старения животного или под действием иммунодепрессантов.

Наиболее распространена в настоящее время мышьяная модель разработанная в 1950 г. исследователями Корнелльского университета США. Мышей инфицируют *M. tuberculosis* и лечат антибактериальными препаратами, чтобы уменьшить количество бактерий до определенного уровня. В последующем у мышей может реактивироваться инфекция - спонтанно или же под действием гидрокортизона. Однако эта модель не всегда удобна для исследований, так как в любой момент может произойти реактивация инфекции или, в определенных условиях, препараты могут стерилизовать мышей в отношении микобактерий. Тем не менее, некоторые исследователи использовали эту модель для идентификации факторов, вызывающих и поддерживающих латентную инфекцию.

Нами предлагается модель получения хронической туберкулезной инфекции методом внутрибрюшинного введения в организм мышей линии BalbC мутантного штамма *M. tuberculosis* H37 Rv с делециями пяти *rpf* генов.

Результаты проведенного нами эксперимента показали, что после внутрибрюшинного заражения мышей предложенным штаммом в концентрации $8 * 10^4$ микобактерий на мыш, в организме животных через два месяца формировалась латентная туберкулезная инфекция. Все микобактерии при этом находились в дормантном состоянии, они детектировались в гомогенате легких методом ПЦР, но не росли при высеве на плотные питательные среды. Активация наблюдалась под действием аминоксантина, ЛПС и других иммуномодулирующих факторов. Предлагаемая модель может использоваться для изучения факторов активации латентного туберкулеза.

СТРУКТУРНЫЕ СВОЙСТВА И БИМЕДИЦИНСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ЦЕРИЯ

Гребенюк А.А., Антонюк М.Н., Маринин А.И., Олишевский В.В.

Национальный университет пищевых технологий, Киев (Украина)

E-mail: 0939425528@mail.ru

Соединения церия широко используются в мировой медицинской практике. Известно, что соли церия(III) могут применяться в качестве бактериостатических, бактерицидных, иммуномодулирующих и противоопухолевых препаратов. Наночастицы диоксида церия характеризуются радиопротекторными свойствами и способностью связывать активные формы кислорода, который открывает перспективы их использования для профилактики и лечения таких заболеваний как болезнь Альцгеймера, Паркинсона и Хантингтона.

Целью данной работы было исследование структурных свойств и возможности применения наночастиц церия в медицине.

Исследовано, что с уменьшением размеров частиц CeO_2 наблюдаются систематические изменения в спектрах комбинационного рассеивания, в частности, изменяются положение и ширина пика, которая отвечает трижды выраженной активной моде F_{2g} (464 см^{-1}). Методом рентгеновских фотоэлектронных спектров (РФЭС) установлено, что образцы нанокристаллического диоксида церия, полученные обжигом при 250°C , имеют меньшую степень нестехиометрии в сравнении с аналогичными образцами, обожженными при 650°C . Установлено, что механизм инактивирования свободных радикалов наночастицами диоксида церия аналогичный действию супероксиддисмутазы. Исследование взаимодействия наночастиц диоксида церия с пероксидом водорода методами РФЭС и УФ-СПЕКТРОСКОПИИ показали, что увеличение соотношения $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$ в наночастице прямо коррелирует с повышением ее способности выполнять функции супероксиддисмутазы.

Таким образом, последующее исследование соединений церия является актуальным заданием современной биотехнологии получения наночастиц.

СООТНОШЕНИЕ ФАЗ МИТОЗА В ТРЕХ ОБЛАСТЯХ ТЕЛА У ИНТАКТНЫХ, НЕ РЕГЕНЕРИРУЮЩИХ ПЛАНАРИЙ

Крещенко Н.Д., Толстенков О.О.

Учреждение Российской академии наук Институт биофизики клетки РАН,
Пушино (Россия)

Учреждение Российской академии наук Институт проблем экологии и эволюции им.
А.Н.Северцова РАН, Москва (Россия)

E-mail: otolo@mail.ru

Регенерационная способность планарий основана на существовании у них особых тотипотентных стволовых клеток, необластов. Было необходимо изучить их распределение в организме интактных планарий *Girardia tigrina*. В суспензии клеток, приготовленной из тканей, взятых в предглоточной (ПГ), окологлоточной (ОГ) и хвостовой (ХВ) областях тела животных, подсчитывали число необластов, находящихся в разных стадиях митоза.

Получены следующие данные: в ПГ области тела среднее число клеток ($\pm\text{SE}$) в прометафазе составило $47.1 \pm 4.2\%$, в метафазе $26.5 \pm 8.5\%$, в анафазе $16.9 \pm 8.7\%$, и в телофазе $9.5 \pm 4.8\%$ от общего числа митозов. В ОГ области число прометафаз составило $56.7 \pm 6.7\%$, метафаз $22.8 \pm 6.8\%$, анафаз $3.3 \pm 3.3\%$, и телофаз $17.2 \pm 4.3\%$. В ХВ области тела в прометафазе находилось $51.8 \pm 5.7\%$ клеток, в метафазе $29.5 \pm 8.9\%$, в анафазе $4.2 \pm 4.2\%$, и в телофазе $14.5 \pm 1.2\%$ (всего подсчитывали число митозов на 1000 клеток суспензии в трех повторных опытах).

Таким образом, число прометафаз и метафаз существенно не отличалось в разных областях тела планарий. Больше всего варьировало число анафаз и телофаз, однако различия не были достоверными. Митотический индекс, отражающий число митозов на 100 клеток, также не отличался и составил 0.76 в ПГ, 0.67 в ОГ и 0.7 в ХВ областях тела интактных особей. Полученные сведения будут использованы при изучении распределения разных фаз митоза в ходе регенерационного процесса у планарий.

Поддержано РФФИ 09-04-00243а, 11-04-92607КОа, грантом Президента Российской Федерации МК-1093.2011.4.

ИЗУЧЕНИЕ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК К ДЕЙСТВИЮ ЦИТОКИНА TRAIL

Фадеев Р.С., Чеканов А.В., Акатов В.С.

Учреждение Российской академии наук Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино (Россия)

E-mail: *fadeevrs@gmail.com*

В настоящее время возможность применения цитокина TRAIL в лечении злокачественных новообразований привлекает все большее внимание исследователей. Его уникальной особенностью является способность селективно вызывать апоптотическую гибель раковых клеток, не повреждая при этом нормальные клетки организма.

Используя опухолевые клетки эпидермоидной карциномы гортани человека показано, что в плотных прикрепленных клеточных культурах при концентрации 200 тыс. кл/мл и выше происходит формирование резистентности к повреждающему действию рекомбинантного человеческого цитокина TRAIL. Определено изменение временных параметров инициации и реализации клеточной гибели в плотных культурах в сравнении с редкими (50 тыс. кл/мл) культурами. Установлено что, повышение резистентности прикрепленных к подложке опухолевых клеток к белку TRAIL зависит не только от плотности клеточной культуры, но и от времени их инкубации в плотной культуре.

Также оценивали роль межклеточных контактов в повышении выживаемости клеток при действии белка TRAIL. При разрушении Ca^{2+} -зависимых контактов между клетками, мы не обнаружили повышения чувствительности клеток к действию TRAIL в плотных культурах. Помимо этого было изучено влияние ростовых факторов на чувствительность клеток к цитокину TRAIL. Было установлено, что в отсутствии сыворотки устраняется резистентность опухолевых клеток в плотных культурах к действию TRAIL. В свою очередь добавление инсулина в бессывороточную среду способствовало частичному восстановлению резистентности. При использовании ингибитора PI3K было установлено снижение устойчивости клеток к действию TRAIL, но менее выраженное, чем в бессывороточных условиях.

Таким образом, показана возможность возникновения резистентности опухолевых клеток к действию цитокина TRAIL, зависящая от клеточной адгезии

ГИДРОЛИЗАТЫ ЯИЧНОГО СЫРЬЯ СТИМУЛИРУЮТ ЗАЖИВЛЕНИЕ МЕХАНИЧЕСКИХ ТРАВМ У ЖИВОТНЫХ

Шулюпин М.О., Шулюпин О.К.

ООО «Проинтех-Био», Пущино (Россия)

E-mail: *olkoshu@rambler.ru*

Ранее сообщалось о получении и использовании в микробиологии водорастворимой фракции ферментативных гидролизатов яичного желтка и белка. Гидролизат желтка может быть разных составов - содержать аминокислоты и пептиды, незаменимые жирные кислоты и витамины (АКПНЖВ), либо без витаминов (АКПНЖ), либо только АКП. Наличие витаминов приводит к тому, что часть витаминов претерпевает изменения при хранении и после автоклавирования, меняя цвет гидролизата и ухудшая его ростовые характеристики. После удаления витаминов экстракцией органическими растворителями цвет не меняется. Незаменимые жирные кислоты можно удалить экстракцией при подкислении раствора.

Гидролизаты были испытаны в качестве парэнтерально питания на животных путем подкожных инъекций стерильного раствора. Для проверки стимулирующего действия механических травм цыплятам кур весом 0,5-0,8 кг делали 1см длиной неглубокую насечку гребня глазным скальпелем. Капиллярное кровотечение останавливали, насыпая сухой панкреатин. В контрольной группе (5 цыплят) заживление шло 10 +/- 2 дня. При ведении АКПНЖ 0,2 г/кг (8шт) заживление шло 6 +/- 2 дня, в дозе 0,5 г/кг 7 +/- 2 дня. Введение гидролизата яичного белка в дозе 0,3 г/кг приводило к заживлению за 7 +/- 2 дня.

Таким образом, достоверно показано положительное действие гидролизатов на скорость заживления в условиях экспериментальной травмы кожи.

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ БЕЛКОВОГО КОМПЛЕКСА SP-2 НА ШТАММЕ МЕЛАНОМА B16

Береснева Ю.В.¹, Ибрагимов Ф.А.¹, Киреев Г.В.², Юсупова А.А.²

¹Институт биоорганической химии АН РУз; ²Республиканский онкологический научный центр, Ташкент (Узбекистан)

E-mail: yuliana70@mail.ru

Агрессивная специфическая противоопухолевая терапия нередко приводит впоследствии к возникновению вторичных злокачественных опухолей, нарушает основные звенья и общие ресурсы гомеостаза, снижает сопротивляемость организма, приводит к вторичному иммунодефициту. Группой ученых из Института биоорганической химии АН РУз получен белковый комплекс sp-2 из шрота сои с молекулярной массой основного компонента 30 кДа.

Целью настоящего исследования является изучение противоопухолевой активности белкового комплекса sp-2 по показателям торможения роста опухоли животных с перевитым штаммом Меланомы В-16.

В экспериментах использовали мышей линии С57В1. 1-я группа – контрольная вводился дистиллят в дозе 0,5 мл (per os) десятикратно. 2-я группа вводился 5-фторурацил в дозе 250 мг/кг троекратно на 3,5 и 9-дни после перевивки опухоли (внутрибрюшинно). 3-я группа вводили белковый комплекс sp-2 десятикратно в дозе 150 мг/кг (per os) через 48 часов после перевивки опухоли. Забой животных согласно методике осуществлен на 21 сутки. Расчет коэффициентов торможения роста опухоли 5-фторурацилом и соевыми белками производился по формуле: $ТРОм = (Mк - Mо) / Mк \times 100\%$, где Mк - масса опухоли в контрольной группе, Mо – масса опухоли в опытной группе. Процент торможения роста опухоли по объему рассчитывался аналогично.

Исследование противоопухолевой активности белкового комплекса sp-2 по показателям торможения роста опухоли на штамме Меланомы В-16 показало их позитивное действие (94,3% по массе, 64,9% по объему опухоли), превышающее действие известного химиопрепарата 5-фторурацила (85,8% по массе и 54,1% по объему).

Таким образом, проведенные эксперименты показали биологически значимую противоопухолевую активность соевых белков в эксперименте на мышах с перевитой опухолью меланомы В-16.

СПЕКТРАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭЭГ КРЫС ПРИ ГИПОТЕРМИИ

Рабаданова З.Г., Джамалудинова К.Д., Абдурахманов Р.Г., Мейланов И.С.

Дагестанский государственный университет, Махачкала (Россия)

E-mail: meylanovis@mail.ru

Умеренная гипотермия (35-33°C) оказывает нейропротективное действие при гипоксических и ишемических состояниях мозга и используется в хирургии при операциях на сердце и мозге. Гипотермия снижает электрическую активность мозга, потребление кислорода тканью мозга. Снижение электрической активности мозга при гипотермических состояниях, возможно, является ключевым фактором её защитного действия при ишемических состояниях. Однако механизм подавления электрической активности мозга при снижении температуры тела не выяснен.

В связи с этим нами предпринято исследование спектральной плотности электроэнцефалограммы (ЭЭГ) крыс при общем охлаждении организма. Регистрация ЭЭГ осуществлялась макроэлектродами, имплантированными в соматосенсорную кору. Опыты проведены под тиопенталовым наркозом. Животных охлаждали постепенно до полного подавления электрической активности. ЭЭГ регистрировали каждые 2°C. Температуру тела регистрировали ректально. Уже при умеренной гипотермии (35-33°C) в спектре мощности начинает доминировать тета-ритм. По мере дальнейшего снижения температуры тела частота тета-ритма закономерно снижается. При температуре 20-18°C ЭЭГ становится плоской.

Предполагается, что уже при умеренной гипотермии (35-33°C) в коре мозга крыс происходит арест ионных каналов корковых нейронов, что приводит к синхронизации электрической активности коры и уменьшению потребности мозга в энергии при гипотермических состояниях.

ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ И ФЕНОТИП ГРАНУЛОЦИТОВ У БЕРЕМЕННЫХ С ИНФЕКЦИОННЫМ РИСКОМ И ИХ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ

Ломова Н.А.¹, Беляева А.С.^{1,2}

¹ФГУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздравсоцразвития РФ; ²Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И.Скрябина, Москва (Россия)

E-mail: *skazka-morozko@mail.ru*

Инфекционно-воспалительные заболевания матери во время беременности приводят к нарушению реактивности иммунной системы их новорожденных детей. У новорожденных детей с риском развития инфекционно-воспалительной патологии наблюдаются отклонения в иммунном статусе. В этой связи представляется важным исследование фенотипических и функциональных особенностей клеток врожденной иммунной системы беременных с риском развития инфекционных заболеваний и их детей.

Цель настоящего исследования – оценить активность гранулоцитов периферической крови женщин с осложнением инфекционного течения беременности и пуповинной крови их новорожденных.

Под наблюдением находилось 20 беременных женщин с осложненным инфекцией течением беременности и 7 относительно здоровых пациенток, а также их новорожденные дети. Проведена оценка фагоцитарной активности гранулоцитов методом проточной цитофлуориметрии с использованием коммерческого набора PHAGOTEST, где в качестве тест-микроба выступают FITC-меченые *E. Coli*. Фенотипирование лейкоцитов периферической крови проводили с помощью моноклональных антител, меченных флуоресцеином изотиоцианатом и фикоэритрином к следующим поверхностным антигенам: CD3/CD16+56; CD45/CD14; CD3/HLA-Dr; CD11b; CD95; CD4/CD25; CD34. Исследования проводились методом двухцветной проточной цитофлуориметрии на приборе FACScalibur (Becton Dickinson).

В пуповинной крови новорожденных фагоцитарная активность гранулоцитов была ниже, чем в крови матери. У детей матерей с риском инфицирования отмечено более выраженное снижение фагоцитарной активности клеток. Выявлена тенденция к увеличению содержания маркеров цитотоксических клеток (CD3⁻CD16⁺CD56⁺) и апоптоза (CD95⁺) на нейтрофилах женщин с отягощенным течением беременности и их новорожденных по сравнению с контрольной группой обследованных. Достоверных различий в экспрессии активационных маркеров лейкоцитов крови в группах обследованных беременных и новорожденных детей не отмечено.

Таким образом, гранулоциты женщин группы высокого инфекционного риска и их новорожденных детей имеют выраженное изменение функциональной активности.

СЕКЦИЯ «Математические проблемы биологии»

МНОГОУРОВНЕВЫЙ ПАРАЛЛЕЛИЗМ ВЫЧИСЛЕНИЙ В ЗАДАЧАХ МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ МЕТОДОМ МОНТЕ-КАРЛО

Теплухин А.В.

Институт математических проблем биологии РАН, Пущино (Россия)

В докладе будет представлена эффективная стратегия молекулярного моделирования, основанная на объединении двух ключевых подходов к распараллеливанию вычислений методом Монте-Карло.

Пространственная (доменная) декомпозиция обеспечивает высокую масштабируемость и позволяет изучать биомолекулярные комплексы, состоящие из миллионов атомов. Однако, из-за особенностей молекулярных взаимодействий, в рамках этого подхода можно уменьшать размеры доменов лишь до определённого значения, ограниченного радиусом обрезания межатомных взаимодействий.

Атомная декомпозиция - разбиение программных циклов по списку всех атомов на порции - наоборот, очень эффективна для изучения объектов малого и среднего размера, но плохо масштабируется (не более 32 ядер) и быстро исчерпывает с ростом размера модели ресурсы оперативной памяти.

Сочетание двух этих подходов позволяет «нейтрализовать» их ограничения и создать очень эффективные программы для молекулярного моделирования на суперкомпьютерах.

Также в докладе будут представлены результаты тестов разработанных программ на быстрдействие и масштабируемость при расчетах многоатомных моделей (вода и др.).

МОДЕЛИРОВАНИЕ КАЛЬЦИЕВЫХ «ЧАСОВ» В КЛЕТКАХ ВОДИТЕЛЕЙ СЕРДЕЧНОГО РИТМА

Рывкин А.М., Москвин А.С.

Институт иммунологии и физиологии УрО РАН; Уральский государственный университет им. А.М. Горького, Екатеринбург (Россия)

E-mail: alex-ryvkin@yandex.ru

Сокращения сердечных клеток активируются повышением концентрации внутриклеточного Ca^{2+} , большое количество которого периодически высвобождается из специфических кальциевых цистерн, саркоплазматического ретикулума (СР). Высвобождение происходит через рианодиновые рецепторы (RyR-каналы) в ответ на повышение концентрации Ca^{2+} вследствие ионных мембранных внешних токов через каналы L-типа. Кальциевая перегрузка может быть одной из наиболее значительных предпосылок возникновения острой сердечной недостаточности.

Результаты недавних экспериментов по изучению процесса кальциевой динамики в клетках водителей ритма показали, что в отсутствие стимуляции со стороны мембранных токов наблюдались спонтанные периодические высвобождения Ca^{2+} из изолированных СР. Данные локальные высвобождения (Ca^{2+} «часы») взаимодействуют с внешними колебаниями напряжения (мембранными «часами»). Самосогласованное взаимодействие внешнего и внутреннего осцилляторов обеспечивают надежность работы ритмоводителей в достаточно широком диапазоне динамических параметров.

Исследование посвящено моделированию динамики высвобождающей единицы (ВЕ) в кардиомиоцитах. ВЕ включает в себя: 1) кластер взаимодействующих RyR-каналов, динамика которых является стохастической; 2) люмен СР; 3) диадическое пространство между СР и мембраной.

Разработанная ранее электронно-конформационная модель (ЭКМ) динамики RyR-канала, предполагает существование двух степеней свободы канала: электронной (быстрой) и конформационной (медленной). Процессы динамики канала включают прямые («франк-кондоновские») электронные переходы между ветвями конформационного потенциала,

ланжевеноскую конформационную динамику медленной степени свободы и не прямые переходы, связанные с термофлуктуациями и квантовыми эффектами («туннелирование»).

В результате серии компьютерных экспериментов по изучению стохастической динамики кластера 11×11 RyR-каналов в процессе возбуждения-сокращения сердечной клетки были выявлены различные режимы функционирования, в частности, автоволновой режим, лежащий в основе динамики клеток ритмоводителя.

Грант: РФФИ-Урал: 09-М-14-2010.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ИММУННОГО ОТВЕТА В ЦЕЛИАКИИ И ДЕЙСТВИЯ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Демин О.О.¹, Соколов В.В.¹, Смирнов С.В.¹, Кукурулл-Санчес Л.²,
Пикардо-Альмарза Ц.², Флорес В.², Бенсон Н.², Демин О.В.¹

¹Институт системной биологии СПб, Москва (Россия)

²Пфайзер, Сэндвич (Великобритания)

E-mail: vicktors@gmail.com

Целиакия – это аутоиммунное заболевание, вызываемое белком глютеном, содержащимся во многих злаках. При поступлении этого белка в тонкий кишечник, у больного возникает нарушение пищеварения, вызванное повреждением ворсинок и потерей всасывания. На данный момент не существует лекарственных средств для лечения этой болезни. В данной работе показана возможность создания и использования математических моделей для предсказания действия ингибитора трансглутаминазы-2 и других возможных лекарственных препаратов с целью лечения целиакии.

Цели работы:

1. Создать модель, описывающую быстрый и медленный иммунные ответы в целиакии.
2. Используя модель, проверить эффективность действия ингибитора трансглутаминазы-2 и других возможных лекарственных препаратов.

Математическая модель была создана посредством интегрирования всех доступных *in vitro*, *in vivo* и клинических данных о ключевых процессах патогенеза целиакии. Эта модель состоит из следующих частей: (i) быстрый иммунный ответ; (ii) деамидирование глютенных пептидов посредством трансглутаминазы-2 в ламине; (iii) медленный иммунный ответ.

Полученная модель позволила получить следующие результаты:

1. Действие ингибитора трансглутаминазы-2 приводит к падению антител только в 2-3 раза, поэтому уровень антител остается выше фонового уровня здорового человека.
2. Действие ингибитора трансглутаминазы-2 не приводит к значительному увеличению площади поверхности всасывания тонкого кишечника.
3. Наиболее эффективным возможным лекарственным средством являются пептиды, которые связываются с рецепторами на антигенпрезентирующих клетках, препятствуя их связыванию с глютенными пептидами.

Таким образом, данная модель иммунного ответа при целиакии позволяет предсказать эффективность действия ингибитора трансглутаминазы-2 и других возможных лекарственных средств: их влияние на площадь поверхности всасывания тонкого кишечника и на уровень антител.

ПРИМЕНЕНИЕ МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ДЕЙСТВИЯ ПРОТИВОАСТМАТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ZILEUTON

Карелина Т.А.¹, Демин О.В.¹, Жуденков К.В.¹, Светличный Д.В.¹, Демин О.О.¹,
Фэирмэн Д.², Агорам Б.²

¹Институт системной биологии СПб, Москва (Россия)

²Пфайзер, Сэндвич (Великобритания)

E-mail: olegdeminmsu@gmail.com

Использование моделирования сложных биологических систем, возможно, является следующим шагом в эволюции фармакокинетического-фармакодинамического моделирования. Объектом исследования данной работы является лекарственный препарат Zileuton и взаимосвязь дозировок, времени и эффекта действия этого ингибитора 5-липоксигеназы.

Цели работы:

1. Создать модель, описывающую сложную биохимическую систему, включающую ингибирование 5-липоксигеназы и регуляцию FEV₁, используя литературные данные.
2. Определить возможный механизм, описывающий наблюдаемую сложную взаимосвязь между фармакокинетикой и фармакодинамикой Zileuton.

Математическая модель была создана посредством интегрирования всех доступных *in vitro*, *in vivo* и клинических данных о процессах, происходящих при астме на внутриклеточном, клеточном и организменном уровнях. Эта модель состоит из следующих частей: (i) клеточная модель, описывающая динамику миграции, активации, созревания и смерти эозинофилов; (ii) детализированная биохимическая модель 5-липоксигеназы; (iii) модель синтеза лейкотриенов в лейкоцитах; (iv) биофизическая модель сокращения гладкой мускулатуры воздухоносных путей; и (v) фармакокинетическая модель Zileuton.

Построенная модель позволила сделать следующие выводы:

1. Быстрая релаксация тонуса гладкомышечных клеток воздухоносных путей после приема Zileuton объясняется прямым ингибированием синтеза лейкотриенов. При однократном приеме препарата дозировка 400 мг позволяет достигать максимального ингибирования, поэтому дозовая зависимость свыше 400 мг не наблюдается.

2. Наблюдаемое запаздывание в достижении максимального эффекта в ответ на прием препарата дозами в 600 мг и выше объясняется временем продолжительности жизни эозинофилов.

Таким образом, данная модель 5-липоксигеназного пути и его роли в патофизиологии астмы успешно помогает в объяснении и понимании сложной взаимосвязи фармакокинетики и фармакодинамики лекарственного препарата Zileuton. Также модель может быть использована для более полного изучения и понимания роли различных других терапевтических средств для лечения астмы.

ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ РАКОМ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ТЕХНОГЕННОМ ОБЛУЧЕНИИ В ДЕТСКОМ ВОЗРАСТЕ

Мартиненко И.А.

ФГУП Южно-Уральский институт биофизики Федерального медико-биологического агентства, Озерск (Россия)

E-mail: mart_tinez@mail.ru

Основой гигиенического нормирования радиационной защиты персонала атомных предприятий и населения, проживающего в зоне их влияния, является коэффициент радиационного канцерогенного риска. Наиболее надежные коэффициенты могут быть получены в когортных исследованиях.

Целью данной работы является исследование заболеваемости раком щитовидной железы в когорте населения города Озерска, подвергавшегося техногенному облучению в детском возрасте за счет проживания вблизи первого в стране предприятия атомной промышленности ПО «Маяк», введенного в эксплуатацию в июне 1948 года.

Исследование проведено на основе регистра, объединяющего 64869 людей 1934–1988 годов рождения, родившихся в городе Озерске или приехавших в город в возрасте до 15 лет. Период наблюдения в исследуемой когорте включает 1948–2009 годы. Уровень заболеваемости оценен в виде коэффициентов относительного риска с использованием метода косвенной стандартизации по возрасту. Сравнение проведено с внутренним контролем, полученным в изучаемой когорте с использованием программного пакета «Epiqure».

Проведенное исследование показало достоверное превышение заболеваемости раком щитовидной железы в изучаемой когорте. Стандартизованный по возрасту относительный риск составил у мужчин - 1.66 (ДИ 90% 1.06–2.48), у женщин - 1.67 (ДИ 90% 1.35–2.04).

МОДЕЛИРОВАНИЕ И АНАЛИЗ МАГНИТОЭНЦЕФАЛОГРАММ**Рыкунов С.Д., Сычев В.В., Устинин М.Н.**

Институт математических проблем биологии РАН, Пущино (Россия)

E-mail: *stanislavrykunov@gmail.com*

Проведен сравнительный анализ данных нескольких экспериментов по магнитной энцефалографии. В качестве опорных использовались результаты аудиторного эксперимента, полученные на 148-канальном магнитометре Magnes 2500 WH (Нью-Йоркский университет). При помощи решения обратной задачи в различные моменты времени были построены одно- и двухдипольные модели источников спонтанной активности головного мозга. Эти модели использовались для расчета пространственных паттернов магнитных полей, измеряемых градиометром в РНЦ «Курчатовский институт». Использование градиометра второго порядка по оси Z позволяет частично избавиться от внешних шумов, а также уменьшить вклад от наиболее глубоких источников спонтанной активности головного мозга. Было найдено, что прибор регистрирует магнитную энцефалограмму достаточно высокой мощности.

Для анализа временной зависимости применялся аппарат спектральных разложений Фурье. Сначала были рассмотрены спектры магнитоэнцефалограммы, полученной на многоканальной системе. Для анализа были выбраны два канала - расположенный в височной области головы (слуховая кора) и канал в затылочной части (зрительная кора). Оба спектра имеют характерный для работы мозга квазишумовой вид с широкими пиками в области 10 Гц (альфа-ритм) и 20 Гц (бета-ритм). Спектры временных рядов, полученных на одноканальном градиометре РНЦ «Курчатовский институт», также имеют вид, характерный для спектров магнитоэнцефалограмм. В ряде спектров хорошо виден альфа-ритм, иногда заметны низкочастотные пики (дельта-ритм). Следует отметить высокий уровень внешних по отношению к мозгу шумов, выраженных на спектрах в виде узких пиков на гармониках некоторых основных частот.

Разработанный градиометр может использоваться для изучения когнитивной активности, а созданное программное обеспечение позволяет реконструировать распределение источников в мозге.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №10-07-00300.

**ИЗМЕНЕНИЯ ЧАСТОТЫ STR-ЛОКУСОВ АЛЛЕЛЕЙ В ГЕНОФОНДЕ
КОРЕННОГО НАСЕЛЕНИЯ УЗБЕКИСТАНА****Курганов С.К.**

Национальный университет Узбекистана им. Мирзо Улугбека, Ташкент (Узбекистан)

E-mail: *kurganov_sardor@yahoo.com*

Были проведены исследования ДНК 530-ти неродственных индивидуумов представителей коренной узбекской популяции из 13 регионов с использованием панели из 15 STR-локусов (участков ДНК с короткими tandemными повторами): D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D5S818, D18S51 и FGA.

Предлагается попытка моделирования картины вариабельности коренной популяции Узбекистана через несколько поколений вперед.

В симплексе $S^{n-1} = \{x = (x_1; x_2; \dots; x_n) : \sum_{i=1}^n x_i = 1, x_i \geq 0\}$

рассмотрим эволюционный оператор популяции

$(Vx)_k = x_k' = \sum_{i,j=1}^n P_{ij,k} x_i x_j, k=1, \dots, n$

где $P_{ij,k} \geq 0, P_{ij,k} = P_{ji,k}, \sum_{k=1}^n P_{ij,k} = 1, x = (x_1; x_2; \dots; x_n) \in S^{n-1}, V(S^{n-1}) \in S^{n-1}$.

Состояние аллелей можно задавать как набор $x = (x_1^0; x_2^0; \dots; x_n^0)$ вероятностей разновидностей. Коэффициенты $P_{ij,k}$ — это вероятность появления k -той аллели при скрещивании i -той и j -той аллелей. При панмиксии, родительская пара аллелей образуется в состоянии x с вероятностью \cdot . Следовательно,

$x_k = \sum_{i,j,k=1}^n P_{ij,k} x_i x_j, k=1, \dots, n,$

будет полной вероятностью. Если в некотором поколении аллели находятся в состоянии x , то в следующем поколении в состоянии $x' = Vx$.

По модели Мальтуса $x_k = \alpha_k x_k$, находим частоту аллелей, где коэффициент α_k предлагаем вычисляется так

$$\alpha_k = [1 - \sum_{i=1}^n (x_i - x_k) x_i], \quad k=1, \dots, n$$

В результате исследования было показано, что через 9–10 поколений в эволюции STR-локусов генофонде узбекской национальности в локусе D8S1179 аллель 13 (D21S11,30; D7S820,11; CSF1PO,12; D3S1358,15; TH01,9; D13S317,11; D16S539,12; D2S1338,19; D19S433,14; vWA,16; TPOX,8; D5S818,11; D18S51,15; FGA,24) с течением времени доминирует, а остальные аллели уменьшаются.

ИССЛЕДОВАНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ КОМПЛЕКСОВ ПЕПТИДОВ (RADA)₄ МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ

Соболев Е.В., Данилкович А.В., Тихонов Д.А., Шадрина Т.Е., Удовиченко И.П.
Институт математических проблем биологии РАН; Филиал института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН; Пушкинский государственный университет, Пушкино (Россия)

E-mail: egor@impb.psn.ru

Образование комплексов биологических молекул с участием полипептидов можно рассматривать как характерный признак живых систем, который реализуется при сборке вирусных капсид, микротрубочек или филаментов актина. Процесс взаимодействия самоорганизующихся полипептидов определяется физико-химическими свойствами аминокислотных остатков, находящимися в составе их структуры, и внешними факторами среды. В частности характер взаимодействия молекул пептидов (RADA)₄ на начальном этапе процесса организации филамента представляет большой интерес в свете решения вопроса о разработке искусственных наноматериалов-биомиметиков, имеющих значительный потенциал использования в тканевой инженерии.

В настоящей работе методом молекулярного моделирования были исследованы этапы агрегации пептидов (RADA)₄. Анализ энергии образования комплексов подтверждает, что предпочтительным состоянием пептидов является их объединение в полимерные комплексы. Показано, что с ростом олигомеризации комплекса происходит стабилизация антипараллельной β -структуры. Это подтверждается анализом среднеквадратичных отклонений атомов пептидного остова от первоначальной структуры. В то же время при образовании тетрамеров структура стабилизируется значительно сильнее, нежели при образовании димеров. Анализ углов Рамачандрана подтверждает, что димеры являются короткоживущим образованием. Таким образом, можно предположить, что структуры тетрамера, в которой пептиды находятся в антипараллельной β -конформации, является первым этапом процесса сборки филамента.

В составе крупных комплексов конформации внутренних цепей пептидов более консервативны, что отражает процесс «созревания филамента».

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (ГК № 02.740.11.5224 и ГК № 14.740.11.0170) в рамках федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» и на оборудовании, предоставленном ООО «Модуль-Проекты», г. Москва.

РАСЧЕТ И АНАЛИЗ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ ДНК-СВЯЗЫВАЮЩИХ БЕЛКОВ ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ ДАННЫХ НЕЙТРОННОГО РАССЕЯНИЯ

Швецов А.В., Гармай Ю.П., Лебедев Д.В., Петухов М.Г., Исаев-Иванов В.В.

Петербургский Институт ядерной физики им. Б.П. Константинова,
Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: alexxy@omrb.pnpi.spb.ru

Одним из активно развивающихся методов теоретического исследования биологических систем является метод молекулярной динамики в периодических водных боксах. Данный метод

позволяет моделировать крупномасштабную конформационную подвижность белков широкого диапазона размеров, а также их комплексов на атомарном уровне, что позволяет находить подвижные домены в белках, и позволяет строить динамически модели белков пригодные для интерпретации данных малоуглового рассеяния нейтронов и рентгеновских лучей.

В данной работе мы продемонстрировали построение динамических моделей белков на примере ДНК-связывающих белков, таких как RecA из *E.coli* и *D. Radiodurans*, RadA из *Desulfurococcus amylolyticus*. Для белка RecA из *D. Radiodurans* было показано, что движения С-концевого домена зависят от связывания белком кофакторов (АТФ и днДНК), что можно выделить 7 подвижных доменов внутри белка, а так же что данные полученные методами молекулярной динамики можно сопоставить с данными малоуглового рассеяния нейтронов.

ИЗУЧЕНИЕ ДИМЕРОВ ИОННЫХ ПЕПТИДОВ (RADA)₄ МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ

Шадрина Т.Е., Данилкович А.В., Тихонов Д.А., Соболев Е.В., Удовиченко И.П.

Филиал института биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и
Ю.А. Овчинникова РАН; Пушинский государственный университет;
Институт математических проблем биологии РАН, Пушкино (Россия)

E-mail: tshadr@rambler.ru

Использование метода молекулярного моделирования представляет уникальную возможность изучения свойств биологических макромолекул и детализации процесса самоорганизации пептидов. В работе поставлена задача получения сравнительных данных о влиянии потенциальных полей AMBER ff03, ff99SB и ff96 на результаты экспериментов по молекулярному моделированию димеров, образованных ионными пептидами NH₂-(RADA)₄-COOH в β-конформации, при двух значениях температуры (300К и 320К). Решение вопроса по представлению всех состояний модели полипептида, помещенной в различные поля сил, предполагает изучение особенностей поведения белков в разных условиях, в том числе временные характеристики формирования на участках молекулы вторичных структур. Показано, что моделирование ионных пептидов в условиях явного водного окружения наиболее информативно по сравнению с неявными методами, при этом использование различных полей сил оказывает существенное влияние на стабильность исходной конформации пептидной молекулы во времени. На основании результатов, полученных с использованием пакета программ AMBER 11 сделан вывод о том, что модельная среда ff99SB характеризуется более высоким уровнем формирования антипараллельных β-структур в составе димера при 300К, в то время как ff96 не только обеспечивает наибольшую устойчивость исходной конформации пептида к изменению температуры, но также обладает высоким потенциалом удержания молекулой пептида антипараллельной β-конформации ($t_{300}=8$ нс и $t_{320}=6$ нс), которая определяет способность пептидов NH₂-(RADA)₄-COOH к самоорганизации в физиологических условиях с образованием искусственного матрикса.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (ГК № 02.740.11.5224 и ГК № 14.740.11.0170) в рамках федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» с использованием оборудования, предоставленного ООО «Модуль-Проекты» г. Москва.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ СОПРОЦЕССОРОВ ДЛЯ УСКОРЕНИЯ ВЫЧИСЛЕНИЯ ДИНАМИЧЕСКИХ КОНТАКТНЫХ КАРТ

Лихачев И.В., Балабаев Н.К.

Институт математических проблем биологии РАН, Пушкино (Россия)

E-mail: ilya_lihachev@mail.ru

Программами моделирования молекулярной динамики пользуются во многих исследовательских лабораториях. В настоящее время обрабатываются файлы траекторий молекулярной динамики большого объема. Программы TAMD (Trajectory analyzer of molecular

dynamics – Анализатор траекторий молекулярной динамики) служит для быстрого анализа траектории в целом, предоставляя возможность рассмотрения динамики молекулярной системы в виде молекулярного кино и получения простых характеристик вдоль траектории. Вместе с тем в TAMD заложены и более сложные алгоритмы анализа динамики молекулярных структур. Для больших размеров систем требуются объемные вычисления, которые при использовании стандартных алгоритмов не позволяют интерактивно обрабатывать данные в реальном масштабе времени. Решить эту проблему можно, воспользовавшись графическими процессорами как вычислительными устройствами общего назначения (GPGPU – general purpose graphical processor unit).

Контактная карта представляет собой матрицу парных контактов между атомами молекулярной системы. Обычно такая матрица представляется в виде квадратного симметричного относительно главной диагонали точечного рисунка. Интенсивность закраски наиболее мелкой видимой единицы изображения – пикселя – связана с появлением или отсутствием контакта между единицами молекулярной системы.

Построение динамических контактных карт и лент контактов уже заложено в TAMD. В 2011 году начата работа над следующей версией Анализатора – TAMD.NET. Компания NVIDIA предоставляет возможность использования своих графических процессоров по технологии CUDA исключительно с помощью MS Visual Studio.

Реализовано 3 алгоритма расчета динамических контактных карт: на одном процессоре, на многоядерной системе и на GPU. Время расчета тестовой матрицы большого размера 8300×8300 элементов составило 13 с, 4.7 с и 0.8 с, соответственно.

Использование современных гетерогенных вычислительных систем (многоядерных вычислительных комплексов и графических процессоров) позволяет значительно сократить время вычисления сложных характеристик молекулярных объектов и предоставить интерактивный режим анализа их поведения на траектории молекулярной динамики.

ГИДРОДИНАМИЧЕСКАЯ АКТИВАЦИЯ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ В СТЕНОЗИРОВАННЫХ СОСУДАХ. ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Рухленко А.С., Дудченко О.А., Гурия Г.Т.

Московский физико-технический институт; Гематологический научный центр,
Москва (Россия)

E-mail: *aleksey_r@list.ru*

Нарушения в системе гемостаза — одна из основных причин смертности в развитых странах. Анализ механизмов активации системы свертывания является актуальной задачей. К настоящему времени наиболее подробно изученными являются механизмы активации свертывания в бесконвективных условиях и в условиях медленного потока ($Re \ll 1$). Было установлено, что резкое понижение интенсивности кровотока, как правило, приводит к пороговой активации системы свертывания и перекрытию сосуда тромбом.

Теоретическое изучение механизмов активации свертывания в условиях интенсивного кровотока ($Re \sim 100$), до настоящего времени ограничивалось анализом соответствующих процессов в прямооточных сосудах. Известно, что тромбоз сосудов с интенсивным кровотоком (например, коронарных и сонных артерий), как правило, вызван развитием атеросклероза в интиме сосудов. Влияние последнего на свертывание крови двояко. С одной стороны, он служит источником прокоагуляционных факторов, инфильтрующихся в кровяной поток. С другой — рост атеросклеротической бляшки влечет за собой сужение просвета сосуда — стенозирование. Изменение профиля сосуда в ряде случаев приводит к изменению топологии течения и к увеличению напряжения касательного сдвига.

В настоящей работе теоретически изучались сценарии гидродинамической активации тромбообразования в стенозированных сосудах в условиях интенсивного кровотока. В работе было принято во внимание, что напряжение касательного сдвига, создаваемое кровотоком, оказывает существенное влияние на проницаемость поверхности бляшки для прокоагулянтов.

В результате теоретического анализа были построены диаграммы потери устойчивости жидкого состояния крови. Показано, что активация свертывания может происходить не только при понижении скорости кровотока, но и при его интенсификации. Было установлено, что

связь между степенью перекрытия сосуда бляшкой и интервалом гидродинамических условий, в которых эта бляшка может вызвать свертывания крови, является нелинейной. Расчеты показали, что в условиях интенсивного кровотока наиболее тромбогенно опасными должны быть бляшки с умеренной степенью перекрытия просвета сосуда (до 50%).

РАСЧЕТНЫЕ МЕТОДИКИ И ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТИ МАЛЫХ БЕЛКОВ

Кондратьев М.С., Кабанов А.В., Самченко А.А., Комаров В.М., Хечинашвили Н.Н.
Институт биофизики клетки РАН, Пущино (Россия)

E-mail: *ma-ko@bk.ru*

Исследования в рамках работ, направленных на повышение устойчивости тех или иных белков к разрушающему действию высоких температур, ведутся с применением большого количества методов, в том числе, компьютерного моделирования. В этой связи представляется актуальным уточнение существующих подходов к описанию и предсказанию термостабильности малых белков, которые полезны как для фундаментальных исследований, так и для прикладных работ.

Объектом нашего исследования был выбран бактериальный фермент-липаза LipA из *Bacillus subtilis* (белок с кодом pdb 2QXU, содержит 181 аминокислотный остаток). Обычно для определения мест необходимых аминокислотных замен используются подходы, основанные на анализе гомологии мезофильных и термофильных белков, или же методы направленной эволюции. Однако с развитием расчетных методов компьютерного моделирования, в том числе молекулярной динамики, стало возможным оценивать эффективность планируемых замен еще до их осуществления *in vitro*. При этом краеугольным камнем таких теоретических подходов оказывается проблема достоверности получаемых результатов и вопросы калибровки расчетных методик. Ответ на вопрос «изменение какого параметра оценивать, чтобы характеризовать термостабильность белков при расчетах?» - до сих пор остается предметом дискуссии.

В нашей работе первым этапом исследования явилась именно калибровочная часть, состоящая в моделировании динамического поведения пар малых белков (например, 1C9O и 1I5F), отличающихся на один аминокислотный остаток и имеющих хорошее экспериментальное описание их термостабильности. Основой же для интерпретации данных послужила концепция повышения стабильности малых глобулярных белков, предложенная несколько лет назад в Лаборатории структуры и динамики биомолекулярных систем института Биофизики клетки РАН. Ее авторы показали, что рост термостабильности таких молекул имеет энтропийную природу и связан с увеличением количества альтернативных водородных связей между боковыми группами аминокислотных остатков на поверхности глобулы.

Оценив изменение расстояний между потенциально донорными и акцепторными (для образования водородной связи) боковыми группами аминокислотных остатков на периферии глобулы, а также построив зависимости среднеквадратичных отклонений боковых групп от времени, при различных температурах, мы подтвердили, что выбранные подходы к анализу результатов расчета траектории ускоренной молекулярной динамики (с использованием GPU NVIDIA) являются адекватными. Впоследствии по аналогичной схеме были проанализированы замены, считающиеся перспективными для увеличения термостабильности липазы LipA - и теперь результаты теоретического исследования ждут экспериментальной проверки.

Авторы работы благодарят НИВЦ МГУ и компанию NVIDIA за предоставление доступа к высокопроизводительным вычислительным ресурсам на базе профессиональной платформы Tesla.

АНАЛИЗ ПОДВИЖНОСТИ АТОМОВ В ПРОЦЕССЕ СВОБОДНОГО КРИСТАЛЛОГРАФИЧЕСКОГО УТОЧНЕНИЯ СТРУКТУРЫ МАКРОМОЛЕКУЛ

Соболев О.В.

Институт математических проблем биологии РАН, Пущино (Россия)

E-mail: *oleg@impb.ru*

Математически, уточнение структуры белка - это процедура минимизации некоторой целевой функции в многомерном пространстве, размерность которого может достигать до 10^5 , а целевая функция - сумма порядка 10^6 сильно осциллирующих слагаемых. Все это делает процесс минимизации нестабильным, и для решения этой проблемы в целевую функцию вводятся дополнительные штрафные функции (стереохимические ограничения). Использование кристаллов высокого качества позволяет усложнить модель, включив в нее альтернативные конформации для подвижных боковых групп, а при высоком разрешении, позволяет частично отказаться от стереохимических ограничений. Выявление альтернативных конформаций является трудоемким этапом. В данной работе мы проверили, могут ли результаты уточнения без ограничений сами по себе служить «автоматическим» индикатором наличия альтернативных конформаций.

Для проверки этого предположения мы разработали автоматическую процедуру для получения, обработки, уточнения моделей и экспериментальных данных из Protein Data Bank заданного диапазона разрешения и расчета атомных сдвигов. Этот анализ позволил оценить «обычные» значения сдвигов атомов в зависимости от разрешения и атомных свойств (главная или боковая цепь и т. д.). Наиболее тщательный анализ (анализ карт распределения электронной плотности, сравнение альтернативных конформаций, выставленных авторами с величинами атомных сдвигов) был проведен для структур разрешения 1.2–1.1 Å.

Было обнаружено, что обычно остатки, обладающие альтернативными конформациями, обладают большими атомными сдвигами. Была обнаружена некоторая корреляция между величинами атомных сдвигов и коэффициентом заселенности атомов. Мы предполагаем, что уточнение без стереохимических ограничений может быть использовано на начальных этапах уточнения для быстрого определения остатков, которые необходимо проверить на наличие альтернативных конформаций.

Данная работа выполнена при частичной поддержке РФФИ, грант № 10-04-00254-а.

ПРИМЕНЕНИЕ КОМПЬЮТЕРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МИОКАРДА

Рахматов Ф.А., Холмуродов М.Х. Хушматов Ш.С. Усманов П.Б.

Институт физиологии и биофизики Академии наук Республики Узбекистан,
Ташкент (Узбекистан)

E-mail: *shunqorhsh@mail.ru*

На сегодняшний день в сфере медицины для лечения и профилактики болезней сердечно-сосудистой системы существует высокая потребность в изготовлении новых эффективных лекарственных средств, для создания которых требуются новые исследования с использованием новейших компьютерных технологий.

Целью данной работы является исследование влияния биологических активных веществ на сократительную активность папиллярной мышцы сердца крысы с применением компьютерной технологии. При этом ставится задача улучшения качества эксперимента и обеспечение возможности компактного хранения результатов экспериментов. Для достижения поставленной цели разработана программа «Анализ кинетики мышечного сокращения» для изучения сократительной активности папиллярной мышцы сердца крысы.

Разработанная программа позволяет определить влияние химических концентратов на скорость сокращения и расслабления сердечных мышц. При проведении эксперимента вычисляются такие параметры как амплитуда и сила сокращения, скорость сокращения и расслабления, общая длительность эксперимента. Сокращение и расслабление сердечной

мышцы регистрируется экспериментальной микромеханографической установкой. Регистрируемый сигнал имеет заметные помехи, вносимые несовершенством аппаратуры регистрации, передачи и преобразования. Для качественного анализа результатов текущего эксперимента необходимо постоянно обращаться к серии предыдущих экспериментов, поэтому второй задачей применения программы является сжатие регистрируемого сигнала для его компактной записи в оперативной памяти.

Вышеперечисленные задачи можно решить с помощью методов полиномиальной обработки сигналов. Предлагаемый метод полиномиальной обработки основан на спектральном подходе. Преимущества этого метода заключаются в том, что одновременно обеспечивается и фильтрация и сжатие измеряемого сигнала. Для примера взяты измеренные значения сигнала общей длительности 830 с объемом 1.15 МБ. После обработки предлагаемым методом объем сократился на 576 КБ. За счет процедуры сглаживания удалось убрать помехи и повысить точность измерения на 1.2%.

Применение метода полиномиальной обработки и соответствующего алгоритма и программы заметно увеличивает качество определения характеристик биосигнала и дает возможность компактного сохранения результатов эксперимента.

СЕКЦИЯ «Теоретическая и прикладная экология»**БИОЛОГИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И ЕГО ДИНАМИКА: СПОСОБЫ И МЕТОДЫ ОЦЕНКИ****Ханина Л.Г.**

Институт математических проблем биологии РАН, Пущино (Россия)

Биологическое разнообразие (биоразнообразие) – это разнообразие жизни во всех ее проявлениях. Согласно Конвенции UNEP (1992) биоразнообразие является одним из важнейших параметров оценки устойчивости использования биологических ресурсов нашей планеты, а сохранение биологического разнообразия является общей задачей всего человечества.

Для сохранения биологического разнообразия необходимо, во-первых, оценивать его современный уровень, а во-вторых, уметь прогнозировать его динамику, как при различных внешних воздействиях (локальных и глобальных), так и в отсутствие внешних воздействий (например, при абсолютном заповедании территорий в условиях стационарного климата). Задачи прогноза изменения биоразнообразия тесно связаны с задачами исследования причин того или иного уровня биоразнообразия в конкретный момент (период) времени; причем последний должен быть сравним со временем жизни тех биологических объектов, чье биоразнообразие изучается.

В Конвенции UNEP (1992) биоразнообразие определяется как вариабильность живых организмов; понятие, включающее в себя разнообразие в рамках вида (генетическое), между видами (видовое или таксономическое) и разнообразие экосистем (экосистемное). В докладе рассмотрены способы и методы оценки уровня и динамики видового и экосистемного разнообразия (без связи с вопросами эволюционной динамики разнообразия видов и сообществ). Все вопросы обсуждаются на примере растительности умеренных лесов, в частности, на примере растительности равнинных территорий лесной зоны Европейской России.

Оценка видового разнообразия

Видовое разнообразие традиционно оценивается через показатели, предложенные в работах Уиттекера (Whittaker, 1960, 1972), – альфа, бета, гамма разнообразие. Суть подхода, предложенного Уиттекером, состоит в том, что биоразнообразие должно оцениваться на разных уровнях пространственного членения исследуемой территории; при этом следует различать инвентаризационное разнообразие (альфа, гамма), которое оценивает разнообразие объектов любого масштаба как целого, и дифференцирующее (бета) разнообразие, отражающее варьирование разнообразия и внутреннюю неоднородность соответствующих единиц живого покрова.

По определению Уиттекера, *альфа-разнообразие* характеризует богатство видами отдельных сообществ. Самыми простыми показателями альфа разнообразия являются видовое богатство (species richness) – общее число видов в сообществе; и видовая насыщенность (species density по Hurlbert, 1971) – среднее число видов на единицу площади. Учет средней видовой насыщенности (помимо видового богатства) позволяет получать сопоставимые оценки видового разнообразия при анализе сообществ, занимающих различные площади.

Помимо числа видов, зачастую важным параметром видового разнообразия является выравненность (evenness, equitability), которая характеризует равномерность распределения численности организмов разных видов в анализируемой единице живого покрова. Относительная численность (или обилие) видов лежит в основе расчета многочисленных индексов, в которых объединяются показатели видового богатства и выравненности. Наиболее известны из них индексы разнообразия Шеннона, Симпсона, Маргалейфа, индекс выравненности Пиелу и др. (см. обзор Мэггаран, 1992). При этом одни индексы уделяют большее внимание наиболее обильным (доминирующим) видам (как, например, индекс Симпсона), другие – редким видам (индекс Шеннона); одни индексы изменяются в пределах от 0 до 1 (индексы Симпсона, выравненности Пиелу), другие растут по мере увеличения видового богатства (индексы Шеннона, Маргалейфа).

Бета разнообразие характеризует изменчивость показателей альфа разнообразия в пространстве. Традиционно оно оценивается через индексы сходства (например, индексы Жаккара, Сьеренсена) и индексы гетерогенности (наиболее известный из них – индекс Уиттекера) (см. Мэгарран, 1992). Кроме того, бета разнообразие может оцениваться по диапазонам варьирования растительности в осях ординации (см. примеры в Оценка..., 2000), по внутригрупповым расстояниям между площадками, что позволяет, в частности, проверить статистическую значимость различий анализируемых единиц живого покрова по бета разнообразию (Anderson et al., 2006).

Гамма разнообразие – общее разнообразие видов в ландшафте или его части – формируется в результате сложного и неаддитивного взаимодействия альфа и бета разнообразия. В качестве нижнего пространственного уровня, для которого правомочно применять это понятие, Ю.И.Чернов (1991) предлагает использовать ландшафтный профиль или катену. Верхний уровень использования этого показателя соответствует региону (Heuwood, 1995).

При оценке инвентаризационного разнообразия целесообразно проанализировать структуру видового разнообразия: указать число и процент видов разных семейств, родов, жизненных форм, разных типов популяционного поведения, экологических, эколого-ценотических и прочих групп. Для расчетов «структурного разнообразия» удобно использовать справочные базы данных по свойствам видов. В частности, для растений лесной зоны Европейской России такие базы данных разработаны и доступны (Smirnova et al., 2006; <http://www.jcbi.ru/prez/baza.shtml>; <http://www.impb.ru/index.php?id=div/lce/ecg>).

Оценка экосистемного разнообразия

Экосистемное разнообразие рассматривают как разнообразие растительных сообществ (community diversity) (по van der Maarel, 1997) и оценивают по числу и перечню сообществ разного типа, выделяемых в пределах изучаемых территорий. Типы сообществ могут быть выделены с помощью различных подходов (доминантного, флористического, эколого-ценотического, физиономического). Так, например, экосистемное разнообразие лесных территорий можно оценить по доминирующей породе древостоя или по типам леса – данным, полученным из лесотаксационных описаний.

Прогноз динамики биоразнообразия

Прогноз изменения биоразнообразия, также как и объяснение причин того или иного уровня биоразнообразия, целесообразно проводить в рамках представлений о потенциях и позициях биологических систем, сформулированных О.В. Смирновой (1987). Согласно этим представлениям, потенции растительного покрова в части биоразнообразия реализуются через максимальную представленность видов региональной флоры.

Анализ флоры показывает, что 50% сосудистых растений центральной Европейской России составляют виды мезоксерофитных и мезогигрофитных лугов, более 15% составляют виды обводненных, внутриводных местообитаний и низинных болот (Оценка..., 2000 табл. 2.4). Это означает, что более 65% флоры сосудистых растений центра России приурочены к местообитаниям, поддержание которых до активных антропогенных воздействий было связано с жизнедеятельностью крупных стадных копытных (зубров, туров, тарпанов) и бобра (см. Смирнова, 1998). Следовательно, на изучаемой территории наряду с лесами из поздне-сукцессионных видов деревьев с выраженной оконной мозаикой и мозаично-ярусной структурой присутствовали зоогенные поляны, заливные луга, места восстановления лесной растительности после нарушений, представленные пионерными сообществами. Именно такой облик живого покрова, в который «помещаются» все виды региональной флоры, хорошо согласуется с идеями, развиваемыми современными концепциями мозаично-циклической организации экосистем и ключевых видов, объединенными представлениями о популяционной организации сообществ и экосистем (см. Смирнова, Торопова, 2008). Именно такой живой покров, существовавший до начала активных антропогенных воздействий, в полной мере соответствует понятию «потенциальный лесной покров» и его следует отличать от «восстановленного лесного покрова», который может сформироваться в настоящее время при условии прекращения антропогенных воздействий (Смирнова, 2004; Смирнова и др., 2006). Традиционное природопользование (подсека, палы, распашки, рубки, выпас домашнего скота и др.) вместе с активным охотничьим промыслом постепенно трансформировали живой покров Восточной Европы и привели к существенному изменению структуры растительности лесной зоны еще до начала активного индустриального освоения этой территории (Смирнова и др.,

2001). Современную «позицию» растительного покрова лесной зоны Европейской России определяют в основном воздействия XIX-XX вв., среди которых наиболее крупными являются: широкомасштабные рубки лесов, лесные пожары, создание лесных культур, массовые ветровалы первых поколений древостоя (как правило, одновидовых и одновозрастных, выросших на месте пашен XVIII-XIX веков). Спонтанная динамика биологического разнообразия большинства современных лесных экосистем определяется протекающими в них сукцессионными процессами и зависит как от экотопических и ландшафтных особенностей локальных территорий, так и от ценотического окружения, поставляющего зачатки растений, необходимые для восстановления растительного покрова. Динамику биоразнообразия растительности при наличии тех или иных воздействий (рубок, посадок, пожаров, глобальных изменений климата, азотных выпадений и т.п.) можно рассматривать как суперпозицию спонтанной динамики растительности и последствий соответствующих воздействий.

Следует отметить, что понимание растительного покрова как объекта, постоянно находящегося в неравновесном состоянии, параметры которого зависят не только от биологических свойств видов растений, свойств экотопа и климата, но и от прошлых экзогенных воздействий и ценотического окружения, это понимание является приобретением последних 20 лет. Задачи сохранения биологического разнообразия Земли были осознаны человечеством в эти же десятилетия. В связи с этим трудно переоценить число задач, стоящих перед современной наукой, перед экологией и наукой о растительности. Помимо переосмысления накопленной информации о структуре и функционировании живого покрова можно отметить задачи расселения видов, восстановления их ареалов, вопросы зарастания брошенных сельскохозяйственных земель, исследование роли естественных нарушений различного вида (зоогенных и фитогенных) в процессах сукцессионной динамики растительности, в динамике видового и экосистемного разнообразия. В эпоху глобальных изменений также важен всесторонний анализ и прогноз последствий внешних воздействий (пожаров, глобального изменения климата, азотных выпадений и т.п.) на динамику биологического разнообразия.

Список литературы:

- Мэгарран Э. Экологическое разнообразие и его измерение. М.: Мир. 1992. 184 с.
- Оценка и сохранение биоразнообразия лесного покрова в заповедниках Европейской России. (под ред. Л.Б.Заугольной). М.: Научный мир. 2000. 185 с.
- Смирнова О.В. Структура травяного покрова широколиственных лесов. М.: Наука, 1987. 206 с.
- Смирнова О.В. Популяционная организация биоценотического покрова лесных ландшафтов // Успехи соврем. биологии. 1998, Т. 118. Вып. 2. С.148-165.
- Смирнова О.В. Методологические подходы и методы оценки климаксового и сукцессионного состояния лесных экосистем (на примере восточноевропейских лесов) // Лесоведение. 2004. № 3. С. 15-27.
- Смирнова О.В., Торопова Н.А. Сукцессия и климакс как экосистемный процесс // Успехи современной биологии. 2008. Т. 128. № 2. С. 129-144.
- Смирнова О.В., Турубанова С.А.; Бобровский М.В., Коротков В.Н., Ханина Л.Г. Реконструкция истории лесного пояса Восточной Европы и проблема поддержания биологического разнообразия // Успехи современной биологии. 2001. Т. 121. № 2. С. 144-159.
- Смирнова О.В., Бакун Е.Ю., Турубанова С.А. Представление о потенциальном и восстановленном растительном покрове лесного пояса Восточной Европы // Лесоведение. 2006. № 1. С. 22-33.
- Чернов Ю.И. Биологическое разнообразие: сущность и проблемы// Успехи совр. биол. 1991. Т. 11, вып. 4. С. 499-507.
- Anderson M.J., Ellingsen K.E., McArdle B.H. Multivariate dispersion as a measure of beta diversity. *Ecology Letters*. 2006. 9(6), 683–693.
- Heywood V.H. (ed.) *Global biodiversity assessment*. Cambridge Univ.Press. Cambridge. 1995. 1140 p.
- Hurlbert S.H. The non-concept of species diversity: a critique and alternative parameters // *Ecology*. 1971. V. 52. P. 577-586.
- Smirnova O., Zaugol'nova L., Khanina L., Braslavskaya T., Glukhova E. FORUS - database on geobotanic relevés of European Russian forests // Математическая биология и биоинформатика: I Международная конференция, г. Пушчино, 9-15 октября 2006 г.: Доклады / Под ред. В.Д.Лахно. М.: МАКС Пресс. 2006. С. 150-151.
- van der Maarel E. *Biodiversity: from babel to biosphere management*. Opulus Press. Uppsala, Leiden. 1997. 60 p.
- Whittaker R.H. *Vegetation of the Siskiyou Mountains, Oregon and California* // *Ecol. Monogr.*, 1960. V. 30. N 3. P. 279-338.

Whittaker R.H. Evolution and measurement of species diversity // Taxon, 1972. V. 21. N 2-3. P. 213-251.

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ОСЕТРОВОДСТВА И ПУТИ СОХРАНЕНИЯ БИОРАЗНООБРАЗИЯ ОСЕТРОВЫХ РЫБ В КРАСНОДАРСКОМ КРАЕ

Кулаева Е.Н., Мазурова С.С.

Департамент сельского хозяйства и перерабатывающей промышленности
Краснодарского края, Краснодар (Россия)

E-mail: *k_mursikr@mail.ru*

В Краснодарском крае находятся четыре специализированных воспроизводственных предприятия. Их проектная мощность составляет 14,5 млн. шт. молоди осетровых рыб. В полном объеме производственные мощности в последние годы не задействованы. Основная проблема – недостаточное количество производителей, заготовка которых в Азовском море не может обеспечить потребности предприятий (за последние три года выловлено 65 экземпляров).

Ежегодно производится выпуск молоди осетровых рыб в естественную среду. Средняя нормативная масса выпускаемых сеголеток составляет 1,5-3,0 г. В 2009 году произведен экспериментальный выпуск молоди укрупненной навески (сеголетки русского осетра – 135 г, стерляди – 164 г и двухлетки севрюги – 500 г). Ученые ФГУП АЗНИИРХ считают, что при выпуске молоди повышенных навесок их выживаемость увеличивается с 0,4% до 50%. Для достижения подобного эффекта можно выпускать молодь в адаптационные водоемы с оптимальными условиями для ее выживаемости.

За последние три года наблюдается положительная динамика производства товарных осетровых рыб в прудовых хозяйствах края: с 1 т (2008 г) до 66,54 т. (2010 г). Однако доля выращиваемых осетровых рыб крайне мала, например в 2010 году - 0,6% от общего объема выращенной в прудах товарной рыбы.

Для решения вопроса сохранения биоразнообразия осетровых рыб в водоемах Краснодарского края возможно:

- формирование генетической коллекции внутривидовых групп осетровых рыб Азовской популяции;
- выделение адаптационных водоемов для выпускаемой в естественную среду молоди;
- реализация целевых программ, направленных на поддержку осетроводства.

В настоящее время на территории Краснодарского края осуществляется программа «Сохранение видов и стабилизация численности водных биологических ресурсов на территории Краснодарского края» на 2009-2011 годы». Ее целями являются сохранение генофонда ценных рыб в бассейне Азовского моря, улучшение экологической ситуации. С помощью данной программы решается одна из важнейших задач – поддержка хозяйств в формировании маточных стад осетровых рыб.

ВЫБОР ИНФОРМАТИВНЫХ КРИТЕРИЕВ ПРИ ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО РАДИАЦИОННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

Союзова Е.Ю., Новикова Д. А.

Обнинский институт атомной энергетики Национального исследовательского ядерного университета «МИФИ», Обнинск (Россия)

E-mail: *souz93@mail.ru*

Референтный организм служит исходной точкой для отсчетов при оценке риска экосистемы для организмов с аналогичным жизненным циклом и параметрами облучения.

Целью работы был выбор референтных видов и определение информативных критериев для оценки экологического состояния водоема в условиях длительного радиационного загрязнения.

Для выбора и оценки состояния референтных видов использовались пробы макрозообентоса, отобранные на малых реках Ярославской и Калужской областей в июле 2010

года. Река Вытебеть на территории Калужской области протекает в зоне радиоактивного следа, образовавшегося в результате аварии на Чернобыльской АЭС.

Точки отбора проб рек Ярославской области были выбраны в качестве фоновых территорий.

Доминантными видами в реках контрольной зоны являются *Hydrachna geographica* и личинка *Chironomus plumosus*. Индикаторные таксоны *Anabolia nervosa* и *Polymitarcys virgo* (личинки) являются доминантами или субдоминантами в точках контрольной зоны, их встречаемость составляет от 57 до 71%.

В зоне радиоактивного загрязнения доминирующими видами являются *Pisidium amnicum* и личинка *Calopteryx virgo*. Личинки *Polymitarcys virgo* и *Notonecta glauca* представлены во всех точках пробоотбора, встречаемость их меняется от 10 до 50%. Среди индикаторных видов в качестве референтных можно рассматривать виды *Anabolia nervosa*, *Herpobdella octoculata*, личинки *Aeschna grandis*, встречаемость которых меняется от 10 до 30%.

Выбранные виды соответствуют большинству критериев, предъявляемых к референтным видам: являются типичными представителями фауны экосистемы; служат индикаторами рассматриваемого загрязнения; являются многочисленными видами, обладают расширенным географическим ареалом.

Таким образом, в зоне хронического радиационного загрязнения водных экосистем выбор референтных видов целесообразно начать с изучения их встречаемости и устойчивости, определения доминантных видов. Дальнейшее исследование направлено на изучение зависимости морфометрических и физиологических показателей от полученной дозы радиации.

Работа выполнена в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 годы.

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПУТИ СОХРАНЕНИЯ БИОРАЗНООБРАЗИЯ ОСЕТРОВЫХ РЫБ В ВОДОЕМАХ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ

Мазурова С.С., Кулаева Е.Н.

Департамент сельского хозяйства и перерабатывающей промышленности
Краснодарского края, Краснодар (Россия)

E-mail: mazurova_cc@mail.ru

Осетровые – национальное богатство России. За последние 100 лет численность осетровых и их промысел значительно уменьшились, а уже к сороковым годам прошлого века 90% мирового запаса осетровых - белуга, калуга, осетр, севрюга, стерлядь – сохранились главным образом в бассейнах южных морей (Каспийско-Волжский, Азово-Черноморский бассейны).

Одной из главных причин снижения запасов явилось зарегулирование стока нерестовых рек, а также загрязнение водоемов. С целью компенсации этого ущерба были разработаны методы искусственного воспроизводства осетровых, построены мощные осетровые заводы, которые ежегодно выпускают в моря и реки молодь осетровых видов рыб стандартной массы.

Компенсировать снижение уловов осетровых в морях можно и другим, более быстрым способом - путем интенсивного выращивания осетровых в прудах, садках, бассейнах, то есть в условиях аквакультуры, а также путем акклиматизации их в водохранилищах и других внутренних водоемах.

На территории Краснодарского края воспроизводством осетровых занимаются 4 осетровых рыбободных завода (ОРЗ): Темрюкский, Гривенский, Ачуевский и Кубанский, а также ООО «Кубанский осетр» и южный филиал ФГУП «Федеральный селекционно-генетический центр рыбободства».

Проектная мощность заводов - 14,5 млн. шт. молоди осетровых рыб. Однако в полном объеме производственные мощности в последние годы не задействованы.

Основная проблема осетровых заводов – недостаточное количество производителей осетровых рыб. Заготовка производителей, осуществляемая весной и осенью в Азовском море, не может обеспечить потребности предприятий в связи с крайне незначительными уловами, особенно самок. Экономическая и социальная нестабильность нарушают работу ОРЗ, что незамедлительно сказывается на выпуске молоди.

В настоящее время на ряде заводов, прежде всего на ФГУП «Темрюкский осетровый рыболовный завод» идет формирование искусственных ремонтно-маточных стад.

В сложившейся ситуации с обеспеченностью рыболовных предприятий производителями в оптимальном для пополнения популяции видовом соотношении не вызывает сомнения в необходимости формирования в контролируемых условиях резервных маточных стад осетровых рыб всех видов и мигрантов. Использование собственных производственных стад призвано решать задачу сохранения биологического разнообразия осетровых и гарантированного обеспечения воспроизводства осетровых в естественных водоёмах.

Формирование ремонтно-маточных стад (РМС) осетровых ведется в основном двумя методами: первый - выращивание производителей в искусственных условиях от икры до половозрелого состояния и второй - «доместикация» или одомашнивание диких производителей, выловленных в реке или море, путём адаптации их к искусственным условиям содержания.

Для сохранения генофонда осетровых видов рыб Азово-Черноморского бассейна в Краснодарском крае создаются стада из русского осетра, белуги, севрюги, шипа, стерляди, а для коммерческих целей - русского и сибирского осетра, белуги, стерляди, гибридных форм и веслоноса.

Для повышения результативности искусственного воспроизводства необходимо совершенствовать существующую биотехнологию на основе последних достижений рыбохозяйственной науки. В частности, предлагается увеличение массы выпускаемой молоди и оптимизированное размещение молоди в наиболее кормных и безопасных местах их нагула путем вывоза в места обитания.

Таким образом, запасы осетровых начинают восстанавливаться.

Для развития осетроводства в России и на Кубани необходимо проведение следующих воспроизводственных мероприятий: вылов «диких» осетровых рыб, их доместикация, получение потомства, выращивание молоди для выпуска в естественные водоёмы и создание генетически чистых ремонтно-маточных стад с параллельным производством товарной рыбы и икры.

ВЛИЯНИЕ КЛИМАТИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ НА ОБЛИК *GALIUM GLAUCUM* L. СЕЙЧАС И В НЕДАВНЕМ ПРОШЛОМ

Борисюк А.А.

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова,
биологический факультет, Москва (Россия)

E-mail: galium@yandex.ru

Подмаренники группы видов *Galium glaucum* L. распространены в степной зоне Европы и Северного Казахстана. Эти растения встречаются от Пиренейского полуострова на западе до Южного Урала и Тургайского плато на востоке. Часто они играют заметную роль в сообществах луговых и сухих каменистых степей, могут заходить в леса.

Нами исследована морфологическая изменчивость выборок из природных популяций, собранных в разных районах Крыма, черноморского побережья Кавказа, Волгоградской и Ростовской областей, материалы из гербариев Московского Университета и Главного Ботанического Сада РАН. В выборе морфологических признаков для анализа руководствовались списком признаков, традиционно используемых в систематике этой группы. Кроме того, учитывали тип субстрата, на котором росли образцы. Влияние климата оценивали через гидротермический коэффициент Селянинова и вероятность наступления опасной атмосферной засухи.

Анализ данных в программе Statistica 6.0 показал сложную структуру изменчивости признаков подмаренников группы видов *Galium glaucum* L. На облик этих растений оказывают сильное влияние современные климатические условия, по сравнению с которыми географическая изменчивость менее выражена.

На протяжении XX века в европейской России несколько раз сменяли друг друга более засушливые и менее засушливые периоды. Для оценки влияния таких изменений были проанализированы морфологические признаки растений, собранных в излучине Дона

(Волгоградская область). В анализ были включены гербарные материалы, собранные в период с 1938 по 2009 годы.

Растения, собранные в периоды со сходными климатическими показателями по некоторым морфометрическим признакам обладали большим сходством, несмотря на существенную разницу во времени сбора, тогда как более близкие по времени сбора выборки могли различаться. Важно отметить, что часть признаков вела себя иначе: кроме изменчивости, связанной с климатическими показателями, существует изменчивость, связанная с годом сбора.

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ВОДНЫХ МАКРОФИТОВ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО РАДИАЦИОННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

Сотникова Н.А., Назарова Е.С., Рассказова М.М.

Обнинский институт атомной энергетики Национального исследовательского ядерного университета «МИФИ», Обнинск (Россия)

E-mail: tk32167@yandex.ru

Количество адсорбированных радионуклидов в водных макрофитах может служить показателем состояния экосистемы в целом. Хроническое радиационное загрязнение приводит к изменению видового разнообразия и, как следствие, к снижению устойчивости экосистемы. Целью работы было выявление референтных видов водных макрофитов и оценка их состояния в условиях длительного радиационного загрязнения.

Исследования проводились в Калужской области на р. Вытебеть в зоне радиоактивного следа ЧАЭС.

Гидрботанические описания проводились по стандартной методике В.М. Катанской. Отдельные экземпляры высшей водной растительности отобраны для определения удельной активности ^{137}Cs , которое проводилось в лаборатории радиационного контроля ГНУ ВНИИСХРАЭ методом гамма-спектрометрии.

На исследуемом участке р. Вытебеть протяженностью около 50 км было описано 28 видов высших сосудистых растений из 17 семейств. Основными ценозообразователями являются *Batrachium kauffmannii*, *Sparganium erectum*. Жизненность многих сопутствующих видов заметно снижена, обилие их произрастания в формациях варьирует от 2 до 30%, однако встречаемость отдельных видов (*Potamogeton perfoliatus* L., *Lemna minor* L.) достигает 40-70%. Уровни накопления ^{137}Cs достоверно выше в 2,2 – 2,7 раза для видов *Potamogeton pectinatus* L. и *Batrachium kauffmannii* (Clerc) V. Krecz. в точках, оказавшихся в зоне выпадения радиоактивных осадков вследствие аварии на ЧАЭС, чем показатели удельной радиоактивности тех же видов, отобранных в реке Вытебеть в точках, расположенных ниже по течению.

Учитывая индикаторные свойства и способность к накоплению радиоактивных элементов в качестве референтных видов можно рассматривать *Potamogeton perfoliatus* L., *Lemna minor*. К установленным видам высшим водным растениям, аккумулирующим радионуклиды можно отнести *Potamogeton pectinatus* L., *Batrachium kauffmannii*, *Sparganium erectum*, которые в свою очередь достаточно устойчивы к радионуклидному загрязнению.

Работа выполнена в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 годы.

УМЕНЬШЕНИЕ ПОДВИЖНОСТИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ИЗБЫТОЧНОМ АКТИВНОМ ИЛЕ

Нечаев А.И., Вольхин В.В.

Пермский государственный технический университет, Пермь (Россия)

E-mail: toxambj@mail.ru

Распространение экономичного метода очистки сточных вод от антропогенных токсикантов привело к возникновению экологической проблемы – необходимости поиска методов обезвреживания избыточных илов от тяжелых металлов. Проблема разработки научных основ обезвреживания избыточного ила связана с тем, что ил представляет собой

многокомпонентную гидрофильную высококонцентрированную суспензию сложного состава, что затрудняет изучение закономерностей сорбции и десорбции тяжелых металлов биомассой активного ила.

В данной работе исследовались механизмы аккумуляции тяжелых металлов (Zn^{2+} и Pb^{2+}) активным илом и механизмы сорбции этих металлов магнийаммонийфосфатом (МАФ).

В качестве объекта исследования выбрана культура микроорганизмов выделенная из избыточного активного ила. Определено влияние исходной концентрации тяжелых металлов в среде на кинетику роста. Токсичный эффект не оказывает сильного влияния на микроорганизмы при исходной концентрации металлов Zn^{2+} и Pb^{2+} до 500 мг/л. Для определения распределения тяжелых металлов между водной фазой, поверхностью клеток и внутриклеточным пространством использовался метод химического фазового анализа, включающий последовательное элюирование металлов и их определение во фракциях атомно-абсорбционной спектрометрией. Разницу в распределении металлов можно объяснить большей биологической активностью ионов Zn^{2+} , участвующих во многих метаболических реакциях. В качестве сорбента использован магнийаммонийфосфат $MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$, структура типа струвита.

Из полученных данных можно сделать вывод, что ионы металлов, находившиеся в свободном состоянии в водной фазе, практически полностью переходят в малорастворимые соединения фосфатов. Малая растворимость фосфатов вносит основной эффект в стабилизацию этих металлов в избыточном иле. Определена концентрация подвижных форм металлов, способных мигрировать в растения. После внесения в систему МАФ концентрация данной формы металлов составила 0,1% от общего числа внесенного количества ионов металлов. Таким образом, внесение МАФ в суспензию избыточного активного ила снижает долю металлов, находящихся в подвижной форме.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЫ РАСТИТЕЛЬНОГО ПОКРОВА НА МЕСТЕ МАССОВЫХ ВЕТРОВАЛОВ КОСТРОМСКОЙ ОБЛАСТИ

Петухов И.Н.

Костромской государственной университет им. Н.А.Некрасова, Кострома (Россия)

E-mail: xen8787@mail.ru

Известно, что массовые ветровалы являются одним из факторов формирования растительного покрова, приводят к нарушениям растительных сообществ, влияя на ход сукцессионных процессов. В практике ведения лесного хозяйства мониторинг массовых ветровалов не входит в программу обязательной таксации лесного фонда. Исследование ветровалов актуально для разработки методов мониторинга естественных катастрофических нарушений растительного покрова. Нами разрабатываются подходы к интерпретации дешифрирования космических снимков для участков массовых ветровалов на основе данных таксации.

Цель работы: Изучение нарушенных ветром участков растительного покрова на основе данных дистанционного зондирования земли (ДЗЗ) на территории Костромской и соседних областей.

Поиск и выделение ветровалов, осуществлялись в программе Quantum GIS по космическим снимкам серии Landsat, сенсор TM+, разрешением 30 метров/пиксел. Всего выделено, датировано и проанализировано 19 массовых ветровалов на территории Костромской, Ярославской, Вологодской, Нижегородской, Кировской областей.

В ходе выполнения работы была составлена картосхема массовых ветровалов за период 1999-2010 г. Определена площадь, размеры, форма фрагментов ветровалов.

Выявлено и классифицировано несколько вариантов пространственной структуры ветровальных нарушений растительного покрова: а – равномерно дискретное, б – компактно дискретное, в – сплошное. По космическим снимкам изображения ветровала установлены признаки, характеризующие направление ветра в момент ветровала.

Определена приуроченность одного из изучаемых ветровалов к формам рельефа и открытым пространствам. Максимальная степень повреждения зафиксирована на всех вершинах холмов с абсолютными высотами 170 м.

Таким образом, выявление пространственной структуры ветровалов позволяет устанавливать зависимость степени повреждения от особенностей состава и структуры участков растительного покрова, также направление и ход восстановительных сукцессий. Выяснили, что ветровальные нарушения растительного покрова дифференцированы в пространстве по степени нарушения в зависимости от приуроченности к различным формам рельефа.

КОМПЛЕКСНОЕ БИОТЕСТИРОВАНИЕ ПОЧВ ГОРОДА САРАТОВА

Трояновская Е.С., Юдина Ю.В., Абросимова О.В.

Саратовский государственный технический университет, Саратов (Россия)

E-mail: ecology.saratov@gmail.com

Целью работы была оценка токсичности почв города Саратова с использованием разных биотест-объектов, имеющих неодинаковую чувствительность к экотоксикантам: *Chlorella vulgaris*, *Lemna minor* и *Raphanus sativus*. Отбор проб проводили в июне 2010 г. в 31 точке, имеющих строгую картографическую привязку к наиболее напряженным участкам городской территории: вдоль дорог, на пересечении главных автомагистралей, вблизи промышленных предприятий, железнодорожного полотна, в селитебных районах старой и новой застройки. В качестве контроля использовали лесопарковую территорию дома отдыха «Ударник», находящегося в 3 км от г. Саратова. Проводили оценку токсичности почвенных вытяжек по стандартным методикам.

Более чувствительным тест-объектом при оценке токсичности почв оказалась *L. minor*: в 70% проб отмечена 100% гибель особей. Слабое токсическое воздействие на этот тест-объект отмечено в пробах, собранных в пешеходных и зеленых зонах города.

При использовании *C. vulgaris* в качестве тест-объекта наиболее токсичными оказались пробы, отобранные вблизи промышленных предприятий и железнодорожного полотна. Высокотоксичными были пробы, собранные вблизи автомагистралей Фрунзенского района. В пешеходных зонах центральных улиц и жилых массивов г. Саратова пробы почвы были нетоксичными.

При оценке токсичности почв по всхожести *R. sativus* токсичных и высокотоксичных проб не выявлено: отмечено незначительное подавление роста тест-объекта: в пробах, собранных вблизи автомагистралей.

Таким образом, использование нескольких тест-объектов с разной степенью чувствительности к экотоксикантам позволяет наиболее полно оценить токсичность почв и прогнозировать изменение экологической ситуации на конкретных участках промышленных территорий.

К ХАРАКТЕРИСТИКЕ НОВОГО ВИДА ДРОКА С КАМЕНИСТЫХ ОБНАЖЕНИЙ СРЕДНЕГО ДОНА В ВОЛГОГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

Бурим О.О.

Волгоградский государственный университет, Волгоград (Россия)

E-mail: falinata@rambler.ru

В ходе флористических изысканий последнего времени было выявлено, что на каменистых обнажениях в Донской излучине произрастает особый представитель рода Дрок (*Genista* L., *Fabaceae*), который не может быть отнесен ни к одному из видов этого рода. Об этом свидетельствуют особая экология, более ранняя фенология и комплекс специфических морфологических признаков.

Проведён сравнительный анализ нового вида с видами, наиболее близкими к нему с точки зрения морфологии: от близкого *Genista tanaitica* P. Smirn. исследованный новый вид хорошо отличается несуккулентными и опушёнными листьями, а также иной формой флага, крыльев и

лодочки, от псаммофильного *Genista tinctoria* L. – более мелкими цветками и более мелкими и тонкими листьями, от кавказского *Genista patula* Vieb., с которым его ранее смешивали, – иной формой флага, крыльев и лодочки, а также более узкими листьями и более мелкими бобами. Наиболее характерными для нового вида дрока являются признаки цветка – форма и размеры флага, крыльев и лодочки.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о произрастании на территории Волгоградской области совершенно нового вида растения.

НОВЫЕ, НЕДАВНО ОПИСАННЫЕ ВИДЫ РАСТЕНИЙ ИЗ БУКАНТАУ (КЫЗЫЛКУМ)

Серекеева Г.А.

Научно-производственный центр «Ботаника» АН РУз, Ташкент (Узбекистан)

E-mail: *serekeeva-gulaiym@mail.ru*

Пустыня Кызылкум расположена в междуречье великих среднеазиатских рек Амударья и Сырдарья на площади более 300 000 кв.км. Наряду с имеющимися солончаковыми впадинами, Кызылкум характеризуется наличием 18 низкогорных останцовых меридиональных хребтов. Одним из наиболее высоких среди них является Букантау (764 м.), расположенный на севере Кызылкума и сложенный сильно дислоцированными и метаморфизованными палеозойскими сланцами. На основании многолетних флористических исследований по всему Кызылкуму, нами был составлен предварительный список флоры, которая складывается не менее чем 1050 видами, относящимися к 404 родам и 79 семействам. Флористическое богатство самого протяженного и близкого к Нуратау хребта Кульджуктау оценивается примерно в 480 видов. Флора 2 других обследованных останцов Букантау и Султануиздаг оценивается примерно в 350 и 390 видов соответственно. Последние интереснейшие находки горносреднеазиатских по своему генезису видов на останцах явились основой для проведения данного флорогенетического анализа. Недавно описанный из Букантау- *Convolvulus afanassievii* Luferov близок к южно-памироалайскому *C. tujuntauensis* Kinzik. Еще один недавно описанный эндемик - *Gagea deserticola* Levichev произрастает на черных сланцах южнее Учкудука. Здесь же был собран и описан еще один эндемик - *A. rinae* F. O. Khass., Shomuradov et Tojibaev) из родства широко распространенного туранского вида – *A. borszczowii* Regel. Очень интересное родство показывает недавно описанный нами эндемичный вид *Scrophularia rudolfii* F. O. Khass., Serekeeva et Kadyrov, близкий к ирано-туранскому *S. leucoclada* Bunge. В целом, флору Букантау можно считать пустынной с элементами некогда горносреднеазиатских по генезису флор, которые в настоящее время практически вытеснены псаммофитными и галофитными группировками.

FERULA SYREITSCHIKOWII KOSO-POL. НА ГИПСОВОЙ ПУСТЫНЕ КАРАКАЛПАКСКОЙ ЧАСТИ УСТЮРТА

Тажетдинова Д.М.

Научно-производственной центр «Ботаника» АН РУз, Ташкент (Узбекистан)

E-mail: *dilarom.tajetdinova@yahoo.com*

Ферула (*Ferula* L.), являясь одним из крупных родов, относится к семейству зонтичные (*Umbelliferae* Moris.). Его виды, в основном, распространены в районах умеренного климата северного полушария. Известно, что 104 вида ферулы произрастают в Средней Азии.

По литературным данным и изученным гербарным материалам выяснено, что на территории Каракалпакской части Устюрта произрастает 5 видов (*F. foetida* (Bunge) Regel., *F. lehmannii* Boiss., *F. dubjanskyi* Korov. ex Pavl., *F. caspica* Vieb., *F. canescens* (Ledeb.) Ledeb.) ферулы.

Во время научной экспедиционной поездки (2009-2010 гг.) на Каракалпакской части плато Устюрта (Белеули) мы нашли один экземпляр *Ferula syreitschikowii* Koso-Pol.

Ferula syreitschikowii Koso-Pol. – ферула Сырейщикова. Многолетнее травянистое растение, монокарпик, 20-30 см высотой. Цветет в мае, плодоносит в июнь-июле. Встречается очень редко на гипсовой пустыне Каракалпакской части плато Устюрта.

Ferula syreitschikowii Koso-Pol. является кормовым, лекарственным, алкалоидным растением. В связи с этим возникает необходимость дальнейшего изучения биоэкологических особенностей этого вида с охранной целью.

СВЯЗЬ ВЫСОТЫ РАСТЕНИЙ С ЭКОЛОГО-МОРФОЛОГИЧЕСКИМИ ПАРАМЕТРАМИ ИХ ЛИСТЬЕВ В ТИПИЧНЫХ СООБЩЕСТВАХ АЛЬПИЙСКИХ ЛУГОВ

Богатырев В.А.

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва (Россия)

E-mail: vasilb@inbox.ru

В нашей работе мы рассмотрели связь высоты альпийских растений с эколого-морфологическими параметрами листьев.

Полевые исследования проводили на высокогорном стационаре М. Хатипара. Объектом исследования были выбраны наиболее характерные альпийские сообщества Тебердинского заповедника: альпийская лишайниковая пустошь (АЛП), пестроовсянищевый луг (ПЛ), гераниево-копеечниковый луг (ГКЛ), альпийский ковер (АК). Данные по высоте растений были получены в локальных точках по 1000 в каждом сообществе с помощью модернизированного прибора Леви. Анализировали только данные по сосудистым растениям, имеющим больше 10 касаний (1% выборки).

Для сравнения с высотой растений были выбраны сухая и сырая масса листа, его площадь, содержание воды, удельная листовая поверхность и толщина листьев.

На АЛП с высотой растений положительно коррелирует удельная листовая поверхность листа, т.е. более высокие растения имеют более тонкие («дешевые») листья.

На ПЛ отмечена отрицательная корреляция средней и максимальной высоты растений с содержанием воды в листьях. Это свидетельствует, что на ПЛ более высокие имеют меньшую оводненность листьев.

ГКЛ характеризуются более богатым спектром коррелирующих параметров. Сухая и сырая массы листа положительно скоррелированы со средней высотой и максимальной высотой растений. И площадь листа положительно скоррелирована со средней высотой растений. Следовательно, чем выше растение в данном фитоценозе, тем больше у него будут листья.

На АК толщина листьев отрицательно коррелирует с максимальной высотой, из чего следует, что более высокие растения имеют более тонкие листья.

Таким образом, эколого-морфологические параметры листьев растений по-разному связаны с вертикальной структурой изученных сообществ, для каждого сообщества выявлены свои связи, поэтому можно предположить различные механизмы формирования вертикальной структуры альпийских сообществ разных типов.

РЕДКИЕ ВИДЫ ОДНОДОЛЬНЫХ ГЕОФИТОВ ФЕРГАНСКОЙ ДОЛИНЫ

Каримов Ф.И.

Научно-производственный центр «Ботаника» АН РУз, Ташкент (Узбекистан)

E-mail: far19780806@mail.ru

В рамках реинвентаризационных исследований флоры Узбекистана проводится изучение однодольных геофитов флоры Ферганской долины (Узбекистан, Кыргызстан, Таджикистан) с точечным картированием популяций и составлением электронных баз данных. Согласно данным наших полевых исследований и анализа существующего материала вся флора Ферганской долины насчитывает 154 вида однодольных геофитов. Из них 102 вида произрастают на территории Узбекистана.

Нарастающий антропогенный фактор (освоение горных территорий, выпас скота, сбор цветов и лукович и др.) существенно отражается не только и численности особей и площади

популяций, но и на видовом составе геофитов отдельных локальных флор. Поэтому было уделено особое внимание изучению и длительному мониторингу популяций редких видов. Согласно данным Красной книги Узбекистана (2006) из 102 видов-геофитов узбекистанской части Ферганской долины 19 видов являются редкими.

Кроме того, несколько видов впервые были описаны недавно, и состояние популяций этих видов изучено недостаточно. К числу таких видов можно отнести эндемиков Ферганской долины с узким распространением - *Allium adylovii* Tojibaev, R.M. Fritsch, F.O. Khass. ined., *A. chorkessaricum* F.O. Khass. et Tojibaev, *A. kuramense* F.O. Khass. et Friesen, *A. haneltii* F.O. Khass. et R.M. Fritsch, *A. michaelis* F.O. Khass. et Tojibaev, *A. orunbaii* F.O. Khass. et R.M. Fritsch, *A. scharobitdinii* F.O. Khass. et Tojibaev, *Tulipa scharipovii* Tojibaev. 36 видов (23,5% от всех геофитов), в основном из сем. *Alliaceae*, являются эндемиками Ферганской долины. 8 видов имеют ирридации в соседних флорах, в основном бассейне реки Ахангаран. Все существующие данные, включая новые местонахождения популяций, были внесены в базу данных.

ВЛИЯНИЕ ЭКОТОКСИКАНТОВ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ ТЕСТ-ОБЪЕКТЫ

Забродина З.А., Чемаркин Д.А.

Саратовский государственный технический университет, Саратов (Россия)

E-mail: zabrodinaza@rambler.ru

В настоящее время в связи с всевозрастающим увеличением уровня загрязнения окружающей среды особый интерес представляет исследование эффектов действия «сверхмалых доз» биологически активных веществ различного происхождения.

Основной целью нашего исследования являлось изучение эффектов воздействия низких концентраций экотоксикантов на живые организмы.

Для исследования нами было выбрано два химических соединения различной природы: никотин и формальдегид, которые являются одними из наиболее распространенных загрязнителей атмосферного воздуха и воздушной среды современного жилища. В качестве организмов-биоиндикаторов нами были выбраны высшие водные растения *Lemna minor* и *Elodea canadensis* и ракообразные *Daphnia magna*.

Изучено воздействие никотина в диапазоне концентраций от 10^{-5} до 10^{-15} моль/л. Показано, что водные растворы никотина в исследуемых концентрациях оказали негативное влияние на рост и развитие ряски и элодеи, причем относительно высокие концентрации ингибировали ростовые процессы растений, а низкие концентрации, наоборот, стимулировали прирост. Изменение численности дафний в исследуемых концентрациях никотина происходило неодинаково. Наиболее заметно эффект подавления плодовитости проявляла концентрация 10^{-12} моль/л.

При изучении влияния формальдегида в диапазоне концентраций от $1,33 \times 10^{-8}$ до $1,33 \times 10^{-16}$ моль/л было установлено, что большинство концентраций формальдегида из изучаемого диапазона отрицательно влияли на ростовые функции ряски и элодеи, но стимулировали увеличение биомассы. При изучении влияния формальдегида на животный объект *Daphnia magna*, нами было зафиксировано отрицательное воздействие исследуемого диапазона концентраций на выживаемость и плодовитость дафний.

Таким образом, наши исследования показали, что низкие концентрации никотина и формальдегида в целом отрицательно влияют на биологические тест-системы. Полученные результаты могут найти практическое применение при разработке тест-систем для определения низких концентраций биологически активных веществ и при поиске веществ и средств, повышающих адаптационные возможности организма.

ПАСПОРТИЗАЦИЯ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ПЧЕЛ ПРИ ПОМОЩИ АНАЛИЗА МИКРОСАТЕЛИТНЫХ ЛОКУСОВ (STR)

Калашников А.Е.¹, Бородачев А.В.², Кривцов Н.И.², Удина И.Г.¹

¹Учреждение Российской академии наук Институт общей генетики

им. Н.И.Вавилова РАН, Москва (Россия)

²Государственное научное учреждение Научно-исследовательский институт пчеловодства Российской академии сельскохозяйственных наук, Рыбное (Россия)

E-mail: *aekalashnikov@yandex.ru*

Сохранение генофондов отечественных популяций пчел - это важная проблема в современном пчеловодстве (Кривцов и др., 2010). Неконтролируемая межпородная гибридизация популяций пчел может приводить к снижению продуктивности, зимостойкости и снижению устойчивости к болезням и вредителям (Салтыкова и др., 2005). На территории России сохранились резервы ценного генофонда *Apis mellifera mellifera*, которые можно использовать для селекции и для восстановления популяций этого подвида там, где они были утрачены (Кривцов, 2008; Колбина, Непейвода, 2009). Высокая продуктивность пчелиных семей достигается в результате чистопородного разведения с учётом свойственного каждой породе пчёл комплекса экстерьерных и хозяйственно-полезных признаков (Салтыкова и др., 2007; Кривцов, 2008; Беньковская и др., 2007).

Для сохранения биологического разнообразия пчел необходима надежная характеристика генетического разнообразия отечественных популяций пчел и паспортизация существующих отечественных пород при помощи современных молекулярно-генетических методов таких, как анализ полиморфизма мтДНК и варибельности микросателлитов (STR).

Нами проведено генотипирование пород пчел отечественной селекции. В популяциях карпатской породы, среднерусской, кавказской и ряде гибридных популяций изучена варибельность четырех микросателлитных маркеров (A24, A28, A88 и A14): определена частота встречаемости аллельных вариантов и генотипов, оценен уровень гетерозиготности изученных микросателлитных локусов. Все исследованные породы отличаются по уровню гетерозиготности и частоте встречаемости аллелей микросателлитных маркеров A24, A88, A14 и A28. Для локуса A24 всего обнаружено 5, A88 – 7, а A14 – 8, а A28 – 12 различных аллелей. Можно сделать вывод, что изученные микросателлитные локусы информативны для паспортизации рассмотренных пород пчел.

Работа поддержана грантом РФФИ-офи_ц 08-04-13740-офи_ц.

РЕАКЦИИ ВИДОВ ТРАВЯНО-КУСТАРНИЧКОВОГО ЯРУСА НА ФИТОГЕННОЕ ПОЛЕ ЕЛИ В СОСНЯКАХ-ЗЕЛЕНОМОШНИКАХ

Киричок Е.И., Терешина Т.С.

Московский городской педагогический университет, Москва (Россия)

E-mail: *kirichok@mail.ru*

Материал был собран в 2005 и 2008 года в Суземском районе Брянской области, в буферной зоне заповедника «Брянский лес». Геоботанические описания проводились в сосняках-зеленомошниках с примесью березы и дуба под кронами елей разных онтогенетических состояний. Всего было сделано 93 парных (186) геоботанических описаний под кронами елей и на межкрупных участках.

Во время работы были отмечены 9 видов, чаще других встречающиеся в описаниях: подрост деревьев и кустарников – дуб, рябина, крушина; вегетативно-подвижные травы и кустарнички – черника, брусника, майник двулистный; вегетативно неподвижные виды (дерновинные) – ожика волосистая, осока пальчатая, и однолетник марьянник луговой. В процессе анализа были выделены 3 группы видов, которые по разному реагировали на влияние ели в целом и по отношению к ели разных онтогенетических состояний.

К первой группе мы отнесли: дуб, крушину, чернику и марьянник. Обилие этих видов под кроной ели значительно снижается. С возрастом ели это отрицательное влияние постепенно снижается, но отрицательное воздействие сохраняется.

Во вторую группу попали осока пальчатая и брусника. Эти виды испытывают незначительное угнетение под кронами ели всех онтогенетических состояний: слабо вытесняются из-под кроны и могут сохраняться там даже при значительном затенении.

К третьей группе отнесли рябину, майник двулистный и ожиху волосистую. На обилие этих видов ель на определенных этапах может не оказывать отрицательного влияния или даже влиять положительно.

Влияние ели в каждой группе неодинаково на разные виды, независимо от их жизненных форм, и связано с особенностями экологии видов. Полученные данные могут быть использованы в математическом моделировании при создании современных программ, прогнозирующих динамику растительности разных ярусов в лесных фитоценозах под влиянием различных факторов.

СРАВНЕНИЕ НУКЛЕОТИДНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ГЕНА COI МТДНК РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ ЖЕМЧУЖНИЦ РОДА *MARGARITIFERA*

Буханова А.Л., Артамонова В.С., Махров А.А.

Пушинский государственный университет, Пушкино (Россия)

Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва (Россия)

E-mail: buh_ant_86@mail.ru

На Европейском Севере России существуют три формы моллюсков жемчужниц. Недавно они описаны В.В. Богатовым с соавторами как самостоятельные виды – *Margaritifera margaritifera*, *Margaritifera elongata* и *Margaritifera borealis* (Bogatov et al., 2003) на основании различий в кривизне фронтального сечения раковины и отношения выпуклости раковины к ее максимальной высоте. Однако выполненный нами анализ выборки жемчужницы из реки Солза показал, что в них присутствуют все три формы жемчужниц, причем между ними существуют плавные переходы от одной формы к другой и наблюдается корреляция между размерами раковин и их формой. На этом основании мы сделали вывод, что форма раковины не может служить однозначным критерием для выделения видов (Сергеева и др., 2008).

В данной работе мы проанализировали последовательности COI мтДНК жемчужниц из Зоологического института РАН, которые были определены В.В. Богатовым как *M. elongata* и *M. borealis*, а также 14 образцов жемчужниц из Солзы. Среди них восемь особей имели форму раковины, типичную для *M. margaritifera*, две особи - форму, переходную между *M. margaritifera* и *M. elongata*, по две особи представляли формы *M. elongata* и *M. borealis*.

Обычно близкородственные виды различаются по COI мтДНК более чем на 2%, а внутривидовые различия составляют менее 1%. Проанализированные нами последовательности отличались друг от друга не более чем на три нуклеотида из 656, то есть менее чем на 0,5%. Последовательности для *M. elongata* и *M. borealis* из коллекции ЗИН РАН были полностью идентичны некоторым последовательностям, характерным для типичной *M. margaritifera*, как секвенированным нами, так и представленным в GenBank.

Это еще один аргумент в пользу того, что *M. elongata* и *M. borealis* нельзя считать самостоятельными видами.

НАСЛЕДУЕМОЕ СНИЖЕНИЕ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ *SPIROSTOMUM AMBIGUUM* ПОСЛЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО РАДИОЧАСТОТНОГО ВОЗДЕЙСТВИИ

Иголкина Ю.В.

Обнинский институт атомной энергетики Национального исследовательского ядерного университета «МИФИ», Обнинск (Россия)

E-mail: juli9991@yandex.ru

В работе показано, что непрерывно генерируемое низкоинтенсивное электромагнитное излучение на частоте радиовещания и спутникового телевидения (10 ГГц) с плотностью потока энергии на предельно допустимом для населения уровне (10 мкВт/см²) вызывает у протестированных гидробионтов инфузорий *Spirostomum ambiguum* выраженные нарушения поведенческой активности, проявляющиеся в виде снижения двигательной активности, морфологических аномалий движения, таких как судорожные подергивания тела, изменение

характера движения от «прямолинейного» до «верчения», попятные движения или полная неподвижность. Эффект характеризуется наличием порога, величина которого прямо пропорциональна экспозиции в электромагнитном поле и обратно пропорциональна плотности потока электромагнитной энергии. Обнаруженный эффект сохраняется в отдаленные сроки, даже через 30 суток, на протяжении которых у спиростом сменяется до 10–15 поколений.

Молекулярно-генетические механизмы выявленного эффекта скорее всего связаны с эпигенетическими, а не мутационными изменениями, т.к. эффект проявляется сразу после воздействия у еще не поделившихся спиростом, изменения выявлены у всех или подавляющего большинства особей и устойчиво наследуются на протяжении длительного промежутка времени.

Полученные данные могут быть положены в основу экологического регламентирования опасности низкоинтенсивных радиочастотных воздействий на биоту.

К КОНСОРТИВНЫМ СВЯЗЯМ ВОДЯНОГО ОРЕХА (*TRAPA NATANS*) НА ТЕРРИТОРИИ ВОЛГОГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

Жигачёва О.И., Сагалаев В.А.

Волгоградский государственный университет, Волгоград (Россия)

E-mail: incorrigible88@rambler.ru

Эколого-биологические особенности водяного ореха и его консортные связи в условиях Волгоградской области изучались в июле-августе 2010 г. Были исследованы три местонахождения водяного ореха: в старицах р. Хопра у ст. Букановской, на р. Медведице у г. Жирновска и на р. Терсе близ р.п. Рудни. В выявленных популяциях произведён учет и измерение розеток растений. В ходе наблюдений был осуществлён сбор беспозвоночных животных, обнаруженных на надводных и подводных частях особей водяного ореха по методике В. В. Негрובה и К. Ф. Хмельова (1999). Собранные материалы фиксировались в смеси спирта и формалина, а затем подвергались камеральной обработке и определению по стандартным определителям и руководствам.

Нами были обнаружены следующие животные: *Lymnaea ovata* Draparnaud, 1805 – прудовик яйцевидный, *Dicrotendipes tritonus* Kieffer, 1916., *Somatochlora aenea* (Linnaeus, 1758) [*Cordulia aenea* (Linnaeus, 1758)] – соматохлора блестящая, *Erythromma viridulum* Charpentier, 1840. – эритромма малая, или стрелка зеленушка, *Donacia crassipes* - радужница толстоногая, *Endodnironomus impa*. Методом прямого наблюдения были обнаружены позвоночные животные: *Anser* Brisson, 1760 – гуси, *Sus scrofa* Linnaeus, 1758 - кабан дикий, *Castor fiber* Linnaeus, 1758 - бобр обыкновенный.

ДИНАМИКА ДРЕВЕСНОЙ РАСТИТЕЛЬНОСТИ ПОСЛЕ МАССОВОГО ВЕТРОВАЛА НА ТЕРРИТОРИИ ЗАПОВЕДНИКА «КАЛУЖСКИЕ ЗАСЕКИ»

Стаменов М.Н., Бобровский М.В.

Пушинский государственный университет; Учреждение Российской академии наук
Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН,
Пушино (Россия)

E-mail: mshv-eiksb@inbox.ru

Массовый (катастрофический) ветровал – один из наиболее значимых экзогенных природных факторов динамики лесных биогеоценозов. Однако большинство исследований массовых ветровалов выполнено в бореальных или тропических лесах. Исследование массового ветровала, произошедшего в 2006 г. на Южном участке ГПЗ «Калужские засеки», предоставляет уникальную возможность изучения хода постветровальной сукцессии в зоне широколиственных лесов. В этой работе мы решали задачи анализа состава и количества валежа и подроста на постоянных пробных площадях (ПП). В 2010 году заложено пять ПП, где представлены основные варианты фитоценозов, пострадавших при ветровале 2006 г.

Учет валежа проведен на трансектах (общая длина 400 м). Среднее число стволов на 1 м трансекты колеблется в пределах 1,1–1,8 шт.; запас валежа варьирует от 198 до 463 м³/га, в среднем составляя 263 м³/га. Пространственное распределение валежа носит случайный характер. По запасу преобладает осина (*Populus tremula*) (до 80%), доля широколиственных пород и берёзы (*Betula pendula*) не превышает 30%. Большинство валежин находится на начальных стадиях разложения.

Подрост учитывали на площадках 2x2 м, расположенных вдоль трансект на ПП; всего описано 190 площадок. Численность подроста варьирует от 9000 до 17300 шт./га. Его доминантами являются осина и липа мелколистная (*Tilia cordata*) (до 80-90% на некоторых ПП), значительно участие ясеня (*Fraxinus excelsior*), вяза (*Ulmus glabra*), кленов остролистного (*Acer platanoides*) и полевого (*A. campestre*). Единично встречаются дуб (*Quercus robur*), береза, ель (*Picea abies*). Сопоставление биометрических характеристик подроста и данных о его плотности позволяет дать прогноз состава будущих древостоев на участках массового ветровала: в древостое на всех участках ветровала будет преобладать осина; в состав большинства древостоев войдут ясень и клен остролистный; местами заметную роль будут играть вяз и клен полевой. Липа сохранит участие на всех участках как ассектатор.

Работа поддержана РФФИ (проект № 09-04-01689).

ПРИМЕНЕНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ РЕЗУЛЬТАТОВ T-RFLP-АНАЛИЗА МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ КИШЕЧНИКА БРОЙЛЕРОВ

Никонов И.Н., Лаптев Г.Ю.

ООО «БИОТРОФ», Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: ilnikonov@yandex.ru

Совершенствование молекулярно-генетических методов и активное пополнение международных генетических баз данных создало предпосылки для широкого использования T-RFLP-анализа для экспресс-оценки состояния микробных сообществ в природе (почвы, содержимое желудочно-кишечного тракта животных и др.). T-RFLP-анализ позволяет эффективно определять до 100% видов в микробоценозах по сравнению с классическими методами микробиологии. В связи с достаточно большим количеством обнаруживаемых видов, прежде всего некультивируемых, возникает проблема правильной оценки действия того или иного фактора на микробное сообщество.

Цель работы – изучить возможность применения экологических подходов для оценки результатов T-RFLP-анализа.

Опыт проводили на цыплятах-бройлерах в условиях вивария. Бактериальное сообщество кишечника изучали методом оптимизированного для птицы T-RFLP-анализа. Для оценки результатов T-RFLP-анализа микрофлоры применяли экологические подходы, включавшие расчеты индекса Симпсона, характеризующего структуру доминирования, Шенноновский показатель общего разнообразия, показатель выравненности по Пиелу, показатель сходства по Серенсену.

В результате исследований получены профили бактериальных сообществ. Обнаружено, что структура бактериальных сообществ стабильна и существенно не различается по доминирующим видам внутри варианта. Расчет индекса доминирования показал, что его величина относительно низкая, что свидетельствует о достаточно стабильных гомеостатических системах, сложившихся в желудочно-кишечном тракте птицы. Возрастание индекса Симпсона у опытных вариантов по сравнению с контрольными (от 0,069 до 0,123) показывает, что применение пробиотика приводит к увеличению в процентном соотношении доминирующих видов. Значения Шенноновского индекса показывают, что генетическое разнообразие наиболее высоко в контрольных вариантах, где в составе рациона отсутствовал ферментативный пробиотик. Выравненность сообщества, оцениваемая по индексу Пиелу, также выше у контрольных вариантов.

Таким образом, применение экологических подходов к оценке результатов T-RFLP-анализа перспективно для определения воздействий на микрофлору желудочно-кишечного тракта птицы факторов, зависящих от варьирования состава рационов питания.

Работа поддержана грантом РФФИ №09-04-13768-офи_ц.

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ ПЕСТИЦИДОВ НА ТРОФИЧЕСКИЕ ГРУППЫ ПОЧВЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Колча Н.Н.

Закарпатский территориальный центр карантина растений Института защиты растений
НААН Украины, Ужгород (Украина)

E-mail: *kornelia_@ukr.net*

Опасность поступления пестицидов в окружающую среду связана с их токсичностью для биологических объектов, значительной стабильностью. Одним из негативных последствий загрязнения биосферы остатками пестицидов, что порождает обоснованное беспокойство, является нарушение экологического равновесия в экосистемах. Продолжается поиск активных микроорганизмов – деструкторов, способных утилизировать пестициды, ведутся разработки методов их интродукции на загрязненные территории.

Цель работы – оценить действие пестицидов на эколого-трофические группы почвенных микроорганизмов.

Численность микроорганизмов в буроземно-подзолистой поверхностно-оглееной почве определяли посевом на селективные среды (Теппер, 1993). Чувствительность к действию пестицидов Скор (фунгицид), Каратэ (инсектицид), Раундап (гербицид) определяли путем подсчета количества КОЕ на питательных средах при внесении рекомендуемых в с/х производстве (1 РД) и экспериментальных (10 РД) доз пестицидов.

При внесении 1 РД пестицидов общее количество почвенных микроорганизмов составляло 58-87% от контроля; количество микроорганизмов, устойчивых к 10 РД – 3-14% от контроля.

Группы почвенных микроорганизмов в порядке уменьшения их устойчивости к действию пестицидов можно расположить таким образом: олиготрофы > энтеробактерии > микромицеты > нитрифицирующие > педотрофы > олигонитрофилы; а использованные в опытах пестициды в порядке уменьшения их ингибирующего действия на почвенные микроорганизмы можно расположить следующим образом: фунгициды > гербициды > инсектициды. Уменьшение микроорганизмов некоторых трофических групп можно рассматривать как негативное влияние пестицидов, что ведет к уменьшению природного разнообразия почвенных микроорганизмов, и как результат – к нарушению экологического равновесия.

Для определения способности микроорганизмов использовать пестициды в качестве источника питания использовали минеральную среду Козера, в которой биогенные элементы – углерод и азот – заменяли пестицидами. Среди устойчивых к 10 РД пестицидов выделены бактерии, которые используют пестициды в качестве источника углеродного и азотного питания. Создана коллекция, насчитывающая 63 штамма бактерий – деструкторов, из которых: 17% – как источник питания активно используют Скор, 40% – Каратэ, 43% – Раундап. Эти бактерии перспективны для исследований с целью разработки методов биоремедиации загрязненных пестицидами территорий.

ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ РЕЧНОГО БОБРА НА СООБЩЕСТВА РАЙФСКОГО УЧАСТКА ВКГПБЗ МЕТОДОМ ФИТОИНДИКАЦИИ

Назаров Н.Г.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань (Россия)

E-mail: *nail-naz@yandex.ru*

Цель исследования – оценка влияния средообразующей деятельности речного бобра на фитоценозы Райфского участка ВКГПБЗ. Для этого была поставлена задача фитоиндикационного анализа растительного покрова на заложенных площадках с использованием экологических шкал Д.Н. Цыганова, эколого-ценотического анализа и применением показателя активности видов.

Исходными материалами для этой работы послужили данные геоботанических описаний, произведенных по методике А. L. Easter-Pilcher в 1998 году и данные описаний 2008-2009 годов. В 2008-2009 годах из 59 пробных площадок, заложенных в 1998 году, были проведены повторные описания 19 площадок, подверженных действию бобра – экспериментальные, и 7 площадок, выбранных в качестве контроля, где не наблюдалась деятельность бобра.

Различие между полученными значениями экологических факторов на контрольных площадках за 1998 и 2008/09 гг является статистически незначимым. На экспериментальных площадках отмечена достоверно значимая разница между значениями 1998 и 2008/09 гг факторов: увлажнения, солевого режима и кислотности почв, богатства почв азотом, освещенности, переменности увлажнения. За последнее десятилетие на контрольных площадках увеличилось разнообразие эколого-ценотических групп. Появились водно-болотная, водная, лугово-степная и каменисто-степная группы. Исчезла группа гигрофильных видов. Основными остаются виды неморальной, лесолуговой и бореально-неморальной групп. На экспериментальных площадках идет уменьшение числа неморальных, бореальных и лесолуговых видов. Они постепенно сменяются водно-болотной группой видов. Увеличивается доля гигрофильной группы.

Подсчет активности видов выявил максимальную активность у видов рудеральной группы на контрольных площадках, что относится к среднему классу активности (4 балла). У этой группы наблюдается экспансивная степень изменения активности. На экспериментальных площадках, напротив, наблюдается угасающая степень изменения активности рудералов и экспансивная водной, водно-болотной и гигрофитной групп. Максимальное значение активности составляет 3 балла (класс довольно активный).

АНАЛИЗ ОСОБЕННОСТЕЙ ЗАРАСТАНИЯ БРОШЕННЫХ ЛУГОВ И ПАШЕН НА ТЕРРИТОРИИ ЗАПОВЕДНИКА «КАЛУЖСКИЕ ЗАСЕКИ»

Москаленко С.В.

Учреждение Российской академии наук Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пущино (Россия)

E-mail: moskalenkosvetlana@yandex.ru

Изучение динамики естественного развития природных комплексов является приоритетным направлением научных исследований. При этом большое значение для понимания механизмов динамики популяций и экосистем имеют исследования восстановительных сукцессий после сильных нарушений природных экосистем. Объектами таких исследований являются территории, пострадавшие при разнообразных природных катастрофах; земли, подвергшиеся разрушению при горнодобывающих работах и др. Особое место занимают исследования восстановительных сукцессий после забрасывания сельскохозяйственных угодий. На территории Европейской России площадь таких земель оценивают в 43,2 млн. га за период 1897 – 2007 гг., из них 22,5 млн. га приходится на Центральную Россию.

При изучении процессов зарастания брошенных земель исследователи зачастую не различают сукцессии автогенные (спонтанные) и аллогенные (происходящие при периодических воздействиях факторов нарушения). Анализ литературы показывает, что данные о естественном формировании насаждений на бывших сельскохозяйственных землях без участия внешних воздействий (пожаров, выпаса и др.) весьма немногочисленны.

Объектом нашего исследования являются заброшенные сельскохозяйственные земли на территории государственного природного заповедника «Калужские засеки» и в его охранной зоне (Калужская обл.). Уникальность территории определяется соседством старовозрастных широколиственных лесов, для которых характерно высокое видовое богатство «теневого» флоры, и брошенных сельскохозяйственных угодий различных типов. При этом многие участки достоверно не испытывали экзогенных воздействий после начала зарастания. Это позволяет оценить скорости естественной демуляции, оценить потенциальные возможности расселения лесных видов растений, сравнить ход автогенной сукцессии при зарастании пашен, лугов, выгонов.

Задача первого этапа нашей работы – оценка площадей разных вариантов сельхозугодий на территории заповедника и анализ особенностей их зарастания (в первые 30 лет

восстановительной сукцессии). Для решения задачи используется ГИС (ArcView). В качестве основных материалов привлечены топографические карты, лесоустроительные данные разных лет, данные дистанционного зондирования (космические снимки).

СОДЕРЖАНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ТКАНЯХ РЫБ, ВЫЛОВЛЕННЫХ В РАЗЛИЧНЫХ ВОДОЕМАХ ДАГЕСТАНА

Абдуллаева Н.М., Абдуллев В.Р.

Дагестанский государственный университет, Махачкала (Россия)

E-mail: *boys11@mail.ru*

В настоящее время в условиях антропогенного воздействия на окружающую среду особый интерес вызывает изучение распределения и миграции микроэлементов, обладающих токсичными свойствами. Им свойственна высокая биологическая активность и способность задерживаться в организме. Данные о содержании и миграции ртути, свинца и кадмия в водоемах рыбохозяйственного назначения Дагестана, а также накоплении их в организме рыб имеют исключительно важное значение для выращивания экологически чистой рыбной продукции в условиях антропогенной нагрузки на водные экосистемы.

Исследования проводились на рыбах, выловленных в Каспийском море и в реках Терек, Самур, Сулак. Среднее содержание ртути (Hg), свинца (Pb), кадмия (Cd), меди (Cu) в исследуемых органах и тканях рыб не превышает допустимых концентраций. В результате исследований было выявлено, что распределение тяжелых металлов по различным органам рыб неоднозначно. Мышечная ткань характеризуется наименьшей способностью к аккумуляции тяжелых металлов, что можно объяснить значительно меньшей их метаболической активностью. Наиболее высокое содержание тяжелых металлов обнаружено в тканях осетра, выловленного в Каспийском море и щуки, выловленной на разливах реки Терек. По нашим данным, концентрация тяжелых металлов в тканях кутума, выловленного в реках Сулак и Самур существенно ниже содержания в тканях кутума, выловленного в реке Терек.

Полученные данные показали, что в наибольших концентрациях из тяжелых металлов в тканях рыб накапливается медь. На втором месте по уровню аккумуляции стоит свинец. На основе полученных данных можно предположить, что реки Сулак и Самур наименее подвержены природному геохимическому и антропогенному загрязнению.

ВИДОВАЯ СПЕЦИФИКА АККУМУЛЯЦИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ ЛИСТЬЯМИ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ РОДА *POPULUS* ГОРОДА ПАВЛОДАР

Есенжолова А.Ж.

Семипалатинский государственный педагогический институт,

Семипалатинск (Казахстан)

E-mail: *zhymanova.13@mail.ru*

Современная урбоэкосистема, как правило, характеризуется высоким уровнем загрязнения тяжелыми металлами (ТМ), связанным с интенсивным развитием промышленности и транспорта. В этом смысле город Павлодар не исключение. Один из удобных методов оценки загрязнения атмосферы города Павлодар ТМ, является биоиндикационный, с изучением накопления элементов в листьях древесных растений.

Объектами исследования послужили пробы листьев широко распространенного рода древесных растений *Populus* произрастающие в зонах города с различной антропогенной нагрузкой.

Содержание ТМ в листьях рода *Populus* колеблется в широких пределах и зависит от зоны города. Наибольшему загрязнению ТМ подвержены листья, произрастающие в транспортной > промышленной > рекреационной > жилой зонах.

По величине среднего содержания цинка в листьях рода *Populus* следующий убывающий ряд: *P. pyramidalis* Rozier (55,3) > *P. alba* L. (47,2) > *P. tremula* L. (45,3) > *P. nigra* L. (40,4)

Меди: *P. nigra* L. (4,7) > *P. alba* L. (4,3) > *P. pyramidalis* Rozier (4) > *P. tremula* L. (3,6)

Свинца: *P. pyramidalis* Rozier (2,1) > *P. alba* L. (1,7) > *P. nigra* L. (1,4) > *P. tremula* L. (1,4)

Кадмия: *P. nigra* L. (0,3) \geq *P. tremula* L. (0,3) $>$ *P. pyramidalis* Rozier (0,25) $>$ *P. alba* L. (0,23)

Разная степень накопления ТМ может свидетельствовать о том, что поглощение микроэлементов глубоко видоспецифично, так как определяется его содержанием в среде. Немалое влияние может оказать тот факт, что изученные виды рода *Populus* различаются по строению листовой пластинки, строению кроны, что в свою очередь может сказаться на накоплении ТМ в листьях.

БИОИНДИКАЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ ЛИСТЬЕВ *SALIX ALBA* L. ГОРОДА АСТАНЫ

Есильканов Г.М., Есенжолова А.Ж.

Семипалатинский государственный педагогический институт,
Семипалатинск (Казахстан)

E-mail: *basta_b-1@qip.ru*

Анализ материалов производственного мониторинга и экспертная оценка сложившейся экологической ситуации показывают, что приоритетными источниками тяжелых металлов (ТМ) в атмосферу города Астаны являются теплоэнергетические комплексы, а также автомобильный транспорт. Один из удобных методов оценки загрязнения атмосферы города Астаны ТМ, является биоиндикационный, с изучением накопления элементов в листьях древесных растений, в частности хорошо распространенной ивы белой (*Salix alba* L.).

Содержание ТМ в листьях *Salix alba* L. колеблется в широких пределах и зависит от зоны города. Наибольшему загрязнению ТМ подвержены листья, произрастающие в промышленной и транспортной зоне, а наименьшему – в жилой зоне.

По величине среднего содержания цинка в листьях *Salix alba* L. в различных функциональных зонах располагаются в следующем убывающем порядке, (мг/кг воздушно-сухой массы): транспортная (143,5) $>$ промышленная (112,3) $>$ рекреационная (99,1) $>$ жилая (74,4);

Меди: транспортная (7,8) $>$ промышленная (6,5) $>$ рекреационная (4,5) $>$ жилая (3,8);

Свинца: транспортная (2,8) $>$ рекреационная (2,1) $>$ промышленная (1,7) $>$ жилая (0,8);

Кадмия: промышленная (2,1) $>$ Транспортная (0,9) $>$ рекреационная (0,6) $>$ жилая (0,3).

Зольность представляет собой важный биогеохимический показатель. Зольность растений позволяет получить представление о степени загрязнения атмосферного воздуха, характеризуя газопоглотительную способность растений.

Средняя зольность листьев *Salix alba* L. по функциональным зонам города Астаны (убывающий ряд): транспортная зона (10,5) $>$ промышленная зона (9,2) $>$ рекреационная зона (9) $>$ жилая зона (8).

Все выше перечисленное говорит о большем биоиндикационном потенциале *Salix alba* L., поскольку отклик этого вида на концентрацию ТМ в среде прямо пропорционален атмосферному загрязнению города.

БИОИНДИКАЦИОННАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ ГОРОДА СЕМЕЙ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА ЛИСТЬЕВ *BETULA PENDULA* ROTH

Есильканов Г.М., Есенжолова А.Ж., Торопов А.С.

Семипалатинский государственный педагогический институт,
Семипалатинск (Казахстан)

E-mail: *basta_b-1@qip.ru*

Одним из перспективных подходов для интегральной характеристики качества среды является оценка состояния живых организмов по стабильности развития, которая характеризуется уровнем флуктуирующей асимметрии морфологических структур и аккумуляции поллютантов.

Сочетание изучения биометрических показателей растений с количественным определением приоритетной группы токсикантов позволит сформировать комплекс мер биологического мониторинга городской среды.

Оценка флуктуирующей асимметрии билатеральных организмов хорошо зарекомендовала себя при определении общего уровня антропогенного воздействия. Уровень флуктуирующей асимметрии у *Betula pendula* Roth. в большей степени зависит от места отбора пробы. В транспортной зоне он составлял – 0,064, в промышленной – 0,055, рекреационной и жилой зоне – 0,047. Согласно пятибалльной шкале отклонения от нормы, асимметричность *B. pendula* Roth. в транспортной зоне соответствует 3 баллам (средний уровень загрязнения), в промышленной – 2 баллам (выше нормы), а в жилой и рекреационной – 1 баллу (норма).

Одними из приоритетных загрязнителей города Семей являются тяжелые металлы (ТМ). Содержание ТМ в листьях *B. pendula* Roth. колеблется в широких пределах и зависит от зоны города. Наибольшему загрязнению ТМ подвержены листья, произрастающие в промышленной и транспортной зоне, а наименьшему – жилой зоне.

По средней концентрации ТМ в листьях *B. pendula* Roth. составляют следующий убывающий ряд: Zn (80,7) > Cu (4,4) > Pb (0,8) > Cd (0,17).

Различие в флуктуирующей асимметрии и накоплении ТМ листьями *B. pendula* Roth. отобранных в разных районах города, говорит о большем биоиндикационном потенциале *B. pendula* Roth., так как ярко показывает степень техногенной нагрузки на ту или иную функциональную зону города.

ДОЖДЕВЫЕ ЧЕРВИ В ТЕМНОГУМУСОВЫХ ПОЧВАХ ЗАПОВЕДНИКА «КАЛУЖСКИЕ ЗАСЕКИ»

Шашков М.П.

Центр защиты леса Ленинградской области, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: max.carabus@gmail.com

В юго-восточной части Калужской области сохранились участки многовидовых широколиственных лесов, для которых характерны сложная мозаично-ярусная структура, одновременное присутствие шести видов широколиственных деревьев, богатый травяной покров. В этих лесах встречаются участки уникальных темногумусовых почв, мощность гумусового горизонта в которых составляет 40-130 см.

Сборы дождевых червей были проведены весной 2006 года на Южном участке заповедника «Калужские засеки» (Ульяновский район). Было обследовано три участка дубрав с темногумусовыми почвами, на каждом отобрано 8 почвенных проб по стандартной методике. На первом участке мощность гумусового горизонта была более 120 см, на двух других – более 50 см.

Численность дождевых червей составила 410-462 экз./м², биомасса – 686-722 кг/га. Фауна дождевых червей темногумусовых почв представлена шестью видами из девяти, распространенных в лесах Калужской области, при этом в сборах представлены все морфо-экологические группы. Наибольшую долю в населении дождевых червей, как по численности (69-79%), так и по биомассе (61-79%), имели внутрпочвенные виды *Aporrectodea caliginosa*, *A. rosea* и *Octolasion lacteum*, на втором месте был подстилоно-почвенный *Lumbricus rubellus* (до 25%). Низкая численность подстилочного вида *Dendrobaena octaedra* объясняется высокой скоростью переработки опада, в результате которой в течение большей части вегетационного периода подстилка отсутствует. Норник *Lumbricus terrestris* учтён только на одном участке, хотя он присутствует в таких почвах повсеместно, но благодаря особенностям своего поведения не всегда попадает в почвенные пробы.

Полученные показатели биомассы дождевых червей заметно превосходят значения (300-500 кг/га), ранее указанные для населения дождевых червей широколиственных лесов в литературе. Высокое разнообразие и обилие дождевых червей в почвах дубрав «Калужских засек» является результатом особого режима лесопользования, в течение длительного времени исключавшего катастрофические нарушения лесных экосистем со стороны человека.

ЦИНК И МЕДЬ В ЛИСТЬЯХ ДРЕВЕСНЫХ И КУСТАРНИКОВЫХ РАСТЕНИЙ ГОРОДА КАРАГАНДЫ

Есенжолова А.Ж.

Семипалатинский государственный педагогический институт,
Семипалатинск (Казахстан)

E-mail: zhymanova.13@mail.ru

Существует необходимость оценки экологического состояния таких сложных систем, как городские агломерации, в пределах которых имеет место интегральное воздействие большого числа негативных факторов, приводящее к значительному ухудшению условий жизни населения. Одним из приоритетных загрязнителей городской среды являются тяжелые металлы, такие как цинк и медь.

Листья поглощают самое большое количество загрязняющих веществ. Листовая система является мощным воздушным насосом дерева, что обеспечивает поглощение, накопление значительных количеств загрязняющих веществ. Именно поэтому древесные растения в настоящее время широко используются для биоиндикации воздушных загрязнений.

Содержание цинка и меди в листьях древесных и кустарниковых растениях колеблется в широких пределах и зависит от зоны города. Наибольшему загрязнению цинка и меди подвержены листья произрастающих в транспортной зоне (118,2 и 7,2 мг/кг), а наименьшему - в жилой зоне (55,7 и 1,8 мг/кг).

Выявлены виды растений листьев которых являются концентраторами цинка: *Betula pendula* Roth, *Populus nigra* L., *Crataegus oxyacantha* L.; меди *Acer negundo* L., *Fraxinus excelsior* L., *Syringa vulgaris* L. Поскольку данные виды древесных пород растений накапливают достаточно высокие концентрации цинка и меди, их наиболее удобно использовать в качестве фильтров атмосферного воздуха, загрязненного данными элементами.

По величине среднего содержания цинка в листьях различные виды древесных пород растений располагаются в следующем убывающем порядке:

Betula pendula Roth > *Populus nigra* L. > *Crataegus oxyacantha* L. > *Acer negundo* L. > *Syringa vulgaris* L. > *Ulmus minor* Mill. > *Fraxinus excelsior* L. > *Rosa canina* L.

Меди: *Acer negundo* L. > *Fraxinus excelsior* L. > *Syringa vulgaris* L. > *Crataegus oxyacantha* L. > *Populus nigra* L. > *Betula pendula* Roth > *Ulmus minor* Mill. > *Rosa canina* L.

Одним из показателей степени накопления элементов растениями является коэффициент биологического поглощения (КБП), который характеризует распределение элемента между живым веществом и абиотической средой. КБП определяется отношением содержания химического элемента в растении к его кларку в литосфере. По величине среднего КБП цинка в листьях различных видов древесных и кустарниковых растений представлен следующий убывающий ряд:

Betula pendula Roth. (16,5) > *Populus nigra* L.(3,8) > *Ulmus minor* Mill. (2,1) > *Syringa vulgaris* L. (3,2) > *Acer negundo* L. (2,8) > *Rosa canina* L.(2,3) > *Crataegus oxyacantha* L. (3,5) > *Fraxinus excelsior* L. (2,7)

Меди: *Betula pendula* Roth. (1,4) > *Populus nigra* L.(0,8) > *Ulmus minor* Mill. (0,6) > *Syringa vulgaris* L. (1,3) > *Acer negundo* L. (1,1) > *Rosa canina* L.(0,7) > *Crataegus oxyacantha* L. (1,1) > *Fraxinus excelsior* L. (1,6)

По градации А.И. Перельмана в изученных растениях цинк характеризовался для *Betula pendula* Roth. элементом энергичного накопления, для остальных элемент сильного накопления, а медь элемент сильного накопления для *Betula pendula* Roth., *Syringa vulgaris* L., *Fraxinus excelsior* L., *Crataegus oxyacantha* L. и *Acer negundo* L., а остальные слабого накопления и среднего захвата.

СПОСОБНОСТЬ ВИТРОФИРОВ К АДСОРБЦИИ СВИНЦА И МЕДИ

Торопов А.С.

Семипалатинский государственный педагогический институт,
Семипалатинск (Казахстан)

E-mail: basta_b@mail.ru

Целью работы было исследование адсорбции свинца местными природными сорбентами – витрофирами, которые добываются в Республике Казахстан, в Восточно-Казахстанской области. Исследовались следующие параметры отдельно для меди и свинца: время взмучивания, время контакта с сорбентом в состоянии покоя. Изучены влияние температурной и кислотной активации витрофилов на их сорбционную емкость, а также возможность их регенерации и повторного использования.

Оптимальным временем взмучивания можно считать 90 минут взаимодействия, поскольку при данном времени адсорбционная способность витрофилов максимальна. При увеличении или уменьшении времени взмучивания, сорбционная способность витрофилов снижается.

Оптимальное время контакта с сорбентом в состоянии покоя для адсорбции свинца и меди витрофирами можно считать 15 минут. В исследованном промежутке времени (10÷2880 минут) на интервале 10-15 минут происходит активная адсорбция, а затем – постепенная десорбция и обратное выделение ионов свинца и меди в раствор.

Температурная активация позволяет значительно улучшить эффективность адсорбции. При исследовании поглощения свинца и меди витрофирами с активацией 400°C в течение 60 минут (оптимальная величина) сорбционная емкость сорбента увеличилась на 47 и 42% по сравнению с неактивированным сорбентом.

Обработка витрофилов раствором 1 н HCl в течение 1 часа понижала емкость сорбента по сравнению с природным материалом, что может быть связано со структурой материала и его свойствами. Сорбент, насыщенный свинцом и медью, регенерировали 0,05 н растворами HCl. В вытяжку переходило 67 и 55% от поглощенных металлов, после чего сорбент использовали повторно. Термическая регенерация сорбента при 200°C в течение 1 часа и последующая промывка сорбента удаляла до 46% сорбированного свинца и 27% - меди.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ КАДМИЯ И ЦИНКА В ПОДЗЕМНЫХ ВОДАХ БЫВШЕГО СЕМИПАЛАТИНСКОГО ИСПЫТАТЕЛЬНОГО ЯДЕРНОГО ПОЛИГОНА

Торопов А.С.

Семипалатинский государственный педагогический институт,
Семипалатинск (Казахстан)

E-mail: *basta_b@mail.ru*

Цель исследования: изучение эколого-геохимических особенностей распределения цинка и кадмия в подземных водах основных гидрогеологических постов территории бывшего Семипалатинского испытательного ядерного полигона (СИЯП).

По химическому составу подземные воды бывшего СИЯП являются нейтральными (рН=7,28), солеными (4,1 г/дм³) и очень жесткими (21,9 мг-экв/дм³) с преимущественно хлоридно-натриевым типом воды. Средняя формула Курлова для изученных вод:

Средняя концентрация кадмия (n=44) в изучаемых водах составила 0,46±0,06 мкг/дм³, при размахе варьирования 0,05 - 2,1 и коэффициенте вариации 91,32%. Среднее содержание цинка (n=44) в подземных водах бывшего СИЯП составило 113,67±69,6 мкг/дм³, при размахе варьирования 5,4 - 3095 мкг/дм³ и коэффициенте вариации 406,23%. Превышений ПДК для питьевых вод по данным металлам нет, однако геохимический фон превышен в десятки раз.

Было отмечено, что содержание кадмия и цинка меняется в зависимости от многих факторов – от содержания макрокомпонентов, непосредственно химического типа воды, водовмещающей породы.

С показателями макрокомпонентного состава данные металлы не образуют достоверных корреляционных зависимостей.

Содержание кадмия (мкг/дм³) в исследуемых водах в зависимости от водовмещающей породы изменяется следующим образом: туфопесчаники (0,69) > гравийно-галечники (0,49) > граниты (0,46) > песчаники (0,40) > сланцы (0,38); цинка: сланцы (54,45) > туфопесчаники (45,91) > песчаники (44,79) > гравийно-галечники (32,6) > граниты (29,36).

Содержание кадмия (мкг/дм³) в исследуемых водах в зависимости от химического типа изменяется следующим образом: HCO₃-Na(0,82)>HCO₃-Ca(0,61)>SO₄-Na(0,58)>SO₄-Mg(0,41)>Cl-Na(0,39)>SO₄-Ca(0,14); цинка: Cl-Na(206,48)>SO₄-Mg(43,6)>SO₄-Na(40,2)>SO₄-Ca(39,23)>HCO₃-Na(38,9)>HCO₃-Ca(27,07).

ПЕРСПЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ФАРМАКОПЕЙНЫХ РАСТЕНИЙ ВО ВНУТРЕННЕЙ СРЕДЕ ПОМЕЩЕНИЙ ПАНСИОНА ВОСПИТАННИЦ МОРФ

Крестинина Н.В., Сгибнева А.А., Афонина В.Е.

Российский университет дружбы народов, Пансион воспитанниц Министерства
обороны Российской Федерации, Москва (Россия)

E-mail: nkrestinina@yandex.ru

Большее значение придается использованию декоративных растений в образовательных учреждениях г. Москвы, с целью повышения их качества и уменьшения заболеваемости учащихся. Особый интерес представляют фармакопейные растения, безопасные и обладающие фитонцидными свойствами.

Целью работы явилось подведение итогов первого года исследования интродукции фармакопейных видов растений *Melissa officinalis*, *Mentha Piperita* L., *Ocimum basilicum* L., *Salvia officinalis* и *Petroselinum crispum* в условия внутренней среды помещения пансиона воспитанниц МОРФ.

Для этого был проведен анализ экологических условий интерьеров, изучены фенологическое развитие, изменчивость декоративных качеств, рост и развития растений во внутренней среде помещений.

Методика исследования предусматривает проведение мониторинга температуры, относительной влажности, освещенности с использованием стандартных методик. Эффективность интродукции оценивали на основе анализа показателей жизнеспособности: сохранении декоративности и габитуса, регулярности прироста побегов в высоту, способности к генеративному развитию.

В ходе исследований были выявлены особенности жилых помещений пансиона и определены лимитирующие факторы при введении фармакопейных растений. На первом году жизни *Melissa officinalis*, *Petroselinum crispum* и *Mentha Piperita* L. вегетировали в условиях внутренней среды 150 дней, *Ocimum basilicum* L. - 15 дней, *Salvia officinalis* – 96 дней. Наблюдения за показателями жизнеспособности выявили, что декоративные качества и регулярность прироста на протяжении всего периода наблюдения сохранила *Melissa officinalis*, *Petroselinum crispum* и *Mentha Piperita* L. сохранили свою жизнеспособность, но утратили декоративность. Ни одно из используемых растений на первом году наблюдений не проявило способности к генеративному развитию. *Ocimum basilicum* L. и *Salvia officinalis* выпали. Таким образом, *Melissa officinalis*, *Petroselinum crispum* и *Mentha Piperita* L. обладают интродукционной устойчивостью и могут быть использованы в медико-экологическом фитодизайне.

ИЗМЕНЕНИЕ РАСТИТЕЛЬНОГО ПОКРОВА НА ТЕРРИТОРИИ МОРШИНСКОЙ ВОЗВЫШЕННОСТИ

Позыныч И.С., Савицкая А.Г.

Государственный природоведческий музей НАН Украины, Львов (Украина)

E-mail: pozychka@gmail.com

С позиций сохранения природного биоразнообразия региона является актуальным изучение особенностей динамики состава лесов на территории Моршинской возвышенности, где растительность Карпат граничит с неморальной растительностью равнин.

Детальные исследования лесов на территории Моршинской возвышенности проводились в 1937 году польскими учеными М. Kostyniuk и К. Wiczorec, которыми было заложено 147 пробных площадей и проведено их детальное геоботаническое описание. В 2005 -2010 годах мы повторно сделали 177 описаний растительных сообществ данной территории для того, чтобы увидеть изменения, произошедшие в растительном покрове вследствие антропогенной трансформации региона.

Фитоценологические исследования проводили путем составления ландшафтно-геоботанических описаний, используя известные ландшафтно-геоботанические, лесоводческие и фитоценологические методики. По данным 1937 года, флористический список составляет 217 видов сосудистых растений, входящих в 12 ассоциаций. Согласно результатов наших исследований, флористический список лесных сообществ составляет 412 видов сосудистых растений и мхов, входящих в 13 ассоциаций.

Нами установлено, что за последние 70 лет лесные сообщества на территории Моршинской возвышенности сильно изменились. На месте срубов и молодняков возникли ассоциации *Tilio cordatae-Carpinetum betuli*, *Stellario holosteaе-Carpinetum betuli*, *Molinio (caeruleae)-Quercetum roboris*. На склонах реки Сукиль встречаются уникальные ассоциации для данного региона: *Fraxineto-Ulmetum-Alliozo ursinum*, *Ficario-Ulmetum minoris - Allium ursinum*. На местах бывших лугов и пастбищ сформировались ассоциации: *Salicetum triandro-viminalis* и *Salicetum albo-fragilis*. На местах бывших сухих ольшаников сегодня доминируют *Stellario holosteaе-Carpinetum betuli* и *Carici pilosae-Fagetum*.

В местах, где ранее обнаружены ассоциации *Quercetum brizoidetosum* теперь локально представлены *Stellario holosteaе-Carpinetum betuli* и *Molinio (caeruleae)-Quercetum roboris*. К таким изменениям в растительных сообществах привела не только хозяйственная деятельность человека, но и автогенные вторичные сукцессии восстановления типичных для местности климаксных лесных сообществ.

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА С АНТИСТРЕССОВЫМИ И ИММУНОПРОТЕКТОРНЫМИ СВОЙСТВАМИ

Андрянова Ю.М., Власов Д.А., Гусакова Н.Н.

Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И.Вавилова,
Саратов (Россия)

E-mail: zay-84-84@mail.ru

В современных условиях агроэкосистемы в значительной степени подвергаются негативному антропогенному воздействию.

При возделывании сельскохозяйственных культур на антропогенно-депрессивных территориях важное значение имеет повышение продуктивности возделываемых культур и внедрение приемов защиты растений от вредных организмов, направленных на экологизацию земледелия и сокращение пестицидной нагрузки на агроценозы. Это может быть достигнуто за счет применения биологически активных веществ (БАВ) – стресспротекторов и индукторов иммунитета, способствующих повышению устойчивости сельскохозяйственных культур к биотическим и абиотическим воздействиям.

Цель исследования – повышение продуктивности и иммунитета зерновых, овощных и цветочных культур, улучшение качества зерновой и овощной продукции на основе использования азотсодержащих биологически активных веществ при возделывании культур на антропогенно-депрессивных территориях.

Полевые исследования проведены в 2006–2010 гг. на территории Саратовской области Татищевского района (ООО «Перспективное»).

Для реализации поставленной цели были решены следующие задачи: выявлено в лабораторных и полевых опытах влияние новых азотсодержащих БАВ, ионов свинца (II), меди (II) и цинка (II) на силу роста и морфометрические показатели исследуемых культур; установлена эффективность предпосевной обработки семян на фотосинтетическую деятельность, формирование элементов продуктивности и урожайность культур; изучено их влияние на индуцирование естественной устойчивости изучаемых культур к комплексу грибных заболеваний; оценено влияние предпосевной обработки БАВ на качество зерновой и овощной продукции, при возделывании культур на загрязненных территориях.

Предпосевная обработка семян зерновых и овощных культур новыми синтетическими азотсодержащими БАВ позволит на антропогенно-депрессивных территориях в максимальной степени реализовать потенциал культур и получить экологически безопасную зерновую и овощную продукцию.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ЭКОСИСТЕМ В ЛАБОРАТОРИИ С ПОМОЩЬЮ МИКРОКОСМОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛИЯНИЯ НА НИХ АНТРОПОГЕННЫХ ФАКТОРОВ

Махрова Е.Г., Руденко С.С.

Черновицкий национальный университет им. Юрия Федьковича, Черновцы (Украина)

E-mail: yelena.makhrova@gmail.com

Сухой лабораторный эксперимент или простое наблюдение далеко не всегда способны адекватно дать оценку изменениям, которые имеют сходный характер проявления, но вызваны разными раздражителями. Создать адекватное влияние многих из факторов в основном антропогенного происхождения на природные объекты очень затруднительно и иногда практически невозможно. Приведём в пример изучения влияния кислотных осадков и повышения среднегодовых температур на древесные породы. В природных условиях необычайно тяжело доказать причастность подобных антропогенных факторов к морфофизиологическим изменениям.

Для решения предлагаем использовать наиболее приближенную к реальным природным экосистемам модель – «микрокосм». Искусственные аналоги природных экосистем «космы» макро- и мега- масштабов широко известны миру («Биос-3», «Биосфера-2»). Прототипом модели выступила модель Ю. Одума, однако вместо плексиглазового цилиндра использовали 5-литровую ёмкость из-под PET-бутыли. Внутри монтировали микроэкосистему. Ею выступали моно- или поликультура эдафикаторов лесных экосистем. Трёхгодичный самосев выкапывался без нарушения корневой системы и почвенного покрова на её проекции в регионах, не изменённых антропогенной деятельностью. Растения высаживались по два. Модель закрывали, контакт с внешней средой лаборатории происходил только по трубкам аэрации. Полив проводился под контролем исследователя раствором кислот с установленным рН по определённому алгоритму. «Парниковый эффект» достигался с помощью термостатов. В контроле создавали природные условия среды произрастания. Фотопериод регулировался реле времени. Практически все необходимые внешние факторы, за исключением имитируемых, были рассчитаны по подобию природных условий произрастания. Время эксперимента – 1-2 мес.

Таким образом, была создана модель экосистемы, способной не только к выживанию, но и успешному функционированию на некоторое время. В таких микроэкосистемах сохраняется основной комплекс биотических/абиотических взаимодействий, технология позволяет выявить изменения очень большого круга взаимосвязей. Микрокосмы можно с лёгкостью использовать для огромного круга биоиндикаторов.

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ СЕГЕТАЛЬНОЙ ФИТОБИОТЫ В АГРОЦЕНОЗАХ ПШЕНИЦЫ

Стародуб В.И., Ткач Е.Д.

Институт агроэкологии и экономики природопользования НААН, Киев (Украина)

E-mail: evg.ted@rambler.ru

Виды спонтанной фитобиоты сегетальных экосистем являются полноправными и закономерными компонентами агрофитоценозов, наряду с культурными растениями. Для них культурные растения полезны и жизненно необходимы, поскольку свое негативное влияние они проявляют только в случаях массового распространения (Бурда, 1991; 2002; Протопопова, 1991; Ульянова, 1998; Rademacher, 1948).

В своей работе мы главное внимание уделили сообществу сегетальной фитобиоты, чтобы показать, как происходит формирование агроценоза с участием как культурного растения так и видов сорной растительности. При этом, основными параметрами исследования являлись определение основных экологических показателей, предложенных Уиттэкером, а именно учет видового состава, обилия, и частоты встречаемости, а также определения нагрузки сегетальных растений на культурные растения, которые определяются по показателю «эффективной плотности популяции», или энергетической нагрузки (Животовский, 2001).

Исследования проводили в агротипах пшеницы озимой и ярой.

Нами установлено, что в посевах пшеницы ярой и озимой в Лесостепной зоне Украины распространено 78 видов сеgetальной фитобиоты, из них в пшенице озимой встречаются 49 видов, а в пшенице ярой – 56 видов. Частота встречаемости видов составляет от 12 до 34,6%, или виды относятся к 2 и 3 классу встречаемости (Любарский, 1974). Обилие сорняков в среднем составляет 9–14 шт./м², по классам обилия фитобиота относится к 2–3 классу (Комаров, 1940). Средняя энергетическая эффективность фитобиоты составляет 10,32 относительно 92,3 культурного растения, то есть существенного влияния фитобиоты на формирование урожая на опытных полях не обнаружено.

Таким образом, оценка состояния агроценозов пшеницы по основным экологическим параметрам указывает на распространение сеgetальной фитобиоты в агротипах пшеницы, определяя незначительное влияние этих видов на качество и производительность культурного растения.

ОНТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ЦЕНОПОПУЛЯЦИИ КЕДРА СИБИРСКОГО В КРУПНОПАПОРОТНИКОВЫХ ЛЕСАХ БАСЕЙНА РЕКИ Б. ПОРОЖНЯЯ

Алейников А.А., Ефименко А.С., Лазников А.А.

Центр по проблемам экологии и продуктивности лесов РАН, Москва (Россия)
Брянская государственная инженерно-технологическая академия, Брянск (Россия)

E-mail: aaacastor@gmail.com

Демографические исследования популяций древесных растений в пределах растительных сообществ позволяют оценить устойчивость потока поколений каждого вида в конкретных экологических условиях. Цель работы – выявить особенности онтогенетической структуры ценопопуляции кедра сибирского (*Pinus sibirica*) в крупнопороотниковом типе леса. Исследования проводились в темнохвойных лесах бассейна реки Большая Порожня (приток реки Печора, Печоро-Илычский заповедник), в подзоне средней тайги. К наиболее малоизученным лесным сообществам заповедника относятся крупнопороотниковые леса, занимающие хорошо дренированные участки водоразделов и склонов. В 2010 году была заложена постоянная пробная площадь размером 1 га, на которой учтены все особи кедра сибирского, начиная с im1 состояния. По общепринятым методикам определялись: онтогенетическое состояние, календарный возраст, жизненность, высота и диаметр. Для растений прегенеративного периода также отмечался микросайт (пристволовое повышение, валеж, ровная поверхность) отдельно для подкоронового и межкоронового пространств, на котором произрастает особь.

Древесный ярус этого сообщества сложен несколькими видами: елью сибирской (*Picea obovata*), пихтой сибирской (*Abies sibirica*), кедром сибирским, березой пушистой (*Betula pubescens*). Единично встречается древовидная рябина обыкновенная (*Sorbus aucuparia*). Состав древостоя (по суммам площадей поперечного сечения): 4,8ПЗ,2Е1,9К0,1Б+Р.

Исследования показали, что в этой ценопопуляции преобладают im1 особи (68,3%), половина которых произрастает на ровной поверхности в межкороновом пространстве, а остальные – на пристволовых повышениях подкоронового пространства. На долю im2 приходится 11,4%, значительная часть которых расположена на пристволовых повышениях в подкороновых пространствах, а оставшаяся – на ровной поверхности в межкороновом пространстве. Из виргинильных растений отмечено только v1 (1%) на пристволовом повышении в подкороновом пространстве. Среди генеративных особей единично встречаются растения g1 (1%) и g2 (3%), g3 – доминируют (15,2%).

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №10-04-00355.

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНА *rbcl* ХЛОРОПЛАСТОВ ИНДИКАТОРНЫХ ВИДОВ ФИТОПЛАНКТОННЫХ ОРГАНИЗМОВ

Сабиров М.С.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань (Россия)

E-mail: greencapers@yandex.ru

Оценка водоемов с помощью индикаторных видов фитопланктонных организмов неоднозначно интерпретируется различными исследователями. Противоречия по использованию индикаторных видов можно решить с помощью современных методов биоинформатики и молекулярной генетики. Молекулярный филогенетический анализ позволяет выявить эволюционные закономерности в распределении индикаторных видов в кластеры и проанализировать распределение приписанных им индексов сапробности.

Целью данной работы является филогенетический анализ индикаторных видов фитопланктонных организмов по гену хлоропластов *rbcL* (рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилаза/оксигеназа, большая субъединица), а также оценка возможности использования его в качестве маркерного гена для выявления новых индикаторных видов.

Материалы и методы. База данных индикаторных видов фитопланктона основана на списке видов из работы Макрушина А.В. «Биологический анализ качества вод». Поиск нуклеотидных последовательностей фитопланктона проводился с использованием международной базы данных GenBank. Выравнивание последовательностей выполнено в программе ClustalW2. Филогенетические деревья сконструированы с помощью пакета программ PHYLIP.

Результаты. По гену *rbcL*, кодирующего большую субъединицу белка РБФК/О, сконструированы филогенетические деревья методами максимальной экономии (31 организм) и ближайших соседей (29 организмов).

Сравнительный анализ построенных деревьев показал наличие трех идентичных кластеров. Кластеры №2, №3 с бутстреп-поддержкой более 75.0 включают организмы одной зоны сапробности.

Вывод. Филогенетический анализ по гену *rbcL* наряду с анализом индексов сапробности показал корректное использование индикаторных видов для оценки сапробности водоемов - *Nitzschia sigmaidea*, *Nitzschia palea*, *Cyclotella meneghiniana*; *Stephanodiscus hantzschii*, *Pandorina morym*, *Volvox globator*, *Eudoria elegans*, *Volvox aureus* для а- б-мезосапробной зоны. Таким образом, показана возможность использования гена *rbcL* хлоропластов в качестве маркерного для подтверждения индикаторной значимости видов в сочетании с другими генами.

Благодарность. Выражаю искреннюю благодарность моему научному руководителю, к.т.н., доценту кафедры генетики КФУ Фроловой Л.Л.

ЭКОЛОГИЯ И РАСПРОСТРАНЕНИЕ ПРЯМОКРЫЛЫХ (*ORTOPOTERA*) НАСЕКОМЫХ В КАРАКАЛПАКИИ (УЗБЕКИСТАН)

Медетов М.Ж.¹, Нуржанов Ф.А.², Нуржанов А.А.¹

¹Институт зоологии АН РУз; ²Ташкентский государственный аграрный университет, Ташкент (Узбекистан)

E-mail: nurjanov@rambler.ru

В результате наших исследований установлено, что на территории республики Каракалпакстан распространено более 90 видов. Ареалы распространения прямокрылых насекомых региона характеризуется различными экологическими ландшафтами, такими как пустыня Кызылкум, дельта реки Амударья, плато Устюрт и антропогенные ландшафты. Поэтому фаунистический состав также разнообразен. В пустынных зонах и на плато Устюрт распространены виды и подвиды, такие как *Sphingonotus halophilus*, *S. maculatus maculatus* Uv., *S. halocnemi* Uv., *S. rubescens rubescens* (Walk.), *S. elegans* Mistsh., *S. nebulosus discolor* Uv., *S. octofasciatus* (Serv.), *S. satrapes* Sauss., *S. salinus*. А также для пустынь Каракалпакии характерно распространение саранчовых *Pseudosphingonotus savignyi* Sauss., *Sphingoderus carinatus* (Sauss.), *Helioscirtus moseri moseri* Sauss., *Hyalorhipis clausi* (Kitt.), *Leptoternis gracilis* (Ev.). Видовой состав прямокрылых плато Устюрт и территории пустынь, включая пустыню Аралкум, образовавшуюся в результате высыхания Аральского моря, близки. Однако на плато Устюрт отмечается повышение численности и плотности видов. В агроландшафтах встречаются *Pyrgomorpha bispinosa deserti* B.-Bienko., *Chrotogonus turanicus* Kuthy., *Tropidopola turanica iliensis* B.-Bienko., *Calliptamus italicus italicus* (L.), *C. barbarus* (Costa), *Heteracris adspersa* (Redt.), *H. littoralis littoralis* (Ramb.), *Eyprepocnemis unicolor* S.Tarb., *Acrida oxycephala* (Pall.), *Duroniella gracilis* Uv., *Mesasippus kozhevnikovi* (S.Tarb.), *Aiolopus thalassinus thalassinus*

(Fabr.), *A. oxianus* Uv., *Hilethera turanica* Uv., *Oedipoda miniata* (Pall.), *Acrotylus insubricus insubricus* (Scop.), *Tettigonia viridissima* (L.), *T. caudata caudata* (Charp.), *Melanogryllus desertus* (Pall.), *Grylotalpa unispina* Sauss и другие виды.

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ГЕНА 16S рРНК МИТОХОНДРИЙ ИНДИКАТОРНЫХ ЗООПЛАНКТОННЫХ ОРГАНИЗМОВ

Ломаев Д.В.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань (Россия)

E-mail: tau171@rambler.ru

Одним из важных методов оценки степени загрязнённости водного объекта является определение организмов-индикаторов, обитающих в водоёме.

Целью нашей работы является филогенетический анализ гена 16S рРНК митохондрий индикаторных зоопланктонных организмов и оценка целесообразности его использования в качестве маркерного гена для выявления индикаторных видов.

Материалы и методы. Материалом для анализа послужил список индикаторных видов зоопланктонных организмов из работы Макрушина А.В. «Биологический анализ качества вод», для обработки последовательностей гена организмов использованы стандартные методы биоинформатики.

Результаты. В работе проанализированы филогенетические деревья, сконструированные по последовательностям гена 16S рРНК с помощью методов максимальной экономии (60 организмов) и ближайших соседей (58 организмов). У рассмотренных организмов данный ген отвечает за синтез рибосом митохондрий. Сравнительный анализ деревьев показал наличие 8 кластеров, из них 4 кластера полностью идентичны, остальные имеют частичную гомологию. Организмы, объединённые в кластере № 1, имеют различные показатели сапробности. Аналогичные результаты получены для кластеров №№ 1, 2, 3, 4, 8. Виды зоопланктона, сгруппированные в остальных шести кластерах, относятся к индикаторным видам сходных экологических условий.

Вывод. Филогенетический анализ зоопланктонных организмов по гену 16S рРНК и анализ степеней их сапробности показали целесообразность использования данного гена как маркерного для следующих видов: *Acroloxus lacustris*, *Ancylus fluviatilis*, *Valvata piscinalis*, *Planorbis planorbis*, *Lymnaea stagnalis*, *Stagnicola palustris*, *Physa fontinalis*, *Theodoxus fluviatilis*, *Bithynia tentaculata*, *Unio pictorum*, *Unio crassus*, *Unio tumidus*, - являющихся индикаторами б-мезосапробной зоны.

Благодарность. Выражаю благодарность научному руководителю, к.т.н., доценту кафедры генетики КФУ Фроловой Л.Л.

ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ЛЕСНОГО МАССИВА В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ: ПОИСК ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ

Хукаленко Е.С., Горшкова Т.А.

Обнинский институт атомной энергетики Национального исследовательского ядерного университета «МИФИ», Обнинск (Россия)

E-mail: tgorshkova@yandex.ru

В центре г. Обнинска с населением 106 тыс. жителей находится крупный лесной массив «Гурьяновский лес», окруженный автотранспортными дорогами и активно используемый жителями города в качестве рекреационной зоны. Как было показано в предыдущих исследованиях данной территории, автотранспортная нагрузка сказывается на лишенофлоре и на изменении показателя флуктуирующей асимметрии листьев. А на состав и структуру растительных сообществ в большей степени влияет рекреационная нагрузка, которой было уделено основное внимание в данной работе.

Оценку экологического состояния лесных растительных сообществ на территории лесного массива «Гурьяновский лес» в условиях рекреационной нагрузки производили с помощью

анализа геоботанических описаний на территории 45 растительных сообществ, для которых оценивали также стадию рекреационной дигрессии и состояние древостоя, рассчитывали индекс видового многообразия Шеннона, показатель выравненности видов по Пиелу, долю отдельных групп видов растений в составе и структуре сообществ.

Наблюдала тенденцию к ухудшению состояния древостоя и снижению индекса Шеннона в травяно-кустарничковом ярусе при увеличении стадии рекреационной дигрессии фитоценоза. Выравненность видов травостоя у сообществ на второй, третьей и четвертой стадиях рекреационной дигрессии оказалась очень схожей. Виды достаточно равномерно распределены на территории данных фитоценозов.

Анализ проективного покрытия видов травянистого яруса, относящихся к различным эколого-ценотическим группам, показывает, что в области с высокой степенью рекреационной дигрессии как правило уменьшается доля травостоя, характерного для данной эколого-ценотической группы, появляется большое количество видов, характерных для луговых и рудеральных сообществ, что свидетельствует о нарушении хода развития сообщества.

Мониторинг экологического состояния лесного массива, являющегося «легкими города» и рекреационной зоной как в летнее, так и в зимнее время, является необходимым при разработке мер, направленных на его охрану и рациональное использование.

СПОСОБ ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ ОТХОДОВ ЖИВОТНОВОДСТВА И ПОЛУЧЕНИЕ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОГО БИОПРЕПАРАТА ДЛЯ РАСТЕНИЕВОДСТВА

Блинова П.А.

Национальный исследовательский Томский государственный университет,
Томск (Россия)

E-mail: blinova4061990@mail.ru

Одним из основных способов биологической очистки сточных вод животноводческих предприятий является использование активного ила. Он накапливается в очистных сооружениях в больших количествах и возникает проблема его переработки. Дальнейшая утилизация активного ила часто связана с применением в растениеводстве в качестве удобрения, это обусловлено большим содержанием в нем биогенных элементов. Однако внесение активного ила и осадков сточных вод в почву без предварительной обработки является неприемлемым из-за наличия в нем патогенных микроорганизмов, яиц гельминтов, а также простейших, которые длительное время сохраняют жизнеспособность, что создает угрозу рассеивания инфекционного начала в природе. Наиболее распространенными способами обеззараживания подобного рода отходов является длительное компостирование или обеззараживание химическими веществами с дальнейшим компостированием. Очевидно, что оба предложенных метода весьма трудозатратны и требуют длительного времени.

Нами предложен способ обеззараживания активного ила химическими веществами, которые в используемых концентрациях способствуют практически полной элиминации патогенной микробиоты и предотвращают дальнейшую реактивацию, с последующей интродукцией в обеззараженный ил бактериальных штаммов, способных утилизировать органическое токсичное соединение. Таким образом, сокращается время, пошедшее на утилизацию при сохранении и увеличении экологической безопасности полученного органоминерального удобрения. Возможность применения бактерий, прошедших также скрининг на положительные для роста и развития сельскохозяйственных культур свойства, в целом значительно улучшает его качество. Примером может служить обработка активного ила формальдегидом, с последующей интродукцией в него штамма бактерий *Pseudomonas* sp. В-6798. Это штамм непатогенных факультативно метилотрофных бактерий, способных использовать формальдегид в составе минеральных питательных сред в качестве единственного источника углерода и энергии, а также способствующих росту растений и защите их от фитопатогенов за счет выработки ряда соединений, среди которых витамины группы В, ауксины, сидерофоры.

ВОЗДЕЛЫВАНИЕ ОДНОЛЕТНИХ ТРАВ С УЧЕТОМ ПОЧВЕННЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ БЕЛОРУССКОГО ПОЛЕСЬЯ

Шепелюк Ю.С., Сорока А.В.

Полесский аграрно-экологический институт НАН Беларуси, Брест (Беларусь)

E-mail: yulia_k_s@mail.ru

Для повышения урожайности однолетних трав в условиях Белорусского Полесья необходимо, в первую очередь, рациональный выбор почвы. Для однолетних трав наиболее подходят следующие осушенные почвы: торфяные, торфяно-минеральные и дерново-заболоченные. Использование данных почв позволяет получить самую высокую и стабильную урожайность.

В наших исследованиях возделывание просовидных культур в 2010 году на более увлажненных и плодородных почвах способствовало увеличению продуктивности на 25,7–53,6% относительно недостаточно увлажненной песчаной дерново-подзолистой почвы.

При возделывании однолетних трав на силос, чтобы получить высокий урожай в засушливых условиях на легких почвах, предпочтение необходимо отдавать пайзе. Данная культура, по результатам наших исследований, в фазу начала выметывания превосходила горохоовсяную смесь (горох – фаза плодообразования, овес – фаза молочной спелости) на 15,1–18,3% по урожайности зеленой массы.

Для получения зеленого качественного корма и высокой отавности на торфяных и торфяно-минеральных почвах просо и пайзу целесообразнее скашивать перед фазой выметывания. В условиях дерново-подзолистой песчаной почвы, отличающейся невысоким плодородием, для повышения урожайности просовидных культур оптимальной фазой для уборки на зеленый корм является фаза полного выметывания.

ВИДОВОЙ СОСТАВ ИХТИОФАУНЫ ПРУДОВ БАССЕЙНА РЕКИ КАМА

Шелепаев О.А.

Пермский государственный университет, Пермь (Россия)

E-mail: shelepaev-oleg@yandex.ru

По обеспеченности водными ресурсами Пермский край занимает первое место на Урале. Так, по данным инвентаризации 2003-2008 гг. на территории Пермского края имеется 1368 водохранилищ и прудов.

Наибольшее внимание исследователей всегда привлекали более крупные водные объекты, в то время как малые и средние, зачастую, оставались малоизучены. Целью работы было выявление взаимосвязи видовой структуры ихтиофауны малых и средних водохранилищ с факторами среды.

Объектом исследования был выбран ряд прудов бассейна р. Кама: Мотовилихинский, Верхнезырянский, Нижнезырянский, Нытвенский, Павловский, Григорьевский, Очерский, Суксунский, Лысьвенский пруды и пруды бассейна р. Пыж: Гамовский, пруды №3, №6 и пруд «Большое сердце».

Для оценки степени сходства видовой структуры разных водоемов использовался индекс видовой структуры Чекановского-Сьеренсена. Наибольшее сходство было характерно для прудов, находящихся в одном каскаде. Кроме того, в прудах, находящихся выше по течению, видовое разнообразие оказалось выше, по-видимому, из-за того, что там встречаются виды рыб как реофильного, так и лимнофильного комплексов. Согласно результатам корреляционного анализа, число видов в водоеме сильнее всего связано с площадью водоема.

Выводы:

1. При каскадном расположении крупных прудов наиболее богатая ихтиофауна представлена в пруду, который расположен выше по течению, что связано с присутствием в нем рыб как реофильного, так и лимнофильного комплексов.
2. Наибольшее влияние на видовой состав ихтиофауны пруда оказывают площадь водоема, время его существования и порядок притока.
3. При высокой степени антропогенной нагрузки, в большей степени выражены количественные, а не качественные изменения ихтиофауны.

МНОГОЛЕТНИЙ АНАЛИЗ ПИТАНИЯ УШАСТОЙ СОВЫ (*ASIO OTUS L.*) НА МОДЕЛЬНОЙ ЗИМОВКЕ В Г. МОСКВЕ

Макарова Т.В., Шариков А.В.

Московский педагогический государственный университет, Москва (Россия)

E-mail: tvmakarova22@gmail.com

Исследование модельной зимовки ушастых сов в г. Москве, в парке «50-летия Октября», проведенное в 2001–2010 гг. показало, что кормовая база сов в зимний период весьма разнообразна. Материалы по питанию собирались еженедельно в течение всего зимнего сезона. При анализе содержимого погадок выявлено, что $93,5 \pm 1,4\%$ жертв составили 5 видов мышевидных грызунов. Во все годы исследования в питании сов на модельной зимовке доминировала обыкновенная полевка (*Microtus arvalis*) – $66,1 \pm 7,1\%$. Существенную долю в рационе составляли малая лесная мышь (*Apodemus uralensis*) – $10,7 \pm 2,3\%$ и серая крыса (*Rattus norvegicus*) – $8,7 \pm 2,3\%$. Кроме того, жертвами сов становились 2 вида насекомоядных ($0,7 \pm 0,5\%$) и 15 видов воробьинообразных птиц ($5,8 \pm 1,1\%$).

Обнаружено влияние доли основного кормового объекта в рационе сов на видовое разнообразие и выравненность спектра питания в целом. Также выявлена специфика перехода сов на альтернативные корма. В условиях снижения доступности вида-доминанта возрастает роль малой лесной ($r_s = -0,71$, $p < 0,05$) и серой крысы ($r_s = -0,59$, $p < 0,05$) как замещающих кормовых объектов. Таким образом, несмотря на то, что в пище сов появляются другие мышевидные грызуны, землеройки и птицы, предпочтение отдается именно этим двум видам.

Спектр питания и соотношение отдельных видов не оставались постоянными в разные годы исследования. При рассмотрении динамики изменения коэффициентов видового разнообразия и выравненности в течение зимы выявлено снижение разнообразия жертв в питании ушастой совы в середине зимы. Значения этого параметра к концу сезона заметно возросли, в том числе, в сравнении с началом зимовки. Соответственно обратные соотношения характерны для выравненности зимнего спектра питания.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ МЕЛКОДИСПЕРСНЫХ ЧАСТИЦ В ВЫХЛОПАХ ДИЗЕЛЬНОГО ТОПЛИВА

Чудинова М.А., Аликина Е.Н., Уланова Т.С.

Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления
рисками здоровью населения Роспотребнадзора, Пермь (Россия)

E-mail: chudinova5488@mail.ru

Даже ничтожное количество токсичных веществ в виде аэрозолей резко снижает качество атмосферного воздуха. Более 10% всех болезней и смертельных исходов в городах напрямую связано с вредным действием природных и антропогенных аэрозолей.

Главными причинами образования вредных аэрозолей являются промышленные выбросы, а также выбросы автомобильного транспорта, которые содержат мелкодисперсные частицы, образующиеся при сгорании автомобильного дизельного топлива. Эти частицы крайне малы, их чрезвычайно много, поэтому их суммарная поверхность очень велика.

Определение содержания мелкодисперсных частиц непосредственно в выхлопах автомобилей и атмосферном воздухе сейчас является актуальным. Наиболее перспективным представляется определение общего содержания мелкодисперсных частиц, а также их дисперсный состав.

Исследования по определению содержания мелкодисперсных частиц проводится на анализаторе размеров частиц LB-550 (Horiba) методом динамического рассеяния света. Наибольшую трудность вызывают стадии пробоотбора и пробоподготовки. Пробы выхлопа отбираются на бумажные или мембранные фильтры с помощью аспираторов. После отбора проб и высушивания фильтров в зависимости от поставленных целей и условий анализа уловленные частицы либо смываются с фильтра, либо фильтр полностью растворяется в подходящем органическом растворителе. Полученный таким образом раствор и распределенная

в нем дисперсная фаза исследуется на приборе. Преимуществом прибора является то, что для анализа необходим малый объем раствора пробы.

На сегодняшний день при использовании бумажных фильтров обнаружены частицы размером 0,3-10,0 мкм, т.е. частицы с аэродинамическим диаметром менее 10 мкм (PM₁₀), которые представляют высокую канцерогенную опасность для здоровья населения.

Такие частицы не задерживаются, как, например, крупные при вдохе органами дыхания человека, а сразу попадают в легкие и кровяное русло, где острыми краями травмирует слизистую оболочку, что приводит к заболеванию пневмокониозами. Частицы такого размера служат причиной повышения смертности от сердечно-сосудистых заболеваний.

ОСОБЕННОСТИ НЕКОТОРЫХ БИОТИЧЕСКИХ КОМПОНЕНТ АГРОЭКОСИСТЕМЫ В УСЛОВИЯХ АДАПТИВНО-ЛАНДШАФТНОГО ЗЕМЛЕДЕЛИЯ

Николаева Т.Г.

Институт проблем экологии и недропользования Академии наук Республики Татарстан,
Казань (Россия)

E-mail: nikolaeva_tg@mail.ru

Цель работы заключалась в изучении видового богатства фитоценозов, фауны и экологии долгоносикообразных жуков-фитофагов агроэкосистемы в условиях адаптивно-ландшафтной беспестицидной системы земледелия на севере лесостепи Приволжской возвышенности. Сбор материала проводился в полевой сезон 2009 г. стандартными методами в СХПК «Ленинская искра» Ядринского района Чувашской Республики. Флористический состав исследуемой агроэкосистемы представлен 203 видами сосудистых растений из 51 семейства и 140 родов. Наибольшей оригинальностью (28,57% и 21,29%) с высокими значениями концентрации видового богатства фитоценозов (58,62% и 53,20% соответственно) отличается комплекс прибрежно-водных биотопов и зарастающие участки полей возле сосново-широколиственного леса в связи с выраженным эффектом экотона и протекающими сукцессионными процессами. Видовое разнообразие и мозаичное расположение фитоценозов в агроэкосистеме способствовало формированию оптимальных условий для развития различных групп насекомых. Выявлен 151 вид Curculionoidea Latreille из 7 семейств, 13 подсемейств, 39 триб и 74 родов, что составляет почти 30% фауны долгоносикообразных жуков республики и в 1,7-2,4 раза превосходит фауну Curculionoidea Latreille при традиционной системе земледелия, уступая лишь в 1,5 раза фауне природно-естественных комплексов. Выявлено 3 новых и 8 редких видов Curculionoidea Latreille для фауны республики. Ядро фауны агроэкосистемы составляют преимущественно политопные эврибионтные виды родов *Sitona* Germar, *Protapion* Schilsky, *Eutrichapion* Reitter, *Oxystoma* Dumeril, *Hypera* Germar, *Ceutorhynchus* Germar. Зарегистрировано 19 видов вредоносных Curculionoidea Latreille бобовых и плодово-ягодных культур, составляющих 20% по численному обилию в сборах. Доля каждого из этих видов в сборах, согласно общеевропейской шкале численного обилия Ренконена, соответствует редким и субдоминантным видам. Следовательно, степень вредоносности данных видов в изучаемой агроэкосистеме незначительна. Таким образом, адаптивно-ландшафтная беспестицидная система земледелия способствует сохранению биоразнообразия и устойчивому развитию агроэкосистемы.

Автор благодарен Л.В. Егорову (ЧГПУ), Б.А. Коротяеву (ЗИН РАН), М.Ш. Сибгатуллиной (ИПЭН АН РТ) за содействие в определении материала.

ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА ПОВЕДЕНИЯ И ЕГО СИНХРОНИЗАЦИИ У КРОЛЬЧАТ В ПРЕПУБЕРТАТНЫЙ ПЕРИОД ПРИ СОДЕРЖАНИИ С МАТЕРЬЮ И БЕЗ

Федосов Е.В.

Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва (Россия)

E-mail: vbf_mva@mail.ru

Механизмы влияния матери (М) на рост крольчат (К) в период от 1-го до 3-х мес. представляют теоретический и практический интерес, так как период адаптации К после отъема от М в условиях промышленного кролиководства характеризуется повышенным риском заболеваний.

Цель работы - изучение влияния М на поведение К в препубертатный период.

Методика. К содержались по трое (три группы с М, две без нее) начиная с 1-мес. до 3-мес. возраста. Проводилась видеозапись поведения 2 раза в неделю по два часа (всего 149 часов). Видеоматериал (по 15 минут от каждого дня наблюдений) анализировался с помощью компьютерных программ The Observer, Excel.

Результаты, обсуждение. На основе полученных данных для групп с М и без нее построены: графики возрастной динамики поведения (отдельно для нейтрального, кормового, комфортного, игрового, агрессивного классов поведения) для каждого животного; диаграммы, отражающие возрастную динамику синхронизации поведения в группах и вклад каждого животного как инициатора синхронного поведения (по классам поведения); диаграммы, показывающие состав, соотношение элементов поведения М в контактах с К и элементов поведения К в контактах с М.

В группах с М и без нее для возрастной динамики характерны колебания значений продолжительности поведения всех классов на протяжении периода наблюдений, однако они происходили синхронно для разных животных.

Инициатором синхронизации поведения в группах с М и без нее мог быть любой из К и М, при этом вклад каждого животного значительно варьирует на протяжении периода наблюдений.

Среди контактов М и К преобладали нейтральные взаимодействия, игровые контакты исходили только со стороны К, агрессивные отсутствовали, отмечалось подавление М агрессии между К, сохраняется поведение К направленное на сосание матери.

СУТОЧНАЯ И СЕЗОННАЯ АКУСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СЕРОЙ НЕЯСЫТИ И ВОРОБЬИНОГО СЫЧА В ЮЖНОМ ПОДМОСКОВЬЕ

Шеховцов С.М, Шариков А.В.

Московский педагогический государственный университет, Москва (Россия)

E-mail: schehovcov@gmail.com

Исследования выполнены на биогеоэкологической станции «Малинки» ИПЭЭ РАН, расположенной на границе Подольского и Нарофоминского районов Московской области. С 2001 по 2010 год в весенний и осенний период регулярно проводились точечные и маршрутные учеты с воспроизведением фонограмм. Для серой неясыти, как строго ночного хищника, характерно два пика акустической активности: первый, непродолжительный, наступает через полчаса после захода солнца и второй, основной, длится с трех до пяти часов после захода солнца. Для воробьиного сыча, ведущего сумеречный образ жизни, характерен узкий период вечерней акустической активности. Он начинается за час до захода солнца и продолжается два часа, причем пик активности начинается сразу после захода солнца и длится около 45 минут. Весенняя акустическая активность серой неясыти в южном Подмоскowie начинается с начала марта и завершается в начале июня. Период максимальной голосовой активности приходится на конец марта и продолжается до конца апреля. Осенняя акустическая активность неясыти начинается в середине сентября и заканчивается в начале декабря и не имеет четкого периода максимальной вокализации. Весенняя голосовая активность воробьиного сыча длится с середины февраля по конец мая. Период максимальной голосовой активности приходится на весь март. Осенняя вокализация продолжается два месяца: с середины сентября по середину ноября, с максимальной активностью в течение октября. В работе также рассмотрены зависимости между началом весенней вокализации этих видов сов и факторами среды (температура, высота снежного покрова, численность сов, состояние кормовой базы).

ФОРМИРОВАНИЕ ПАСТБИЩНЫХ ТРАВСТОЕВ В ПЕРВЫЙ ГОД ЖИЗНИ НА ПОЧВАХ С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ ЗАБОЛОЧЕННОСТИ

Сорока А.В., Казимирчик З.А.

Полесский аграрно-экологический институт НАН Беларуси, Брест (Беларусь)

E-mail: zoya1985@tut.by

Основным направлением европейского луговодства является подбор пастбищных травосмесей на основе клевера ползучего. Наибольшая урожайность достигается при соотношении злакового компонента и клевера 50/50%. Его можно добиться только при благоприятных погодных условиях. При засухе клевер ползучий сильно страдает и доля его урожая в смеси падает. Поэтому проблема выбора почвы для повышения конкурентной способности бобового компонента актуальна.

Наши опыты были заложены в 2010 году на трех типах почв ГУСП «Племзавод Мухавец» Брестского района: дерново-подзолистая песчаная почва, дерново-заболоченная и антропогенно-преобразованная (осушенная торфяно-минеральная обычная слабоминерализованная). Исследования проводились на бобово-злаковом травостое (клевер ползучий, райграсс пастбищный, фестулолиум, овсяница луговая и красная) первого года жизни с нормой высева: клевер ползучий – 6 млн. всхожих семян на 1 га и злаковые травы – 12 млн. всхожих семян на 1 га.

В год исследования наблюдался недостаток осадков в июне-июле, что сказалось на урожайности и долевом участии клевера ползучего в этот период.

Наши исследования показали, что наиболее пригодной для пастбищных клеверо-злаковых травостоев первого года жизни является антропогенно-преобразованная почва. В период вегетации за 4 цикла стравливания урожайность зеленой массы и сухого вещества составила 331,6 ц/га и 62,4 ц/га соответственно. На дерново-заболоченной почве она была ниже на 25,1% и 20,5% соответственно. Долевое участие клевера в урожае на данной почве снизилось с 31,2% до 13,7% из-за недостатка влаги в период вегетации. Низкая продуктивность зеленой массы (80,4 ц/га) и сухого вещества (16,2 ц/га) отмечалась на неплодородных дерново-подзолистых песчаных почвах. Продуктивность пастбищной травосмеси на данной почве формировалась за 2 цикла стравливания в августе и сентябре (более увлажненные месяцы). Участие клевера ползучего в урожае было незначительно и составило 6,5%.

БИОИНДИКАЦИОННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПОЧВЕННЫХ ПРО- И ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ ВОДОРΟΣЛЕЙ

Темралева А.Д.

Учреждение Российской академии наук Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пущино (Россия)

E-mail: temraleeva.anna@gmail.com

Для оценки качества почвы используются два принципиально разных подхода: физико-химический и биологический. Последний развивается в рамках биомониторинга, в задачи которого входит регулярно проводимая оценка качества окружающей среды с помощью живых объектов. Биологический подход незаменим, если есть проблемы с измерением, оценкой и интерпретацией антропогенного воздействия. В настоящее время, про- и эукариотические водоросли широко используются для оценки состояния почвы. Критериями выбора почвенных водорослей как биоиндикаторов являются простота, быстрый ответ, надежность и широкие мониторинговые возможности.

В нашей работе была изучена реакция про- и эукариотических водорослей серой лесной почвы в ответ на внесение свинца по изменению показателей на клеточном уровне (концентрация хлорофилла), организменном уровне (морфологические изменения особей) и ценолитическом уровне (общее и таксономическое обилие, видовой состав водорослей). Показано, что биоиндикация на клеточном и организменном уровнях позволяет выявить ранние нарушения в функционировании водорослей, обладает высокой чувствительностью и быстрым откликом на воздействие. Однако, именно на более высоком уровне организации

(биоценотический уровень) – косвенные и неспецифические показатели дают комплексную оценку токсического влияния на экосистему в целом.

НЕКОТОРЫЕ ДЕМОГРАФИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ СЕВЕРНОЙ БОРМОТУШКИ (*HIPPOLAIS CALIGATA*) В СЕВЕРО-ЗАПАДНОЙ ЗОНЕ АРЕАЛА

Федотова С.Е.

Московский педагогический государственный университет, Москва (Россия)

E-mail: s-tka@yandex.ru

Северная бормотушка – малоизученный вид воробьиных птиц, в настоящее время активно расширяющий свой ареал. Наше исследование проведено на северо-западной периферии ареала вида на территории национального парка «Русский север» (Кирилловский р-н Вологодской области) в 2005 -2010 гг. На участке заброшенных сельскохозяйственных земель (270 га) ежегодно проводили поиск гнезд, а также отлов и кольцевание взрослых птиц. Найденные гнезда контролировали в течение всего сезона размножения. Успешность размножения (nest success), ежедневную вероятность выживания гнезд (daily survival rate) и ежегодную сохраняемость взрослых птиц (apparent survival) определяли с помощью стохастических моделей. Для расчетов использовали программу Mark 6.0. Прослежена судьба 178 гнезд бормотушки, окольцовано 200 взрослых птиц (99 самцов и 101 самка), в последующие годы вернулось 12 бормотушек (7 самцов и 5 самок).

Средняя за сезон успешность размножения колебалась от 4% (2008) до 78% (2009). Основным фактором, влияющим на успех размножения, было хищничество. Минимальные показатели успешности размножения были отмечены в годы с холодной и сухой весной, когда замедленное развитие травостоя делало гнезда легко доступными для кормящихся на полях врановых. В годы с высоким успехом размножения выживаемость гнезд нелинейно снижалась в течение гнездового сезона, что связано с повышением пресса со стороны куньих и обыкновенной гадюки. Гнезда с птенцами разорялись чаще, чем гнезда с кладками. Незначительное влияние на вероятность выживания гнезда оказывала суточная сумма осадков. Установлена достоверная связь между сохраняемостью взрослых птиц и успешностью их размножения: на следующий год после неудачного размножения подавляющее большинство бормотушек не возвращалось на места гнездования.

ХАРАКТЕР РАСПРЕДЕЛЕНИЯ МЕЛКИХ СОКОЛОВ И ЧЕРНОЛОБОГО СОРОКОПУТА В ПОЛУПУСТЫННОМ ЗАВОЛЖЬЕ

Сухолозов Е.А.

Московский педагогический государственный университет; Государственный биологический музей им. К.А. Тимирязева, Москва (Россия)

E-mail: e.sukholozov@mail.ru

Разнообразие авифауны и её динамика в полупустынном Заволжье достаточно изучена на примере Джаныбекского стационара. Однако характер распределения древесногнездящихся видов в различных насаждениях этого региона не отмечался.

В ходе исследований древесно-кустарниковых насаждений полупустынного Заволжья в 2009–2010 годах особое внимание было уделено характеру пространственного распределения многочисленных обычных видов для этого региона – мелких соколов (кобчик (*Falco vespertinus* L.), обыкновенная пустельга (*Falco tinnunculus* L.) и чернолобого сорокопута (*Lanius minor* Gm.)). Все гнёзда указанных видов картировались с помощью GPS навигатора. Были исследованы сады урочищ и у посёлков, а также придорожные лесополосы. Характер распределения определялся методом «ближайшего соседа». Минимальные расстояния между гнёздами птиц в различных насаждениях сравнивались F-критерием Фишера.

Всего было проанализировано расположение 250 гнёзд чернолобого сорокопута и 78 гнёзд соколов.

Характер распределения гнёзд в лесополосах для сорокопутов и кобчиков случайный, для пустельги - равномерный. В целом для соколов – случайный. В садах сорокопуть размещают свои гнёзда случайным образом достоверно ближе ($p=0,05$). При вселении новых гнездящихся пар поселение становится групповым, формируются полуколонии контагиозного типа. Характер распределения соколов при гнездовании в садах не изменяется, но расстояния достоверно уменьшается.

Таким образом, при уменьшении гнездопригодного пространства у чернолобых сорокопутов характер пространственного распределения может изменяться со случайного на групповой. Мелкие сокола сохраняют характер распределения гнёзд, но селятся ближе друг к другу.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ПРОБЛЕМА ФИЛОГЕНОГЕОГРАФИИ ТИХООКЕАНСКОГО ЛОСОСЯ (КЕТЫ)

Животовский Л.А., Малинина Т.В., Трахолисова М.А.

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва (Россия)

E-mail: to_lazy_ninja@mail.ru

Целью данной работы явилась оценка уровня полиморфизма мтДНК кеты как маркера для идентификации региональной принадлежности смешанных морских скоплений с учетом географических данных.

В работе использовали образцы тканей тихоокеанских лососей, собранные в разные года на о-вах Итуруп, Кунашир, Сахалин (Ясноморский РЗ, Охотский РЗ) и на п-ове Чукотка; общее количество включенных в генетический анализ особей составило 226 экземпляров.

Тотальную ДНК выделяли из ткани плавника с использованием готовых наборов Diatom DNA Prep 200 (ООО «Лаборатория Изоген») при помощи метода протеиназного гидролиза. Для наработки необходимого количества нужного фрагмента мтДНК (ND5ND6) использовали метод ПЦР. Амплификацию проводили в термоциклере MJ Research PTC-100.

Изменчивость структуры участка мтДНК исследовали, используя рестрикционный анализ фрагмента ND5/ND6 набором рестриктных ферментов: Dde I, Hinf I, Vsp I, Rsa I (СибЭнзим, Россия).

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакетов компьютерных программ GDA, REAP а так же STATISTICA 6 и Network.

В ходе проделанной работы нами были выявлены шесть комбинированных гаплотипов для фрагмента ND5ND6 мтДНК, характерных для всех исследованных популяций кеты. При анализе этих гаплотипов обнаружены достаточно высокие показатели гаплотипического и нуклеотидного разнообразия для большинства изученных популяций за исключением выборок с о. Сахалин. В то же время, у сахалинских популяций гораздо ярче выражены различия между особями из выборок, относящихся к разным побережьям острова, что можно было ожидать, учитывая особенности заводского разведения.

Генетическая изменчивость южных совокупностей кеты описывается только внутрипопуляционными различиями.

Гаплотипическая (филогенетическая) сеть, построенная по принципу минимального числа нуклеотидных замен объединяет все изученные популяции в единую замкнутую (циклическую) структуру, что свидетельствует об их родственных и исторических связях.

ВЛИЯНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МИКРОКЛИМАТА НА ЗДОРОВЬЕ РАБОТНИКОВ ПРЕДПРИЯТИЯ (НА ПРИМЕРЕ СВИНОВОДЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА)

Дутова А.Н.

Томский государственный университет систем управления и радиоэлектроники,
Томск (Россия)

E-mail: alla-16-23-88@mail.ru

Микроклимат помещения – это состояние внутренней среды помещения, оказывающей непосредственное воздействие на организм человека.

Необходимым и обязательным условием эффективной производственной деятельности человека является обеспечение нормальных метеорологических условий, т.е. микроклимата.

Актуальность выбранной темы связана с тем, что микроклимат оказывает существенное влияние на организм человека, тем самым воздействуя на его работоспособность. На рассматриваемом предприятии – Свиноводческий комплекс, главная проблема - воздействие на здоровье работников вредных газов таких, как аммиак.

Например, при перегреве возможны потеря сознания и летальный исход, при переохлаждении – замерзание.

Цель работы – изучение влияния показателей микроклимата на здоровье персонала предприятия.

Для поставленной цели необходимо проведение мониторинга фактических показателей микроклимата в цехах предприятия, а также в офисных помещениях. В качестве показателей микроклимата исследовались: температура воздуха, относительная влажность воздуха, скорость движения воздуха и значение концентрации аммиака.

Данные мониторинга позволяют сделать следующие выводы:

1. показатели микроклимата в животноводческих цехах и в офисных помещениях соответствуют нормативам.

2. в качестве рекомендаций следует отметить необходимость проведения мониторинга фактических показателей микроклимата. Внедрение новой системы вентиляции, основанной на принципе обратного давления. И использование системы озонной очистки навозных стоков, что позволит избавиться от неприятного запаха и производить бесплатную энергию.

ВЛИЯНИЕ УПРУГО-ДЕФОРМАЦИОННЫХ СВОЙСТВ ГУСТОСШИТЫХ ПОЛИМЕРОВ НА ЭКОЛОГИЧНОСТЬ ИХ ПЕРЕРАБОТКИ

Косарев А.В.

Саратовский государственный технический университет, Саратов (Россия)

E-mail: aleteia@inbox.ru

Оценка взаимосвязей «упруго-деформационные свойства-экологичность» и выявлении влияния на них структурного фактора является одним из важнейших направлений современной химической технологии. Это обусловлено существенной ролью учета параметров структуры в изучении проблем экологичности синтеза и эксплуатации полимерного материала. Целью настоящей работы является определение методом статистической термодинамики взаимосвязи упруго-деформационных и экологических характеристик процесса разрушения сетчатого полимера.

Предлагаемая нами теоретическая модель позволяет учесть влияние изменения структуры ячейки сшитого полимера на его упруго-деформационные свойства и экологичность его переработки. В рамках векторно-координатного подхода нами были получены параметры, характеризующие конфигурацию ячейки полимерной системы и угловые функции разрыва олигомерных цепей в результате их растяжения при статическом изгибе. Найденные соотношения позволили нам получить взаимосвязи термодинамических функций деформации полимера со структурными параметрами. Анализ полученных соотношений в рамках деформационно-механического подхода позволил оценить такие важные с точки зрения экологичности полимерных систем параметры, как работа разрушения полимера и разрушающее напряжение. Результаты расчета по предложенной модели показали соответствие с экспериментальными данными.

Работу разрушения ΔA при кратковременных воздействиях можно использовать для оценки ударной вязкости материала. В процессе отверждения исходных олигомерных смол средняя масса межузловых цепей уменьшается, что сопровождается увеличением хрупкости материала и снижением его ударной прочности. Ударная прочность значительно уменьшается при охлаждении материала до температур ниже температуры хрупкости. На этом основана утилизация неплавких и нерастворимых сетчатых полимеров с целью получения диспергированных систем, используемых в качестве наполнителей композиционных материалов. Указанная утилизация вторичных сетчатых полимеров является единственным доступным средством их переработки. Полученные результаты имеют большое значение в

решении широкого круга задач прикладной экологии, связанных с переработкой и вторичным использованием полимерных материалов.

ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ЗЕЛЕННЫХ НАСАЖДЕНИЙ ВОДООХРАННОЙ ЗОНЫ ВОРОНЕЖСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

Михеева М.А.

Воронежский государственный университет, Воронеж (Россия)

E-mail: marin-m@yandex.ru

Основной планировочной осью г. Воронежа является водохранилище, которое разделяет город на две части – правобережную и левобережную. Озеленение водоохраных зон искусственных водоемов должно проводиться для защиты от заиления и загрязнения, ослабления испарения с водной поверхности и улучшения санитарно-гигиенических условий.

Бульвары и набережные как линейные элементы создают условия непрерывности городской системы озеленения. На левобережье Воронежского водохранилища преобладают сосновые насаждения. На правобережье нами обследованы следующие набережные: М. Горького, Массалитинова, Петровская, Солодовникова, протяженностью более 9 км. Было выявлено, что наиболее распространенными древесными породами являются представители рода *Salix* и *Populus*. Так, на набережной М. Горького 70% составляют гибридные тополя с пирамидальной формой кроны, встречается также *Salix alba* L., *S. fragilis* L., *S. acutifolia* Willd., *S. viminalis* L., *S. purpurea* L. и ряд других. Различные ивы приурочены в основном к урезу воды, тополя же преобладают на некотором удалении.

Наиболее благоустроенной и часто посещаемой является Петровская набережная. Здесь произрастает помимо ив и тополей ряд других видов: *Betula pendula* Roth., *Cotinus coggygria* Scop., *Sorbus aucuparia* L., *Catalpa bignonioides* Walt., *Acer platanoides* L., *A. negundo* L., *A. saccharinum* L., *Ulmus pinnato-ramosa* Dieck., *Robinia pseudoacacia* L., *Tilia cordata* Mill. и другие.

Проведенный нами анализ состояния набережных сосредоточенных вдоль Воронежского водохранилища, показал, что лишь некоторые в полной мере выполняют экологические и социальные функции. Остальные представляют насаждения «хаотичного типа», с отсутствием надлежащего санитарного ухода и не пригодны для рекреационного использования (набережные Массалитинова, Чуева, Солодовникова). Территория набережных М. Горького и Петровская подвержены активному влиянию жилищного строительства, созданию частных пристаней в водоохранной зоне.

РЕАЛИЗАЦИЯ БИОМАТЕМАТИЧЕСКОГО ПОДХОДА ДЛЯ ЭКСПРЕСС- ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ БИОЦЕНОЗА АКТИВНОГО ИЛА

Балымова Е.С., Ахмадуллина Ф.Ю., Закиров Р.К.

Казанский государственный технологический университет, Казань (Россия)

E-mail: elena-balymova@rambler.ru

На сегодняшний день в условиях нарушенного экологического равновесия возрастают требования к эффективности работы очистных сооружений, что возможно при условии обеспечения четкого контроля работы действующих биостанций.

Высокая чувствительность метода биологической очистки сточных вод к условиям внешней среды, особенно к токсичным соединениям и ксенобиотикам, обуславливает необходимость прогнозирования состояния смешанной популяции микроорганизмов активного ила для управления процессом водоочистки. Для этого перспективно использование биологических методов контроля состояния биоценоза активного ила.

Целью настоящей работы являлось установление количественных взаимосвязей между химическими и технологическими показателями функционирования системы биоочистки и состоянием индикаторных микроорганизмов, а также флокул ила.

Объектом исследования являлся активный ил сточных вод производств органического синтеза, функционирующего в условиях продленной аэрации.

Предмет исследования – изучение влияния основных экотоксикантов (фенол, неионогенные синтетические поверхностно-активные вещества) и кислород потребляющих веществ на состояние микроорганизмов смешанной популяции активного ила.

В работе осуществлялась качественная и количественная оценка состояния биоценоза активного ила по пятибалльной шкале, с последующей математической обработкой результатов микроскопирования.

Получено регрессионное уравнение, описывающее состояние экосистемы промышленного ила с учетом взаимного влияния на него нагрузки и концентрации поллютантов, которое позволяет быстро осуществлять прогноз состояния биоагента и, как следствие, эффективности очистки на основе состава поступающих химзагрязненных сточных вод с целью разработки мероприятий, обеспечивающих стабильность функционирования очистных сооружений.

Реализация такого биоматематического подхода позволяет осуществлять оперативный контроль за функционированием очистных сооружений, что особенно важно при залповых сбросах загрязняющих веществ и большом диапазоне нагрузок на биоагент.

Высокая технологичность, возможность осуществления в производственных условиях и минимизация затрат повышает значимость предлагаемого решения.

ОСОБЕННОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЗЕМЕЛЬ ГНЕЗДЯЩИМИСЯ КУЛИКАМИ НА ЕВРОПЕЙСКОМ СЕВЕРЕ РОССИИ

Дубкова Е.В.

Московский педагогический государственный университет, Москва (Россия)

E-mail: elvdubkova@gmail.com

Исследование проведено на территории национального парка «Русский Север» (Кирилловский р-н Вологодской обл.) в период с 2006 по 2009 гг. Учеты территориальных пар чибиса и большого кроншнепа проводили минимум 3 раза за сезон (конец мая – середина июня – начало июля) на 4 модельных площадках (18,7 – 163 га). Выбранные площадки представляли собой изолированные участки с разным типом сельскохозяйственного использования (пастбища, поля яровых культур, заброшенные сенокосы).

Плотность гнездования оценивали по результатам учетов территориальных пар в начале сезона размножения. Гнездовая плотность чибиса на пастбищах ($4,28 \pm 0,38$ пар/10 га) была существенно выше, чем на заброшенных сенокосах ($0,53 \pm 0,09$ пар/10 га) и полях яровых ($0,53 \pm 0,05$ пар/10 га). Средняя плотность гнездования большого кроншнепа на полях яровых ($0,16 \pm 0,02$ пар/10 га) была достоверно ниже, чем на пастбищах ($0,67 \pm 0,34$ пар/10 га) и сенокосах ($0,56 \pm 0,09$ пар/10 га).

Поскольку после гибели насиженной кладки или выводка кулики покидают район гнездования, уменьшение числа территориальных пар к концу гнездового сезона может свидетельствовать о низком успехе размножения. В начале июля минимальная плотность населения чибиса была на выпасных лугах – подавляющее большинство птиц покидало пастбища к середине июня. На полях яровых значительная часть птиц сохранялась до начала июля, что свидетельствует о более высоком успехе размножения. У большого кроншнепа большая часть территориальных пар оставалась по крайней мере до начала июля на всех учетных площадках.

Таким образом, изолированные выпасные луга являются для чибиса своеобразными «экологическими ловушками»: привлекая птиц в начале сезона гнездования, они не могут обеспечить условий для успешного размножения. Успешность размножения большого кроншнепа не зависит от типа биотопа.

ВЛИЯНИЕ ПЛАЗМЕННО-РАДИОВОЛНОВОЙ ОБРАБОТКИ НА ПОЛЕВУЮ ВСХОЖЕСТЬ СЕМЯН ЗЕРНОБОБОВЫХ КУЛЬТУР

Антонюк А.С.

Полесский аграрно-экологический институт НАН Беларуси, Брест (Беларусь)

E-mail: ant_sash@rambler.ru

Успешное решение задач по повышению урожайности зернобобовых культур требует применения современных высокоэффективных технологий предпосевной подготовки посевного материала, во многом определяющего формирование здорового и устойчивого к стрессовым факторам проростка.

Традиционно применяемые методы повышения всхожести являются достаточно трудоемкими, требуют больших финансовых и материальных затрат и не всегда соответствуют требованиям экологической безопасности окружающей среды. В связи с этим особую актуальность приобрели исследования физического воздействия на семена электромагнитного поля и плазмы высокочастотного емкостного разряда.

Целью данной работы являлось изучение влияния плазменно-радиоволновой обработки на полевую всхожесть и выживаемость семян зернобобовых культур.

Для исследования плазменно-радиоволнового воздействия на семена растений был использован модернизированный экспериментальный стенд Института физики НАН Беларуси, созданный на основе промышленного генератора высокочастотного тока ВЧИ-62-5-ИГ-101 с рабочей частотой $f = 5,28$ МГц.

Полевая всхожесть семян после плазменно-радиоволновой обработки увеличивалась относительно контроля в среднем на 8%. Среди зернобобовых культур обработка семян оказала наибольшее влияние на полевую всхожесть гороха. Так, при обработке высокочастотным электромагнитным полем всхожесть гороха посевного увеличилась на 12–13% относительно необработанных семян, гороха полевого – на 11–15% соответственно. При обработке семян гороха плазмой высокочастотного емкостного разряда полевая всхожесть относительно контроля была несколько ниже: у посевного – на 6–7%, у полевого – на 10%. Обработка семян вики и сои увеличила полевую всхожесть растений на 4–6% и 8% соответственно.

В процессе дальнейшего развития растений, независимо от биологических и морфологических особенностей вида, влияние плазменно-радиоволновой обработки положительно сказывалось на их выживаемости. Результаты исследований показали, что выживаемость растений по всем культурам была на 2–6% выше по сравнению с контролем при обработке как плазмой, так и высокочастотным электромагнитным полем.

ОПЫТ ВЫРАЩИВАНИЯ НЕКОТОРЫХ ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ ВИДОВ РОДА *ACER* L. НА СРЕДНЕЗАСОЛЕННЫХ ПОЧВАХ ЮГА КАРАКАЛПАКСТАНА

Турсунбоев Х.Е.

Научно-производственный центр «Ботаника» АН РУз, Ташкент (Узбекистан)

E-mail: ham_1@mail.ru

Вопросы защиты окружающей среды, всегда актуальны и требуют применения различных практических методов по ее сохранению. В условиях юга Каракалпакстана на почвах средnezасоленных при искусственном поливе можно выращивать 7 интродуцированных видов *Acer* L., которые прошли испытание в условиях сада. Все они относятся к разным секциям, у всех различная география и растут в природе в разных экологических условиях: североамериканские виды (*A. saccharinum*, *A. negundo*); восточноазиатские (*A. ginnala*); европейско-кавказские (*A. campestre*, *A. pseudoplatanus*, *A. tataricum*); центральноазиатский (*A. semenovii*).

Для введения в озеленение были выявлены оптимальные сроки посева, которые имеют прямую связь с созреванием и рассеиванием семян. У *A. saccharinum* семена созревают во второй половине апреля и через месяц полностью теряют всхожесть, необходимо их высевать сразу же после созревания. Семена *Acer ginnala* и *A. semenovii* сохраняют всхожесть до трех лет, а *A. negundo*, *A. tataricum* и *A. pseudoplatanus* до двух лет. Семена этих видов *Acer*, необходимо высевать осенью.

В конце марта в течение 3-7 дней прорастают семена *A. negundo*. Семена других видов прорастают в начале апреля. Семена *A. saccharinum*, посеянные весной (апрель), сразу же после их созревания, всходят в начале мая. Самая высокая всхожесть (75%) и сохранность сеянцев (98,6%) у *A. negundo*. Продолжительность периода роста у сеянцев всех видов различная. Оценивая в целом годичный прирост сеянцев видов *Acer* выявили, что наибольшей высоты в

первый год жизни достигли сеянцы *A. negundo* (52 см), за ними следует *A. saccharinum* (44 см), *A. semenovii* (20 см), *A. ginnala* (19,5 см) и *A. pseudoplatanus* (17,5 см). На втором – третьем году жизни *A. negundo* и *A. saccharinum* можно высаживать на постоянные места, остальные виды на четвертом – пятом году.

СЕМЕННОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ ВИДОВ РОДА *LIGUSTRUM* L.

Рахматова Н.Р.

Научно-производственный центр «Ботаника» АН РУз, Ташкент (Узбекистан)

E-mail: nodi_r@mail.ru

Изучали 8 видов рода *Ligustrum* L. (семейство *Oleaceae* Lindl). Это вечнозеленые виды: *Ligustrum lucidum* Ait., *L. japonicum* Thunb., *L. henryi* Hemsl. Листопадные виды: *Ligustrum ibota* Sieb., *L. obtusifolium* Hassk., *L. sinense* Lour., *L. sinense* var. *stauntoni* Rehd., *L. tschonoskii* (Desne.) Mansf.

Виды распространены в субтропической, тропической (Восточное полушарие) и в умеренной зонах (Европа). Это кустарники, или небольшие деревья, достигающие 4-5 м в высоту. Форма листьев самая разнообразная от ланцетной до продолговатой. Цветки мало декоративные, мелкие, собраны в довольно крупные соцветия. Плоды ягодообразные костянки темного цвета. Из *Ligustrum* L. можно создавать групповые посадки, боскеты и солитеры. Они хорошо формируются, что увеличивает их декоративность. *Ligustrum* L. светолюбив, растет на влажных местах, на сухих - страдает от засухи.

В Ташкенте плодоносит, дает самосев, в суровые зимы *L. henryi* обмерзает до корневой шейки, но отрастает. Размножается семенами, черенками и корневыми отпрысками. Опыты проводились в Ботаническом саду АН РУз. Семена высевались 24 декабря. Листопадные виды по 100 штук, вечнозеленые по 50 штук в 4 повторностях. Всходы у листопадных видов появились в начале апреля, а у вечнозеленых во второй декаде.

При этом выявили что, у листопадных видов всхожесть составило $96,7 \pm 1,83$, что выше, чем у вечнозеленых (*L. japonicum* $59 \pm 3,38$, у *L. henryi* $15 \pm 2,42$). Развитие кроны у листопадных видов происходит раньше чем, у вечнозеленых.

Таким образом, установлено что, при семенном размножении изученных листопадных видов *Ligustrum* L. всхожесть семян и темп роста, и скорость развития кроны выше, чем у вечнозеленых.

РАЗНООБРАЗИЕ ЖУКОВ ДОЛГОНОСИКОВ (*COLEOPTERA, CURCULIONIDAE*) НА ЛЮЦЕРНЕ (*MEDICAGO SATIVA*) В РЕСПУБЛИКЕ МОЛДОВА

Малеванчук Н.В., Мунтяну Н.В.

Институт зоологии Академии наук Молдовы, Кишинев (Молдова)

E-mail: malevanciuc_nadejda@yahoo.com

Исследование биоразнообразия в начале третьего тысячелетия рассматривается как важнейшее направление в биологии. Биологическое разнообразие - это богатство и разнообразие жизни на Земле, это природный ресурс, который человечество берет от природы в течение длительного периода своего существования. Наличие биологического разнообразия сохраняет регулирующие силы самой природы, что способствует развитию устойчивого сельского хозяйства, которое в настоящее время приобретает все большее значение.

Материалом для настоящей работы послужили сборы, проведенные в 2010 гг. в трех природно-ландшафтных областях центральной Молдавской возвышенности: Глодень (N47 15.046' E 029 08.145'), Сирец (N47 15.046' E 029 0.8145) и Лозова (N47 7' 58' E 28 23' 9'). Сбор насекомых производился на экспериментальных полях с люцерной (*Medicago sativa*) при помощи энтомологического сачка на 150 взмахов с каждого исследованного поля. При установлении видовой принадлежности исследуемых жесткокрылых руководствовались фундаментальными работами и сводками.

В результате проведенных исследований было выявлено 15 видов долгоносиков из 4 родов: *Otiorhynchus* (1 вид), *Sitona* (8), *Tanymecus* (1) и *Hypera* (5). На основе полученных результатов был подсчитан индекс разнообразия Шеннона ($H = -\sum p_i \ln p_i$). Наиболее высокий показатель данного индекса был в Глодянах он составил 0,45, в Сирец 0,2 и Лозова 0,16. Такое отличие в индексе связано с тем, что экспериментальное поле в Лозова находится на закрытой территории и ограничено лесными массивами, можно сказать, что это устоявшаяся природная экосистема, где нет взаимодействия с другими подобными зонами, и, соответственно, нет перемещения видов с одной территории на другую. И наоборот, в Глодянах идет постоянное взаимодействие с другими севообрабатываемыми территориями, что в результате может привести к перемещению видов долгоносиков с одной зоны в другую, и, соответственно, видовое разнообразие является весьма вариабельным.

ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ *TRITICUM AESTIVUM* L. ПО УСТОЙЧИВОСТИ К ГРИБНЫМ ЗАБОЛЕВАНИЯМ

Желнина Е.Б., Боме Н.А., Боме А.Я.

Тюменский государственный университет, Тюмень (Россия)
Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства
им. Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: elizavetka_08_88@mail.ru

Целью исследований явилось изучение реакции растений *Triticum aestivum* L. на воздействие фитопатогенных грибов: *Erysiphe graminis* D.C., *Puccinia recondita* Rob. ex Desm f. sp. tritici, *Helminthosporium sativum* Pammel, C.M. King et Bakke.

В качестве одного из возможных путей поиска эффективных источников иммунитета рассматривается изучение мировой коллекции ВНИИР им. Н.И. Вавилова, обладающей большим потенциалом. В настоящей работе в качестве объекта исследований были взяты 99 образцов мягкой яровой пшеницы, поступивших из 20 регионов России и 16 зарубежных стран и представленных 9 ботаническими разновидностями. Работа выполнена в 2006-2010 гг. согласно Методическим указаниям по изучению мировой коллекции пшеницы (Градчанинова и др., 1984), Международному классификатору рода *Triticum* L. (1984) на естественном инфекционном фоне в полевых условиях научно-экспериментальной базы «Озеро Кучак». Использованы показатели распространенности и индекса развития болезни в период максимального проявления поражения растений.

Изучение показало широкое разнообразие по восприимчивости образцов к патогенам. Выявлены географические закономерности проявления устойчивости яровой пшеницы к возбудителям грибных болезней. Отсутствие поражения или слабая степень зарегистрированы у образцов из Тюменской области, Китая и Мексики.

При анализе внутривидового разнообразия коллекции обнаружено, что комплексную устойчивость к болезням проявили образцы, относящиеся к разновидностям *lutescens* (Alef) Mansf., *graecum* (Koern.) Mansf., *eritrospermum* Korn. Обнаружено, что к мучнистой росе более устойчивы остистые формы (66,7%), к ржавчине и пятнистостям – безостые формы (52,8 и 68,2% соответственно). В 85,7% случаев отмечалась слабая восприимчивость к мучнистой росе у низкорослых образцов; растения со средней высотой растений меньше поражались ржавчиной и пятнистостями.

В результате скрининга коллекции выделены образцы, сочетающие иммунитет к фитопатогенным грибам с другими селекционно-ценными признаками; по отношению к мучнистой росе их насчитывалось 8, к ржавчине - 21, к пятнистостям - 25.

ОСОБЕННОСТИ ИЗОТОПНОГО СОСТАВА ($\delta^{13}C$, $\delta^{15}N$) ЖУЖЕЛИЦ (*CARABIDAE*)

Гончаров А.А.

Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н.Северцова, Москва (Россия)

E-mail: santonio8@inbox.ru

Метод стабильных изотопов основан на процессе естественного фракционирования тяжёлых стабильных изотопов биогенных элементов в живых организмах. Соотношение стабильных изотопов углерода («изотопная подпись», $\delta^{13}\text{C}$) сходно у всех объектов одной трофической сети, но может отличаться среди разных трофических сетей. Соотношение стабильных изотопов азота ($\delta^{15}\text{N}$) увеличивается на 2-3‰ при переходе на более высокий трофический уровень в пищевой цепи. Ткани, имеющие разную скорость метаболизма, отличаются по изотопному составу, поэтому неверный выбор ткани для анализа может привести к ошибочным результатам. При этом опубликованных данных по изотопному составу отдельных тканей различных представителей беспозвоночных, в особенности жуков, пока очень мало. Представителей семейства *Carabidae* часто используют в работах с применением изотопного метода, и до сих пор не выработано общего критерия выбора определённой ткани для анализа.

Для изучения изотопного состава ($\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{15}\text{N}$) различных тканей выбрали 5 видов жужелиц, по 8 особей каждого вида, 4 особи каждого вида были проанализированы целиком, а оставшиеся 4 предварительно разделили на 5 частей (брюшко, элитры, экзоскелет груди, мышцы груди, ноги). Согласно результатам однофакторного дисперсионного анализа, фактор «часть тела» не оказывал значимого влияния на $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{15}\text{N}$ тканей ($n = 120$, $p > 0,05$). Таким образом, для жужелиц оправдано использование целого жука, и не требуется трудоёмких процедур по отделению каких-либо частей тела.

На представителях 11 видов жужелиц впервые показано, что $\delta^{15}\text{N}$ самцов и самок жужелиц, собранных в одном биотопе, имеют достоверные отличия (двухфакторный дисперсионный анализ, [факторы «вид» и «пол»]; для фактора «пол»: $n = 182$, $p = 0,001$). Самцы, как правило, имели более высокое содержание ^{15}N . Причины наблюдаемого явления пока не совсем ясны.

ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ В МАЛЫХ ДОЗАХ НА ПЛОДОВИТОСТЬ *DAPHNIA MAGNA* И ИХ НЕОБЛУЧЕННОЕ ПОТОМСТВО

Малина Ю.Ю.

Обнинский институт атомной энергетики Национального исследовательского ядерного университета «МИФИ», Обнинск (Россия)

E-mail: yli21@yandex.ru

В работе показано постепенное, увеличивающееся во времени 40%-ное снижение выживаемости и 20%-ное снижение плодовитости в модельной популяции рачков *Daphnia magna*, облученной в малых для вида дозах 0.1, 1.0 и 20 Гр (Луч, Латвия, ^{60}Co , 21 сГр/мин) и их необлученного потомства. LD_{50} для ракообразных около 100 Гр.

После облучения дафний культивировали по стандартной методике и вели ежедневные наблюдения в течение 21 сут, учитывая и удаляя погибших особей и народившуюся молодь. Первое и второе поколения формировали из 1-сут рачков предыдущего поколения и культивировали по выше описанной схеме.

Эксперимент показал, что беременность у облученных во всех исследованных дозах дафний наступила раньше на 3-4 сут, чем в контроле. Однако к 21-м сут в родительском поколении в контроле было получено 219 живых новорожденных дафний, а у облученных в дозах 0.1, 1.0 и 20 Гр рачков соответственно 97, 133 и 104 особи. Количество мертворожденных дафний составило от 4 до 34. В поколении F_1 в контроле было 63 живых новорожденных дафний, в дозах 0.1, 1.0 и 20 Гр – 16, 14, 24 особи соответственно (мертворожденных 33 - 41 особи). Из полученных данных следует, что повреждения, индуцированные малыми дозами гамма-квантов в родительском поколении, передаются необлученному потомству первого поколения.

В поколении F_2 в контроле было получено 87 живых новорожденных дафний, в дозах 0.1, 1.0 и 20 Гр – 131, 178, 82 особи соответственно. Количество мертворожденных дафний составляло от 2 до 10 особей. Возможно, полученные родителями-дафниями повреждения постепенно затухают в последующих генерациях, и численность популяции восстанавливается за счет повышения плодовитости.

Обсуждается роль полученных эффектов для решения задач радиационной защиты биоты.

ПРОСТРАНСТВЕННАЯ СТРУКТУРА ПОСЕЛЕНИЙ СЕРОЙ СЛАВКИ *SYLVIA COMMUNIS* НА ЕВРОПЕЙСКОМ СЕВЕРЕ РОССИИ

Морозова М.М.

Московский педагогический государственный университет, Москва (Россия)

E-mail: apus_apus@pochta.ru

Исследование проведено в мае-июле 2006-2010 гг. в национальном парке «Русский Север» (Кирилловский р-н Вологодской области) на двух модельных площадках (17 и 20 га), расположенных в 50 км друг от друга. Обе модельные площадки представляют собой заброшенные разнотравно-злаковые сенокосы, зарастающие кустами ивы *Salix sp.* Взрослых серых славков отлавливали с помощью паутинных сетей и метили индивидуальными комбинациями цветных колец. Проводили регистрацию всех токующих самцов и картирование их индивидуальных территорий. Расположение территорий в последующие друг за другом годы анализировали с помощью ГИС Mapinfo 9.0.

Численность гнездящихся серых славков на площадках колебалась от 7 до 15 пар, при этом пространственная структура поселений оставалась сравнительно постоянной и не зависела от плотности. В поселениях выявлены «ключевые территории», которые занимались первыми из года в год. Эти территории были приурочены к оптимальным микробиотомам и отличались наибольшей стабильностью в течение гнездового сезона. Участки, которые занимались позднее, охватывали несколько микробиотопов и были менее стабильными.

Особенностью территориального поведения серой славки является практически полное отсутствие ими охраны территорий. Это приводит к свободному перемещению птиц в границах поселения и возможности перекрывания территорий. При этом новые территории могут занимать в течение всего гнездового сезона, что приводит к сильной растянутости периода размножения.

Вернувшиеся на место прошлогоднего размножения самцы в большинстве случаев занимали новые территории, таким образом, стабильность пространственной структуры поселений не была связана с территориальным консерватизмом самцов. Самки на места прошлогоднего размножения не возвращались. Значительную долю в локальных поселениях составляли особи-иммигранты.

АЛЬГОФЛОРА НИЖНЕГО ТЕЧЕНИЯ РЕКИ ЗЕРАВШАН

Маманазарова К.С.

Научно-производственный центр «Ботаника» АН РУз, Ташкент (Узбекистан)

E-mail: karomat.1981@mail.ru

Зеравшан – река в Средней Азии, протекающая на территории Республик Узбекистана и Таджикистана.

Материалом послужили пробы (135), отобранные из 6 постоянных станций по нижнему течению реки. Видовой состав водорослей по нижнему течению реки Зеравшан изучали по сезонам. За годы исследований в альгофлоре нижнего Зеравшана найдено 267 видов (из них 74 разновидности и форм) относящихся к 60 родам, 31 семейству, 14 порядкам, 9 классам и 4 отделам. Из которых Bacillariophyta – 208 (видов и разновидностей), Chlorophyta – 28, Cyanophyta – 27, Euglenophyta – 4. Ведущее место в альгофлоре нижнего Зеравшана принадлежит диатомовым (Bacillariophyta), зеленым (Chlorophyta) и синезеленым (Cyanophyta) водорослям.

Высоким видовым составом отличаются диатомовые водоросли (их число составляет 77,9%). Большинство обнаруженных диатомей относятся к классу Pennatophyceae (188 видов и разновидностей). В классе Pennatophyceae особым видовым богатством отличаются семейства Naviculaceae West. (111 видов и разновидностей). Богатыми в видовом отношении среди родов считаются *Navicula* Borg. (34 видов и разновидностей), *Symbella* Ag. (23), *Nitzschia* Hass. (18), *Cyclotella* Kuetz. (15), остальные роды насчитывают от 1 до 15 видов и разновидностей водорослей.

По количеству видов и разновидностей зеленые водоросли занимают второе место (их всего 28). Максимальных темпов развития зеленые водоросли достигают летом и осенью.

Большинство водорослей относятся к классам Conjugatophyceae и Ulotrichophyceae. Класс Conjugatophyceae включает 10 видов и разновидностей или 35,7% от общего количества в отделе, Ulotrichophyceae – 12 или 42,9%. А в классе Protococcosphyceae всего 6 или 21,4% соответственно.

На основании структуры представителей отдела Cyanophyta можно отметить, что обнаруженные 27 видов и форм принадлежат к 13 родам, 11 семействам, 4 порядкам, 2 классам (Chroococcosphyceae, Hormogoniophyceae). Наибольшее количество видов и разновидностей включают классы Chroococcosphyceae 19 или 70,4%, Hormogoniophyceae 8 или 29,6%. Большинство видов относятся к семейству Gloeocapsaceae Elenk. et Holler (8 видов и разновидностей), за ним следует Merismopediaceae Elenk (4 видов и разновидностей).

В отделе Euglenophyta всего 4 вида из 2 классов (Euglenophyceae, Chloromonadiceae). Из них 3 вида относятся к порядку Euglenales, 1 вид – Chloromonadales.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ГЕЛЬМИНТОФАУНЫ КАРПОВЫХ РЫБ В ИСКУССТВЕННЫХ И ЕСТЕСТВЕННЫХ ВОДОЕМАХ УЗБЕКИСТАНА

Сафарова Ф.Э.

Институт зоологии АН РУз, Ташкент (Узбекистан)

E-mail: xolida_primova@mail.ru

Нами в течение 2009-2010 годов сравнительно изучена гельминтофауна 1345 экз. шести видов карповых рыб (сазан, серебряный карась, красноперка, обыкновенный толстолобик, плотва, жерех), обитающих в Айдар-Арнасайской системе озер (естественные водоемы) и рыбных хозяйствах Ташкентской и Сырдарьинской областей (искусственные водоемы). При гельминтологических исследованиях основной акцент сделан на видовой состав цестод и нематод.

В результате проведенных исследований установлено, что в Айдар-Арнасайской системе озер рыбы были заражены 27 видами гельминтов, из них цестод 13 и нематод 14 видов. Весной обнаружено 23 вида, летом – 25 и осенью – 19 видов. В личиночной стадии зарегистрировано 12 видов.

В водоемах рыбных хозяйств Ташкентской и Сырдарьинской областей зарегистрирован 21 вид гельминтов, из них цестод – 10 и нематод -11, в том числе 8 видов в личиночной стадии.

Среди зарегистрированных гельминтов широко распространенными и наиболее патогенными для рыб, обитающих в естественных и искусственных водоемах, являются лентецы *Ligula intestinalis* и *Digramma interrupta*.

Анализируя гельминтофауну карповых рыб искусственных и естественных водоемов, необходимо отметить отсутствие видов *Paradilepis scolecina*, *Neogryporhynchus cheilancristrotus*, *Dilepis unilateralis*, *Raphidascaris acus*, *Camallanus truncates*, *Desmidocercella numidica* и *Contraesum microscephalum* в искусственных водоемах.

В начале весны сообщества паразитов каждого вида рыб, в большинстве случаев исследуемого материала, отличаются наличием незрелых форм. В летнее и осеннее время, вероятно, происходит дозревание червей, и обнаруживаются зрелые цестоды и нематоды.

Сравнительное изучение гельминтофауны карповых рыб показывает на обилие и разнообразие видового состава гельминтов в естественных водоемах по сравнению с искусственными.

Зараженность представителей ихтиофауны теми или иными видами паразитов обусловлена экологическими факторами водоемов и характером питания рыб разного возраста.

ОСОБЕННОСТИ ВСХОЖЕСТИ СЕМЯН РАЗНЫХ ГАЛОФИТНЫХ РАСТЕНИЙ

Адилов Б.А.

Научно-производственный центр «Ботаника» АН РУз, Ташкент (Узбекистан)

E-mail: bekhzod_a@mail.ru

Выявлены различия во всхожести семян у однолетних эвгалофитов (*Suaeda altissima*, *Atriplex tatarica* – Chenopodiaceae) и многолетних гликогалофитов (*Glycyrrhiza glabra*, *Alhagi*

kirghisorum – Fabaceae). Всхожесть семян однолетних эвгалофитов (*S. altissima*, *A. tatarica*), сформированных в различных условиях засоления, повышалась с ростом температуры, и при 24-28⁰С доходила до максимальной степени (в среднем 87,7-94,6%). Температура же в пределах 30-34⁰С снижает всхожесть семян однолетников на 15,6-25%. Всхожесть семян однолетников, сформированных на растениях в естественных условиях при слабом и сильном засолении, различна. Характерное свойство семян однолетних галофитных растений – высокие показатели всхожести семян, сформированных при сильном засолении, по сравнению с семенами, сформированными в условиях слабого засоления.

Показатели всхожести семян, сформированных в различных условиях засоления у многолетних гликогалофитов (*G. glabra*, *A. kirghisorum*), отличаются от таковых однолетников. Специфическим свойством семян многолетних галофитов является сохранение высокой степени всхожести (в среднем 77,8-86,5%) при высоких (30-34⁰С) температурах. Семена многолетников, сформированных на слабом засолении, в отличие от однолетников, отличаются от семян растений, сформированных на сильном засолении, периодом всходов и интенсивностью развития во всех наблюдаемых значениях температур.

Высокая всхожесть семян однолетних эвгалофитов, сформированных в условиях сильного засоления, является одной из первичных адаптивных реакций толерантности к условиям засоления. Такого же мнения придерживаются многие авторы. Для многолетних галофитов, в отличие от однолетников, свойственны низкие показатели всхожести семян, сформированных в условиях сильного засоления, по сравнению с семенами сформированными в условиях слабого засоления, и это является одним из их защитно-адаптивных свойств, так как под влиянием сильного засоления в семенах многолетних галофитов накапливаются продукты обмена веществ, тормозящие их всхожесть.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ ПИТАНИЯ И ПИЩЕВАРЕНИЯ ТЕРМИТОВ РОДА *ANACANTHOTERMES*

Ганиева З.Р., Мирзаева Г.С., Кучкарова Л.С., Хамраев А.Ш.

Институт зоологии АН РУз, Ташкент (Узбекистан)

E-mail: m_Gulnora@rambler.ru

Основная пища почти всех термитов – целлюлоза или ее производные. Обычно термиты поедают мертвые ветви и гниющие части стволов деревьев, перегной, древесные части различных сооружений и т.д. В условиях Центральной Азии, основными видами термитов являются *A. turkestanicus* и *A. ahngerianus*. Они обычно питаются сухой растительной пищей, т.е. основным их пищевым компонентом является целлюлоза.

Однако, исследование содержания белков и углеводов в теле термитов, питающихся в лабораторных условиях исключительно целлюлозой показало, что содержание углеводов составляет 0,8% и 3,4% в сырой и сухой тканях соответственно. В тоже время при отсутствии какого-либо азотсодержащего соединения в лабораторной «диете» термитов содержание белка было 6,3% в сырой и 34,1% в сухой ткани. Очевидно, что в организме термитов происходит явная концентрация азотсодержащих соединений, в частности белка.

Определение кишечных карбогидраз, протеаз и липаз показало, что содержание экзоцеллюлазы в толстой кишке на одного термита составляет 0,72±0,09 мкмоль глюкозы/мин, альфа-амилазы - 15,15±0,51 мг расщепленного крахмала/мин, комплекса протеаз - 2,61±0,32 образовавшегося глицина/мин и триглицеридлипаз - 1,11±0,12 мкмоль образовавшихся жирных кислот/мин. Т.е. несмотря на отсутствие крахмала, белков и жиров в диете, в кишечнике имеются ферменты, расщепляющие вышеотмеченные субстраты.

Эти данные показывают, что: во-первых, состав тела рабочих термитов не коррелирует с составом его пищи; во-вторых, у термитов есть особые механизмы накопления белка, возможно в кишечнике имеются азотфиксирующие бактерии; в-третьих, в кишечнике термитов имеются субстраты не только целлюлозного происхождения, но и крахмал, белки и липиды; в-четвертых, возможно, микроорганизмы участвуют в трансформации целлюлозы с бета-формой глюкозы в углеводы с альфа- формой глюкозы (крахмал).

Следовательно, можно предположить, что в питании термитов, огромную роль играют микроорганизмы, которые могут служить не только продуцентами гидролитических

ферментов, но и, фиксируя азот воздуха, сами являются пищевым субстратом, точнее источником крахмала, белков и жиров для термитов, тем самым обеспечивая их жизнеспособность при питании целлюлозой.

ФИЛЯРИАТЫ ПТИЦ УЗБЕКИСТАНА

Сапаров К.А., Махматкулова Н.Д.

Ташкентский государственный педагогический университет им. Низами,
Ташкент (Узбекистан)

E-mail: shga2006@yandex.ru

Подавляющее большинство видов филяриат, паразитируют на птицах различных экологических групп. Они вызывают серьезные поражения всех органов и систем организма домашних и диких охотничье-промысловых птиц-обитателей наземных и водных ценозов.

Целью исследования является изучение биоразнообразия филяриат-паразитов птиц Узбекистана. В ходе работы исследовано 3750 особей пернатых, принадлежащих к 15 отрядам птиц Узбекистана.

По результатам собственных исследований и с учётом литературных данных у птиц наземных и водных ценозов отмечено 53 вида: *Aprocta cylindrica*, *A.caprimulgi*, *A.crassa*, *A.matronensis*, *A. rotundata*, *A. obtusa*, *A. striata*, *Squamofilaria coraciae*, *Pseudaprocta decorate*, *Splendidofilaria pawlowskyi*, *S. brevispiculum*, *S. travossosi*, *S. gvozdevi*, *Sarconema eurycerca*, *Skrjabinoceta petrovi*, *Skrjabinoceta natali*, *Ornithofilaria skrjabini*, *O. papilocerca*, *O. mavis*, *Vagrifilaria sinensis*, *Parornithofilaria lienalis*, *Diplotriaena ozouxi*, *D. falconis*, *D.graculi*, *D. henryi*, *D. isabellina*, *D. nocti*, *D. obtusa*, *D. pungens*, *D. schikhobalovi*, *D. sokolovi*, *D. tricuspis*, *D. unguiculata*, *D. microphallos*, *Dicheilonema ciconiae*, *Hamatospiculum cylindricum*, *H. quadridens*, *Petrovifilaria mongolica*, *Serratospiculum guttatum*, *S. chungi*, *S. tendo*, *Lemdana behningi*, *Eulemdana clava*, *Cardiofilaria pavlovskyi*, *Dirofilarionema ulari*, *Pseudalemdana corvicola*, *Pelecitus fulicaeatrae*, *P. armenica*, *Paronchocerca rousseloti*, *P. bumpae*, *P. monsoni*, *P. tonkinensis*, *P. sonini*, относящихся к четырём семействам подотряда. Семейство *Aproctidae* представлено 9 видами родов – *Aprocta*, *Aproctoides*, *Squamofilaria*, *Pseudaprocta*. Представители *Splendidofilariidae* состоящие из 12 видов объединены в составе 6 родов (*Splendidofilaria*, *Sarconema*, *Skrjabinoceta*, *Ornithofilaria*, *Vagrifilaria*, *Parornithofilaria*). Нематоды семейства *Diplotriaenidae* составляют 20 видов, принадлежащие 5 родам (*Diplotriaena*, *Dicheilonema*, *Hamatospiculum*, *Petrovifilaria*, *Serratospiculum*). Филярии семейства *Oswaldofilariidae* в нашем материале представлены 12 видами, которые входят в состав 6 родов (*Lemdana*, *Eulemdana*, *Cardiofilaria*, *Pseudalemdana*, *Pelecitus*, *Paronchocerca*). Филяриаты отмечены у представителей 14 отрядов птиц, обитателей наземных, околородных и водных ценозов. Они являются важными компонентами соответствующих экосистем.

ЗАРАЖЕННОСТЬ ФИЛЯРИАТАМИ ВОРОБЬИНООБРАЗНЫХ (PASSERIFORMES) ПТИЦ УЗБЕКИСТАНА

Сапаров К.А., Жангирова Ю., Бекмирзаева У.Ю.

Ташкентский государственный педагогический университет им. Низами,
Ташкент (Узбекистан)

E-mail: shga2006@yandex.ru

Воробьинообразные птицы широко представлены в биогеоценозах Узбекистана и состоят из 210 видов. Они встречаются практически во всех ландшафтах и выполняют разнообразные функции в природных процессах. Одним из факторов отрицательно влияющим на жизнедеятельность птиц, по общему признанию, являются экто- и эндопаразиты. В этом плане изучение нематод подотряда *Filariata* заслуживает особого внимания. Эти своеобразные нематоды птиц в Узбекистане слабо изучены.

Материалом для настоящей работы послужили филяриаты, обнаруженные у воробьинообразных птиц различных семейств, добытых из природных и агроландшафтов Узбекистана. Сбор материала проводился в течение 2000-2010 гг. Методом полных и неполных

гельминтологических вскрытий исследовано около 1021 особей. При этом использованы известные методы гельминтологии.

В результате проведенных исследований у воробьинообразных птиц зарегистрировано 23 вида (*Aprocta cylindrica*, *A. matronensis*, *Pseudaprocta decorata*, *Splendidofilaria mavis*, *S. pawlowskyi*, *Vagrifilaria sinensis*, *Diplotriaena ozouxi*, *D. henryi*, *D. isabellina*, *D. nocti*, *D. pungens*, *D. tricuspis*, *D. unguiculata*, *D. obtusa*, *D. graculi*, *D. sokolovi*, *D. schikhobalovi*, *Namatospiculum cylindricum*, *Serratospiculum guttatum*, *Cardiofilaria pavlovskyi*, *Paronchocerca rousseloti*, *P. monsoni*, *Pseudalemdana corvicola*) нематод, принадлежащих к четырем семействам подотряда Filariata. 8 видов филяриат нами отмечены впервые для фауны Узбекистана, а *Paronchocerca mansonii* – для фауны СНГ.

Филяриаты обнаружены у 235 птиц из 1021 обследованных. Все виды филярий приспособились к паразитированию, в органах и тканях, не сообщаясь с внешней средой. Распределение отдельных видов филяриат по семействам хозяев, показало, что наиболее распространенными паразитами, характеризующими фауну филяриат воробьинообразных, являются *Diplotriaenidae*, обнаруженные в большинстве семейств птиц. Наибольшее разнообразие филяриат выявлено у врановых (12 видов), дроздовых (9), иволги (8) и наименьшее у овсянковых (1). Общая зараженность воробьинообразных филяриатами составила 16.9%.

СОЗДАНИЕ СОРБЕНТОВ НА ОСНОВЕ МОРСКИХ ВОДОРΟΣЛЕЙ ДЛЯ ОЧИСТКИ ВОДЫ ОТ РАДИОНУКЛИДОВ

Аншкенис А.И., Пан Л.С.

Пермский государственный технический университет, Пермь (Россия)

E-mail: anshkenisasha@mail.ru

На кафедре химии и биотехнологии ПГТУ долгое время разрабатывались сорбенты и антитоды для извлечения радионуклидов из сточных и питьевых вод. Созданные на кафедре сорбенты на основе неорганических соединений были опробованы и прошли испытания при аварии на Чернобыльской АЭС и сейчас широко используются для извлечения радиоактивных элементов на производственном объединении Маяк в Челябинской области.

Известно, что радионуклиды и тяжелые металлы, находящиеся в воде аккумулируются водорослями. Морские водоросли, имеющие более крепкий каркас и произрастающие в насыщенных солевых растворах, участвуют в сорбционных процессах. Бурые морские водоросли класса *Cystoseira*, обладая сорбционными свойствами по отношению к тяжелым металлам, являются нетоксичными, содержат большое кол-во полезных микроэлементов и используются в настоящее время в качестве пищевых добавок. Именно поэтому мы можем предположить, что клетки водорослей способны поглощать ионы цезия из водных растворов и аккумулировать их.

Для проверки возможности сорбции ионов цезия и стронция бурими водорослями были проведены эксперименты в динамических и статических условиях и построены выходные кривые, а также была изучена селективность сорбентов. В результате проведенных опытов были сделаны выводы:

- Сорбенты на основе бурых водорослей рода *Cystoseira* обладают способностью поглощать ионы тяжелых металлов из сложных по составу растворов и жидких радиоактивных отходов.
- Показано, что морские водоросли обладают преимущественной избирательностью по отношению к ионам цезия по сравнению с ионами других щелочных металлов, однако уступают по селективности известным неорганическим сорбентам. Но все же это позволяет использовать данные водоросли для совместного извлечения металлов из сложных по составу растворов.
- На основании данных исследований в дальнейшем планируется изучить сорбционную способность водорослей по отношению и к другим тяжелым металлам.

БИОЛОГИЯ ЦВЕТКА *GAMANTHUS GAMOCARPUS* (MOQ.) BUNGE (CHENOPODIACEAE)

Кайсаров В.Т., Абдуллаева А.Т.

Научно-производственный центр «Ботаника» АН РУз, Ташкент (Узбекистан)

E-mail: yusupovadil@yandex.ru

Спайноцветник спайноплодный - *Gamanthus gamocarpus* (Moq.) Bunge – суккулентный однолетник до 20 см высоты, галопелитофит, эдификатор такыровых почв, широко распространен в пустынных районах Узбекистана. Цветет и плодоносит в ксеротермический период (май-август). Репродуктивная биология вида слабо изучена, на основании эмбриологических исследований сделано предположение о наличии у вида автогамии.

Изучена сопряженность прохождения мужской и женской фазы в спянных, супротивно расположенных цветках *G. gamocarpus* для установления типов и способов опыления. Наблюдения проведены на растениях, произрастающих в юго-западном Кызылкуме (Бухарская область) на такырных почвах и солончаках.

Цветки обоеполые, с двумя травянистыми прицветничками, сидят по два во влагалищах, образованных парой супротивных, сросшихся основаниями прицветных листьев. Их цветение наблюдается с интервалом в 3 дня. Мужская фаза короткая, растрескивание пыльников, высыпание пыльцы и опадение пыльников происходит с 6 до 10 часов, когда лопасти рыльца еще не дифференцированы, и на них нет пыльцевых зерен. Женская фаза наблюдается через 2-3 дня после мужской при пустых пыльниках и характеризуется дифференциацией лопастей рыльца, прорастанием на сосочках пыльцевых зерен, а затем вхождением пыльцевых трубок в микропиле семязачатка.

На основании изучения морфологии рыльца, семязачатка и пыльников в разные фазы функционирования цветка можно заключить, что цветки *G. gamocarpus* протерандричны, мужская фаза опережает женскую, в связи с этим автогамия маловероятна. Основным типом опыления является гейтоногамия (в пределах особи) и ксеногамия, которые осуществляются анемофильным и энтомофильным способами. Переопыление спянных цветков исключено.

СОРБЕНТ ДЛЯ ЦЕЗИЯ НА ОСНОВЕ МОРСКИХ ВОДОРΟΣЛЕЙ И ФЕРРОЦИАНИДОВ ПЕРЕХОДНЫХ МЕТАЛЛОВ

Балабенко Е.А., Пан Л.С.

Пермский государственный технический университет, Пермь (Россия)

E-mail: balabenko_k@mail.ru

Среди антропогенных радионуклидов, загрязняющих биосферу, особого к себе внимания требует радиоактивный цезий. Экологическая значимость цезия-137 измеряется сотнями лет. Цезий-137, попавший в атмосферу, является долговременным источником внешнего и внутреннего облучения людей, животных. В связи с этим, особое значение приобретают сорбенты цезия.

Неорганические сорбенты на основе ферроцианидов переходных металлов характеризуются высокой селективностью по отношению к ионам цезия. Однако для улучшения кинетических характеристик ферроцианидного сорбента необходимо введение ферроцианидов в композицию с силикагелем или с другим пористым носителем. Мы предлагаем использовать в качестве носителя морские водоросли. В ходе нашей работы был получен сорбент на основе водорослей *Cystoseira barbata* и ферроцианидов переходных металлов. Методика его получения включала последовательную обработку водорослей растворами соли переходного металла (Ni, Cu или Zn) и гексацианоферрата калия. Результаты рентгенофазового анализа образцов полученных сорбентов позволили говорить о включении ферроцианидной фазы в структуру водорослей.

Сорбционные свойства изучались в статических и динамических условиях. Обработка водорослей позволила повысить полную динамическую обменную емкость в 1,6 раз. Изучена кинетика сорбции. Установлено, что время достижения равновесия в системе «сорбент-раствор» составляет ~ 15 мин. Были получены изотермы сорбции, которые адекватно описываются уравнением Ленгмюра. Проведены эксперименты по определению селективности

полученных сорбентов к ионам цезия в присутствии ионов K^+ и Na^+ . Установлено, что степень извлечения цезия из раствора снижается, когда исходная концентрация калия и натрия превышает исходную концентрацию цезия (0,001М) в растворе \approx в 40 раз в случаях сорбции на полученном сорбенте. В то время, как снижение степени извлечения при сорбции на необработанных водорослях наблюдается при значительно меньшем исходном молярном соотношении K^+/Cs^+ и Na^+/Cs^+ в растворе.

Вероятно, полученные сорбенты могут использоваться для очистки питьевой воды, продуктов животноводства (молока) от радионуклидов, а также в качестве антидотов. Для определения такой возможности нами планируется провести дополнительные исследования.

ГАЛОИНДИКАЦИОННЫЕ ПРИЗНАКИ ВИДОВ Р. *CLIMACOPTERA* (*CHENOPODIACEAE* VENT.)

Дусчанова Г.М.

Научно-производственный центр «Ботаника» АН РУз, Ташкент (Узбекистан)

E-mail: g-duschanova@mail.ru

Виды рода *Climacoptera* – соленакапливающие эугаллофиты с высоким содержанием солей в листьях до 40-66% солей в сухом остатке. Распространены на солончаках, мелкоземисто-щебнистой почве, засоленных песках. В условиях Мирзачуля (*C. intricata*, *C. longistylosa*) и Кызылкума (*C. ferganica*, *C. lanata*) изучены галоиндикационные признаки листа 4-х видов р. *Climacoptera*. Почва Мирзачуля глинистая и пылевато-глинистая, что создает низкую водопроницаемость при высокой водоудерживающей способности. Засоление хлоридно-сульфатное: до 3% (мг/экв. на абс. сух. массу). Почва Кызылкума серо-бурая, гипсоносная, легкосуглинистая. Засоление от 2 до 5% (мг/экв. на абс. сух. массу).

Лист видов *Climacoptera* суккулентный, сидячий с расширенным основанием до $\frac{1}{3}$ длины, наиболее длинный и широкий у *C. longistylosa*, мелкий у *C. ferganica*, толстый у *C. intricata* и *C. lanata*. В листе видов р. *Climacoptera* сочетаются 2 типа мезофилла: в основании и середине листа вентро-дорзальный с хлоренхимой на абаксиальной стороне, на вершине кранц-центрический. Клетки кранц-обкладки в листе *Climacoptera* отделены от проводящих пучков водоносными клетками, что отличает его сальзолоидного типа. Считаем тип листа *Climacoptera* – отдельным типом, подтверждающим самостоятельность рода. Виды р. *Climacoptera* сочетают в своем строении как ксероморфные признаки, преобладающие у следующих видов: густое опушение (*C. intricata*, *C. lanata*), прямые стенки эпидермальных клеток, погруженные устьица (*C. ferganica* и *C. longistylosa*), парациклический тип устьиц, толстую наружную стенку эпидермы (*C. intricata*); так и галоморфные: крупные клетки эпидермы (*C. intricata*, *C. longistylosa*), немногочисленные устьица (*C. intricata*), непогруженные устьица (*C. intricata* и *C. lanata*). Различное сочетание ксероморфных и галоморфных признаков, т.е. поливариантность структуры, является основной стратегией адаптации ксерогалофитов.

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ПЕРОКСИДАЗ В ПОЧВЕ В ПРОЦЕССЕ ОЧИСТКИ ОТ ПРИОРИТЕТНЫХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ

Шапошникова Т.С., Плешакова Е.В., Любунь Е.В., Муратова А.Ю.

Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов (Россия)

E-mail: shaposhnikovatatyana@rambler.ru

Для очистки почв, загрязненных опасными ксенобиотиками, в последние годы успешно применяется технология фиторемедиации. В настоящей работе исследовали изменение активности пероксидаз в почве, загрязненной нефтяными углеводородами и тяжелыми металлами (ТМ), в процессе фиторемедиации.

Показано, что люцерна посевная (*Medicago sativa* L.) и рожь озимая (*Secale cereale* L.) при культивировании их в почве, загрязненной нефтешламом (4, 12 и 36 г/кг) и дизельным топливом (10 г/кг), стимулировали активность почвенных пероксидаз по сравнению с активностью в загрязненной почве без растений. Наиболее выражена активность пероксидаз стимулировалась при высокой концентрации нефтешлама. При культивировании растений

степень деструкции нефтяных углеводов была на 14-24% выше, чем в незасеянной почве. Установлены видовые различия растений по влиянию на активность почвенных пероксидаз: рожь превосходила люцерну при загрязнении почвы нефтешламом, при загрязнении дизельным топливом – приоритетной была люцерна.

Выращивание растений: суданская трава (*Sorghum sudanense* (Piper.) Stapf.), райграсс пастбищный (*Lolium perenne* L.), рапс яровой (*Brassica napus* L.), сорго зерновое (*Sorghum safronum* L.) и подсолнечник однолетний (*Helianthus annuus* L.) в большинстве вариантов стимулировало активность пероксидаз в почве, загрязненной ТМ (свинец, кадмий, никель) и мышьяком в концентрации 15 ПДК. Обнаружены видовые различия растений по оптимальному восстановлению активности почвенных пероксидаз, которая существенно ингибировалась при загрязнении почвы ТМ. В почве со свинцом максимальную стимуляцию пероксидазной активности обеспечивали райграсс и суданская трава, с мышьяком – рапс и райграсс, никелем – рапс, кадмием – райграсс.

Таким образом, культивирование растений-фиторемедиантов в почве в условиях химического стресса стимулирует активность почвенных пероксидаз, что коррелирует с убылью загрязнителя и указывает на интенсификацию процессов восстановления биологической активности почвы.

ФАКТОРЫ, ЛИМИТИРУЮЩИЕ РАСПРОСТРАНЕНИЕ ЛОБАРИИ ЛЕГОЧНОЙ НА ТЕРРИТОРИИ КОСТРОМСКОЙ ОБЛАСТИ

Иванова Н.В.

Санкт-Петербургская государственная лесотехническая академия им. С.М. Кирова,
Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: Natalya.dryomys@gmail.com

Исследования проводились на территории Костромской области в подзоне южной тайги. Проанализированы данные о 53 находках редкого эпифитного лишайника лобарии легочной (*Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm.).

Факторы, лимитирующие распространение вида, изучались на уровне форофита и лесного сообщества, также оценивались возможности колонизации лишайником соседних территорий.

Расселение лобарии на уровне форофита ограничивается особенностями структуры его коры и влиянием других эпифитов. Все исследованные носители лобарии – старые деревья в онтогенетическом состоянии G2 - S с диаметром ствола от 6 до 70 см (в среднем 28 см) с грубой трещиноватой или черепитчатой корой. Плотный моховый покров на стволах препятствует закреплению зачатков лишайника.

Распространение лобарии внутри лесного сообщества обусловлено наличием потенциальных форофитов. Основной форофит для лобарии в лесах Костромской области – осина (57% находок), поэтому в старовозрастных осинниках зафиксирована высокая плотность и численность популяций лишайника. Важно учитывать и микроклиматические условия, которые формируются благодаря взаимодействию популяций входящих в сообщество видов. Практически во всех сообществах с лобарией обилён кустарниковый ярус, а в травянистом ярусе присутствуют виды высокотравья, что обеспечивает высокую влажность воздуха. Сомкнутость крон в местах обитания лишайника составляет от 0.1 до 0.8, это свидетельствует о высокой экологической пластичности вида к фактору освещенности.

Расселение *L. pulmonaria* на соседние территории тесно связано с особенностями пространственно-временной структуры лесных сообществ. Анализ литературных данных показал, что устойчивый оборот поколений лишайника и расселение его на соседние территории возможно только в лесах с оконной динамикой. Исследования популяций лобарии в лесах, образовавшихся на месте сплошных вырубок показали, что расселение лишайника на соседние территории в таких сообществах, как правило, невозможно, и продолжительность существования лобарии ограничивается продолжительностью жизни ее форофита.

КАЧЕСТВЕННАЯ И КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ДИКОРАСТУЩИХ ВИДОВ ОРХИДНЫХ

Шейко Е.А.

Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины, Киев (Украина)

E-mail: lenasheyko@mail.ru

Семейство Orchidaceae Juss – орхидные или ятрышниковые, является одним из наиболее богатых видами семейств покрытосеменных растений. Характерной чертой представителей этого семейства является их низкая конкурентоспособность по отношению к другим видам растений. Редкость орхидей и сокращающаяся их численность обусловлены как влиянием природных факторов (отсутствием в биотопе грибов-микоризообразователей и специфических насекомых - опылителей), так и антропогенным воздействием. Поэтому все исследования, связанные с изучением репродуктивных особенностей орхидных умеренной зоны, представляют значительный практический и теоретический интерес. Оценка особенностей особей растений – основа исследований ценопопуляций, которая дает возможность прогнозировать состояние популяций, что особенно актуально при изучении редких и исчезающих видов. Количественную оценку репродукции особей растений полезно дополнять исследованиями морфометрических показателей генеративных и вегетативных органов, поскольку размер особи, который определяется количеством и линейными размерами генеративных и вегетативных структур, обуславливает все репродуктивные показатели. При анализе 11 видов дикорастущих орхидных умеренной зоны использовались такие морфометрические показатели, как количество опыленных и неопыленных цветков в соцветии, длина и ширина завязи, длина цветоноса, длина венчика, коэффициент плодообразования. Среди линейных показателей наблюдается относительная консервативность параметров генеративных органов: длина и ширина завязи, длина венчика. Наибольшие коэффициенты вариации характерны для показателей количества опыленных и неопыленных цветков в соцветии во всех исследованных популяциях орхидей, что обусловлено особенностями биоэкологии этих видов орхидных, в частности, их ценотическими показателями. Интенсивность плодообразования исследованных видов орхидей неодинакова и зависит от погодных условий, количества насекомых-опылителей и др.

Из полученных данных можно констатировать, что орхидные характеризуются значительной вариабельностью морфометрических показателей вегетативных и генеративных органов, что, безусловно, влияет на репродукцию популяции в целом.

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МАЛЫХ ВОДОТОКОВ ВОДОСБОРА ДЕЛЬТЫ СЕВЕРНОЙ ДВИНЫ

Мосеев Д.С.

Научно-исследовательский Центр «Викинг», Архангельск (Россия)

E-mail: vikingm@arh.ru

Качество поверхностных вод некоторых водотоков дельты Северной Двины по ряду гидрохимических показателей больше соответствует стокам.

Для выявления причин формирования столь негативных параметров в 2008 году был осуществлен комплекс специализированных наблюдений, на малых реках Старица и Малая Двинка в число которых вошли, гидрологические, гидрохимические и биологические исследования.

Водосбор рек сильно заболочен, величина ХПК, являющаяся индикатором содержания суммарной органики, здесь достигала уровня 150-400 мг/л, концентрации марганца – 0,23-0,37 мг/л, цинка – 0,09-0,13 мг/л.

В нижней части Старицы и Малой Двинки хорошо прослеживаются приливо-отливные явления, характерные для всей дельты в целом. Такие явления обуславливают проникновение в водотоки дельтовых вод с высокой минерализацией, которая в меженные периоды может достигать значений 0,6-1,8 г/л и даже более.

Внешний облик экосистемы малых рек определяется структурой ее фитоценоза, состояние которого тесно зависит от влияния абиотической среды, в том числе и вышеуказанных

факторов. В верховьях водотоков преобладают гигрофиты, способные переносить высокую концентрацию органики, такие как осоки, хвощ водяной, калужница болотная, сабельник. Полностью погруженные в воду высшие растения отсутствуют.

В низовьях Старицы проективное покрытие гидрофитов русла летом достигает 30-50%. В фитоценозе преобладают виды, приспособленные к специфике приливо-отливных явлений, накоплению иловых отложений. В прибрежно-водной растительности доминируют осоки, ежеголовник, тростник обыкновенный, который достигает наибольшего обилия в устье.

Результаты проведенных исследований можно использовать при оценке антропогенного воздействия на другие малые реки, включая водотоки, принимающие сточные воды различного происхождения.

АДАПТИВНАЯ СПОСОБНОСТЬ ПОПУЛЯЦИЙ НОВОГО СОРТА ХЛОПЧАТНИКА К ПОЧВЕННОЙ ЗАСУХЕ

Кудайбергенов А., Дусматова Г., Алламбергенов Т.Д., Шеримбетов А.Г.
Институт генетики и экспериментальной биологии растений АН РУз,
Ташкент (Узбекистан)

Проблема адаптации всегда занимала центральное место в эволюционной теории, а также в практике сельского хозяйства, оставаясь в тоже время наиболее дискуссионной. Справедливо подчеркивая, что адаптация является ключевой концепцией в биологии, большинство исследователей отмечали значительные противоречия в её определении.

Адаптация растений к новым условиям среды достигается за счет модификационной и генотипической изменчивости, то есть путем перестройки комплекса физиолого-биохимических и морфоанатомических признаков самого растения в онтогенезе и образования новых норм реакций в филогенезе.

Адаптационный процесс морфо-хозяйственных признаков хлопчатника сорта УзФА-709 изучали в условиях средней зоны (на базе Института генетики и экспериментальной биологии растений АН РУз) и северной зоне (в Республики Каракалпакстан).

Полученные данные показали, что показатели популяции сорта УзФА-709 в условиях средней зоны и северной зоны различались в основном по морфологическим признакам, но показатели хозяйственно-ценных признаков оказались относительно близкими. Так, показатели признаков соответственно были следующими: высота растения – 125,2 см и 105,4 см; количество симподиальных ветвей – 19,8 и 20,9 шт.; высота раскрытых коробочек – 11,3 и 10,4 шт.; общее количество коробочек на одно растение - 23,4 и 22,2 шт.; количество раскрытых коробочек – 14,1 и 12,8 шт.; масса сырца одной коробочки – 5,5 и 5,6 г; урожай на одно растение – 107,2 и 105,4 г; выход волокна – 37,0 и 37,4%; длина волокна – 34,5 и 33,2 мм.

Из полученных данных видно, что реакция на изменение эколого-почвенных условий выращивания популяции нового сорта хлопчатника УзФА-709 оказалась наиболее пластичной. Это, возможно, связано с географически отдаленным происхождением сорта УзФА-709 и, таким образом, его можно выращивать в различных эколого-почвенных условиях.

ЗАВЯЗЫВАЕМОСТЬ КОРОБОЧЕК ПРИ ГИБРИДИЗАЦИИ ЭКОЛОГО- ГЕОГРАФИЧЕСКИ ОТДАЛЕННЫХ ФОРМ ХЛОПЧАТНИКА

Дусматова Г., Кудайбергенов А., Алламбергенов Т.Д., Шеримбетов А.Г.
Институт генетики и экспериментальной биологии растений АН РУз,
Ташкент (Узбекистан)

Сорт – основа производства любой растениеводческой продукции. Он определяет основные требования к технологии возделывания и качеству получаемой продукции. Предпосылкой для успешного создания новых сортов является изучение генетически детерминированных реакции растений на изменение условий внешней среды.

Нежизнеспособность и бесплодие полученных гибридов значительно затрудняют решение вопроса.

Для изучения завязываемости коробочек хлопчатника были использованы гибриды F_0 , полученные от скрещивания сортов 146 (Болгария), 75007-3 (Австралия) и К-Б-2 (Узбекистан), линии Л-2969, Л-983 и Л-38 (Узбекистан). По всем вариантам было проведено по 30 скрещиваний.

Отмечено, что у изученных гибридов F_0 варьирование частоты завязавшихся коробочек в зависимости от генотипического разнообразия исходных родительских форм достигло от 9,0 до 28,0%. У этих гибридных коробочек была изучена частота оплодотворенности семяпочек. Из полученных данных видно, что в гибридных организмах оплодотворение семяпочек не всегда происходит равномерно. Так, наиболее высокая частота оплодотворенных семяпочек наблюдалась у гибридной комбинации, полученной от гибридизации хлопчатника сорта 146 и линии Л-38, а также сорта 146 и линии Л-983, у которых количество оплодотворенных семяпочек достигло 62,0%. Это явление, вероятно, связано с географически отдаленным происхождением скрещиваемых исходных родительских форм. Отмечено, что наименьшее количество оплодотворенных семяпочек в гибридных коробочках наблюдалось тогда, когда были скрещены географически отдаленные и генотипически разнокачественные формы, такие как сорт 75007-3 и К-Б-2 и линии Л-983, Л-38.

Таким образом, для получения наибольшего количества полноценных гибридных семян целесообразно проводить гибридизацию между географически отдаленными и генотипически близкими формами хлопчатника.

СЕКЦИЯ «Прикладная биотехнология»**СОЗДАНИЕ BIOTEХНОЛОГИЧЕСКИХ ФОРМ ДЕРЕВЬЕВ С НОВЫМИ СВОЙСТВАМИ****Шестибратов К.А.**

Филиал Учреждения Российской академии наук Института биоорганической химии им. акад. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Пущино (Россия)

E-mail: schestibratov@fibkh.serpukhov.su

Открытие и детальное изучение фундаментальных принципов культуры *in vitro* изолированных клеток, тканей и органов растений в свое время (60-80-е гг XX века) сыграло решающую роль в появлении нового направления в биологии – биотехнологии растений. В свою очередь в этой области одними из ключевых методов являются клональное микроразмножение и генетическая трансформация. Основные достижения в этой сфере с древесными растительными объектами получены за последние 20 лет. Большая часть этих разработок уже перешла в ранг технологий.

Мировой опыт показывает, что использование технологий клонального микроразмножения и генетической трансформации в лесном хозяйстве позволяет существенно продвинуться в решении ряда острых проблем, связанных в первую очередь с продуктивностью лесных культур, качеством и количеством посадочного материала. Например, для повышения продуктивности (скорости роста) древесных растений может быть использован такой подход как экспрессия рекомбинантных UDP-глюкозо-дегидрогеназ, пероксидаз, специфических факторов транскрипции, целлюлаз или глутаминсинтетаз. Последний фермент показал наиболее лучший результат (скорость роста трансгенных форм выше контроля на 30-40%) в сочетании с отсутствием побочных эффектов. Однако до стадии коммерческого использования на сегодняшний день дошли только трансгенные древесные породы с повышенной устойчивостью к вредителям (формы с геном *Vt*-токсина) и специфической устойчивостью к гербицидам (на основе фосфинотрицина и глифосата). Следующие кандидаты на коммерциализацию – формы с модифицированным составом лигнинов, устойчивостью к фитопатогенам, мужской стерильностью. Лидеры в сфере коммерциализации трансгенных лесных пород – США, Канада, Бразилия и Китай.

При производстве посадочного материала, в первую очередь ценных генотипов, широко используются технологии клонального микроразмножения. Для большого перечня видов существуют как лабораторные, так и производственные протоколы клонального микроразмножения. Для некоторых пород (лиственница, пихта, дуб, ель, сосна и др.) разработаны технологии создания искусственных семян. Наиболее успешный опыт использования искусственных семян в таких странах, как США, Канада и Австралия.

Известен также способ создания новых форм деревьев путем комбинации таких методов как молекулярное маркирование и клональное микроразмножение. Суть способа в избирательном размножении только целевых генотипов выделяемых из популяции по наличию определенных генетических маркеров. Популяции могут быть природными, а также являться результатом направленного скрещивания. Последний способ более эффективен. Преимущество данного метода в том, что он не относится к генно-инженерным и не попадает под законодательное регулирование.

В настоящее время вторую волну популярности переживает метод искусственной полиплоидизации. Из сельскохозяйственной практики известно, что кратное увеличение пloidности часто приводит к повышению урожайности, увеличению размеров и качества плодов. В случае лесных древесных растений этот метод использовался значительно реже, однако, уже доказано, что существует возможность создания, например, тетраплоидных форм из диплоидного растительного материала таких пород как тополь, береза, клен и др. Такие растения отличаются более высокими ростовыми показателями.

Вне зависимости от способа получения биотехнологические формы деревьев с новыми свойствами перед промышленным использованием должны подвергаться биологическим испытаниям в полевых условиях. Неоднократно отмечалось, что новые свойства, проявляемые в фенотипе в лабораторных и даже тепличных условиях, не всегда сохраняются в открытом грунте.

Современное разнообразие методов и подходов создания деревьев с новыми свойствами указывает, с одной стороны, на сложность объекта, а с другой на востребованность результатов на практике. В ближайшем будущем, по-видимому, все известные методы будут использоваться в равной степени и в новых комбинациях, что может расширить возможности лесной биотехнологий как прикладной науки в целом.

АПТАМЕРЫ К СИГМА-СУБЪЕДИНИЦЕ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ *ESCHERICHIA COLI* ПОДАВЛЯЮТ ИНИЦИАЦИЮ ТРАНСКРИПЦИИ

Жилина Е.В., Кульбачинский А.В.

Учреждение Российской академии наук Институт молекулярной генетики РАН,
Москва (Россия)

E-mail: katerina-zhilina@rambler.ru

Сигма-субъединица РНК-полимеразы (РНКП) является главным фактором инициации транскрипции у бактерий и играет основную роль в узнавании промоторов. Соединения, подавляющие взаимодействия сигма-субъединицы с ДНК, должны нарушать взаимодействия РНКП с промоторами и могут быть использованы для разработки новых высокоэффективных ингибиторов РНКП и антибактериальных препаратов на их основе. В нашей работе были охарактеризованы высокоспецифичные оцДНК-аптамеры к сигма70-субъединице РНКП *Escherichia coli*, полученные при помощи метода SELEX. Изучено два класса аптамеров, различающихся по последовательности и предполагаемой вторичной структуре. Аптамеры первого класса содержат в своем составе последовательность -10 элемента промотора и структуру G-квадруплекса; аптамеры второго класса не содержат промоторных элементов. Аптамеры обоих классов специфически связываются с сигма-субъединицей РНКП *E. coli*, а также с фрагментами сигма-субъединицы, содержащими район, участвующий в узнавании промоторов. Показано, что аптамеры первого класса являются высокоэффективными ингибиторами инициации транскрипции холоферментом РНКП *E. coli*, препятствуя взаимодействию РНКП с промоторами; для действия аптамеров необходимо наличие в их составе -10 элемента. В то же время, аптамеры второго класса влияют на инициацию транскрипции гораздо слабее. Таким образом, наличие в составе аптамеров первого класса промотор-подобной последовательности, по-видимому, обеспечивает наиболее эффективное блокирование ДНК-связывающих участков сигма-субъединицы.

Работа поддержана ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы (госконтракт №02.740.11.0771 и №02.740.11.5132).

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЫХОДА БИОЭТАНОЛА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ИЗМЕЛЬЧЕНИЯ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНОГО СЫРЬЯ

Костина Е.Г., Ревин В.В.

Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, Саранск (Россия)

E-mail: kostinalena@rambler.ru

В современном мире человечество ведет поиски дешевого и легко возобновляемого источника энергии. Лигноцеллюлозная биомасса и различные целлюлозосодержащие промышленные отходы, такие как опилки, зерновые остатки, костра льна, солодовая дробина, отходы целлюлозно-бумажного производства, а также гидролизаты целлюлозных материалов представляют потенциальный интерес как дешевый возобновляемый источник сырья для получения различных продуктов и топлива, в частности, биоэтанола. В процессах биоконверсии лигноцеллюлозы стадией, сдерживающей внедрение данной технологии в производство, является ферментативный гидролиз целлюлозы до глюкозы с последующим сбраживанием в этанол. При этом сырье, направляющееся для ферментативного гидролиза, должно пройти предобработку. Так для эффективного гидролиза с помощью ферментов требуется предварительная обработка, направленная на разрушение кристаллической структуры целлюлозы.

Целью настоящей работы было изучение влияния степени измельчения лигноцеллюлозного сырья на выход редуцирующих сахаров и накопление биоэтанола.

В работе использовали следующие варианты лигноцеллюлозных субстратов: ультрадисперсные опилки (образец 1), опилки с размером частиц 0,5×1мм (образец 2) и 1×5 мм (образец 3). Ферментативный гидролиз проводили с помощью препарата «Ламинекс БГ». Анализ полученных данных показал, что максимальное накопление редуцирующих сахаров наблюдается в варианте опыта с ультрадисперсной степенью измельчения (образец 1), их выход на 4 сутки составляет 6,7 мг/мл, что на 50% выше по сравнению с образцом 2 и на 72% по сравнению с образцом 3. Максимальное количество этанола образуется при использовании осахаренного образца 1 и составляет 0,291 г/100 мл, что в свою очередь коррелирует с максимумом образования редуцирующих сахаров.

НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ БОРЬБЫ С ТЕРМИТАМИ В УЗБЕКИСТАНЕ

Жугинисов Т.И., Хамраев К.А., Холматов Б.Р.

Институт зоологии АН РУз, Ташкент (Узбекистан)

E-mail: braupov@rambler.ru

Отряд термиты (*Isoptera*) - высокоразвитые насекомые. Во всех странах Центральной Азии одними из самых опасных вредителей, наносящими огромный ущерб зданиям и сооружениям, в том числе историческим памятникам культуры, являются туркестанский (*Anacanthotermes turkestanicus* Jacobs, 1904) и большой закаспийский (*A. ahngerianus* Jacobs, 1904) термиты.

Быстро размножаясь, они наносят огромный ущерб жилым и нежилым строениям. Противотермитные мероприятия в жилых и административных помещениях усложняются тем, что порой невозможно проводить раскопки и обработку почв, не разрушив строение, т.к. помещения пронизаны ходами с камерами в подпольном грунте, стенах, печах, потолочных настилах, крышах, которые превращают весь дом в своеобразное гнездо. Требуются другие подходы контроля с учетом особенности биологии, экологии, физиологии размножения и питания термитов.

В настоящее время во всех исторических объектах Узбекистана наблюдается рост темпов зараженности термитами, в частности, в Республике Каракалпакстан заражено 9 объектов, Андижанской области – 13, Наманганской области – 26, Джизакской области – 1, Кашкадарьинской области – 29, Сурхандарьинской области – 1, Бухарской области – 11, Хорезмской области – 41. Возрастает разрушительное влияние термитов на культурные исторические памятники древности г.Хивы, особенно на такие как Джума мечеть, Куныя Арк, исторический комплекс Палван Кори, русскоязычную школу, минареты Хорезмских ханов, архитектуру Пахлавана Махмуда и прилегающую к историческому заповеднику «Ичан калъа» махаллю «Мевастон» и др., т.е. из 57 исторических объектов на сегодняшний день заражены термитами 41.

На основании проведенных изысканий из 39 видов растений флоры Узбекистана выявлено 5, которые наиболее предпочитаемы термитами в качестве пищи и привлекаемы для них. На основании этих исследований были разработаны новая технология изготовления и применения приманок в борьбе с термитами, матрицей которых служат данные предпочитаемые растения с добавлением отравляющих химических или биологических компонентов. Данные приманки обладают высокой эффективностью по отношению к термитам и экологической безопасностью к окружающей среде и здоровью человека.

СПОСОБ БИОСЕНСОРНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭНТЕРОТОКСИНОВ *ESCHERICHIA COLI*

Сухарев С.Ю., Головина И.В.

Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, Харьков (Украина)

E-mail: stassukharev@mail.ru

Формирование патологического процесса при колибактериозе связано с продукцией токсигенными *Escherichia coli* энтеротоксинов. Однако несовершенство современных методов

определения токсигенности затрудняет диагностику этого заболевания. Так как результаты лабораторной диагностики часто запаздывают, а большая часть болезни проходит без лечения, то существующие методы дают мало диагностически значимой информации, и ведут к необоснованным затратам.

В основу создания биосенсора положена способность энтеротоксинов активировать клеточную аденилат-гуанилатциклазу что, в свою очередь, вызывает существенное увеличение внутриклеточного уровня цАМФ и цГМФ, которые являются медиаторами дезагрегирующего действия на тромбоциты млекопитающих.

Конструктивно биосенсор представлял собой комбинированное устройство сочетающее биологический экспрессный метод и автоматический анализ, состоящий из двух преобразователей, или трансдюсеров - биологического и физического. В качестве биологического трансдюсера, использовали тромбоциты крови барана, которые выполняли функцию биологического элемента распознавания энтеротоксинов *E. coli*, а в роли физического трансдюсера - агрегометр DAMON/IEC DIVISION (Needham heights, Massachusetts, USA).

Установили что добавление к 1 мл плазмы крови барана супернатанта фекалий, больных диареей телят, с содержанием белка в препаратах 10-20 мкг/мл, раствора АДФ (индуктор агрегации тромбоцитов) и экспозиции 60 мин при комнатной температуре, вызывало дезагрегацию тромбоцитов, при 100% юс агрегации в положительном контроле (1 мл плазмы крови, 0,2 мл 14% раствора сульфата магния и 0,2 мл раствора АДФ), что свидетельствовало о присутствии в исследуемых образцах энтеротоксинов *E. coli*.

Разработанный способ дает возможность анализировать сложные по составу смеси, содержащие энтеротоксины *E. coli* без предварительной их очистки; определять очень низкие их концентрации в малых образцах; осуществлять экспресс-диагностику колибактериоза, определять энтеротоксины до клинического проявления болезни, что позволяет своевременно проводить противоэпидемиологические и профилактические мероприятия, а также осуществлять эпизоотологический мониторинг за присутствием и распространением токсигенных штаммов кишечной палочки в окружающей среде.

СОЗДАНИЕ СТАРТЕРНЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КОМПОЗИЦИЙ ДЛЯ ФЕРМЕНТИРОВАННЫХ МЯСНЫХ ПРОДУКТОВ

Бурцева А.В., Даниленко С.Г.

Технологический институт молока и мяса НААНУ, Киев (Украина)

E-mail: nyukaBu@rambler.ru

В последние годы для ферментации мясного сырья применяют бактериальные препараты на основе культур молочнокислых бактерий, грамположительных каталазополжительных кокков, дрожжей. Использование симбиотических ассоциаций штаммов, дополняющих ферментативный потенциал друг друга, позволяет повысить технологическую активность и расширить спектр желательных свойств бакпрепаратов. Из предварительно отобранных культур гомоферментативных лактобацилл, характеризующихся активным кислотообразованием в мясном сырье и антагонистической активностью против энтеробактерий и/или листерий, и культур стафилококков с высокой нитратредуктазной и каталазной активностью, было составлено 70 двухштаммовых композиций. При совместном культивировании зафиксировано: взаимное стимулирование роста (синергизм) стафилококков и лактобактерий – 21,4%, комменсализм – 37,1%, в остальных комбинациях – активный антагонизм одного из компонентов. Из композиций с синергическими взаимоотношениями между культурами было скомбинировано 17 трехкомпонентных вариантов с соотношением между штаммами 1:1:1. Способность культур к совместному росту в трехкомпонентных комбинациях была проверена по интенсивности кислотообразования и нарастанию численности в мясопептонном бульоне с добавлением глюкозы, контрольным вариантом служила композиция коммерческого препарата. Через 18 ч культивирования все созданные композиции повышали активную кислотность среды с нейтрального уровня до (3,55-4,15) од. рН. Однако для большинства вариантов наблюдалось увеличение численности лактобацилл на 1,5-2 порядка, тогда как колебания количества жизнеспособных стафилококков составляли – ($\pm 0,5$ lg) КОЕ/г. И только в пяти комбинациях зафиксировано значительное возрастание численности всех компонентов.

По испытаниям в мясном фарше наилучшими были результаты для трехштаммовых композиций (*L. plantarum*, *L. casei subsp. rhamnosus*, *S. simulans*) и (*L. plantarum*, *L. casei subsp. rhamnosus*, *S. equorum*).

ПРИМЕНЕНИЕ БАКТЕРИЙ РОДА *PAENIBACILLUS* ДЛЯ ВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ НИКЕЛЯ ИЗ СИЛИКАТНОГО МИНЕРАЛЬНОГО СЫРЬЯ

Репина А.А., Яцкив А.А., Быков А.Г.

Владимирский государственный университет, Владимир (Россия)
Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.Скрябина; Пущинский государственный университет, Пущино (Россия)

E-mail: repinaalenk@mail.ru

Методы биовыщелачивания наиболее рентабельны и экологичны при добыче ценных и промышленных металлов из бедных руд (<1%) и их отвалов. Бактериальное окисление сульфидных руд изучено довольно подробно. Механизм бактериального разрушения силикатного минерального сырья мало изучен и является объектом исследований.

Ранее была показана возможность применения бактерий *Paenibacillus mucilaginosus* и *P. edaphicus* для разрушения силикатных минералов. При этом механизм такого разрушения оставался неопределенным. Нами предположено участие в разрушении силоксанных связей =Si-O-Si= в силикатном минеральном сырье не только органических кислот, но и сахаров из экзополисахаридов, синтезируемыми клетками бактерий. Нами было показано воздействие *P. mucilaginosus* и *P. edaphicus* на силикатное минеральное сырье: канадскую руду «А» и техногенные отходы «Гвидон Голд». Мерой выщелачивания служили концентрации растворенного никеля методом ионной хроматографии и прирост концентрации белка в культуральной жидкости. Выщелачивание никеля за 2 дня составило 0,6% от его исходного содержания в канадской руде и достигло 80% (54-60 мг/мл) через 30 дней. Величина pH снизилась незначительно (до 7,0 -7,2). Проведен анализ сахаров, выделяемых клетками и доминирующих в составе экзополисахаридов.

Таким образом, показана возможность эффективного применения бактерий рода *Paenibacillus* для биовыщелачивания никеля из бедных руд и техногенных отходов, определены доминирующие компоненты экзополисахаридов, при этом определены основные условия и рекомендации для биовыщелачивания металлов из силикатных минералов.

РЕГУЛЯЦИЯ БИОСИНТЕЗА ЭТИЛЕНА – ГОРМОНА СОЗРЕВАНИЯ ПЛОДОВ, В СВЯЗИ С ОПТИМИЗАЦИЕЙ ПРОЦЕССА СОЗРЕВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

Торопкина А.С., Буланцева Е.А., Проценко М.А., Кораблёва Н.П.

Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва (Россия)

E-mail: protsenko@inbi.ras.ru

Фитогормон этилен участвует во многих физиологических процессах в растениях, включая созревание, старение и устойчивость к заболеваниям сочных запасующих органов. Регуляция биосинтеза этилена может влиять на темпы созревания и длительность послеуборочного хранения плодов. Интенсивность образования этилена можно изменить с помощью физиологически активных соединений (ФАС) различной химической природы. К метаболическим ингибиторам относятся: аминоэтоксивинилглицин (АВГ), аминоксиксусная кислота (АОК) и хлористый кобальт (CoCl₂). Одним из продуцентов этилена является 2-хлорэтилфосфоновая кислота (2-ХЭФК), который можно использовать как самостоятельно, так и в составе комплексных препаратов. К числу препаратов нового поколения относится этацид, содержащий 2-ХЭФК и антибиотический компонент метацид. Астаксантин и бутилоксианизол проявляют свойства антиоксидантов. Обработка плодов яблони и банана этацидом индуцировала выделение этилена, вызывая ускорение созревания плодов яблони. Ингибиторы АОК, АВГ и CoCl₂ действовали на разных этапах биосинтеза этилена, задерживая

физиологический процесс старения, что приводило к увеличению продолжительности хранения. Обработка астаксантином и бутилоксанизолом увеличивала время до появления пика выделения этилена плодами. Белковый ингибитор полигалактуроназы (БИПГ) участвует в процессах роста и созревания плодов, а также снижает активность фермента полигалактуроназы, секретируемого фитопатогенными микроорганизмами. Обработка препаратами, регулирующими биосинтез этилена, приводила к изменению содержания БИПГ, которое коррелировало с интенсивностью выделения этилена.

Результаты проведенных экспериментов показывают, что с помощью метаболитических ингибиторов и ФАС можно регулировать темпы созревания плодов яблоки и банана, а также их устойчивость к болезням. Полученные биологические параметры применения изученных нами ФАС будут использованы при разработке новых биотехнологий повышения лежкоспособности плодов и прогнозирования длительности их хранения.

***BACILLUS COAGULANS* КАК ИСТОЧНИК ПРЕБИОТИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ**

Маслихова А.А., Модогоева Н.В., Бубеев А.Т., Цыренов В.Ж.

Восточно-Сибирский государственный технологический университет,
Улан-Удэ (Россия)

E-mail: *nuunik@mail.ru*

Перспективным направлением является использование пребиотиков в целях профилактики и коррекции микробиологических нарушений в пищеварительном тракте, улучшающих разнообразных физиологических функций и протеканию метаболитических реакций. Способствующих улучшению здоровья человека за счет избирательной стимуляции роста и метаболитической активности бактерий (лактобактерий, бифидобактерий) толстой кишки.

Перспективные источники пребиотических препаратов – пробиотические культуры микроорганизмов, существующие в симбиозе с молочнокислыми бактериями. К такой категории относятся спорообразующие бактерии, такие как *Bacillus coagulans*.

Исследование воздействия культуральной жидкости и гидролизата биомассы *B. coagulans* на кисломолочные бактерии проводили методом Мак-Креди. Инкубацию проводили при температуре 37°C - регистрируют наличие или отсутствие роста микроорганизмов визуально (помутнение среды, образование пленки, осадка, появление сгустка). Для оценки изменений морфологических признаков *Bifidobacterium bifidum* до и после эксперимента проводили окрашивание по Граму.

Микроскопическая картина показала, что отличий от контроля не наблюдаются: неспорообразующие, грамположительные палочки (0,5-0,7*2-8 мк); клетки их при первичном выделении прямые или в виде запятой, с булавовидным утолщением на конце, иногда ветвящиеся (У, Т-формы), зернистые, наблюдается тенденция к образованию цепочек. В качестве контроля служила культура кисломолочных бактерий без добавления культуральной жидкости и гидролизата биомассы *B. coagulans*.

Наибольшее увеличение концентрации молочнокислых бактерий наблюдали при внесении культуральной жидкости ($N=10^{30}$), по сравнению с гидролизатом биомассы ($N=10^{13}$), и контролем ($N=10^{10}$). Это можно объяснить продуцированием ростовых факторов в культуральную жидкость.

СОЗДАНИЕ БИОБЕЗОПАСНЫХ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ГЕН HBsAg

Пучко Е.Н., Рукавцова Е.Б., Бурьянов Я.И.

Филиал Учреждения Российской академии наук Института биоорганической химии им. акад. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Пущино (Россия)

E-mail: *elena.puchko@gmail.com*

Целью данной работы стало получение безмаркерных растений с геном поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg). Разработан способ получения трансгенных растений, не

содержащих селективных генов устойчивости к антибиотикам. Преимущество разработанной стратегии заключается в том, что сокращается время отбора трансгенных растений и одновременно появляется возможность прямой количественной оценки синтеза продукта целевого гена. Для трансформации растений создана плаزمид рВМ, не содержащая гена устойчивости к канамицину *nptII*. В эту плазмиду клонирован ген *HBsAg* под контролем двойного промотора 35S РНК вируса мозаики цветной капусты CaMV 35SS. Полученную конструкцию рВМ-Аg перенесли в штамм агробактерий, который использовали для заражения семян табака *Nicotiana tabacum* L. и томата *Lycopersicon esculentum* Mill. с помощью вакуумной инфильтрации. Применение такого способа трансформации позволило повысить ее эффективность на 15-20% по сравнению с обычной трансформацией. Получено несколько линий растений табака и томата, синтезирующих HBsAg на уровне до 0,05% от общего растворимого белка. Получены трансгенные растения поколения F1, наличие гена *HBsAg* в которых подтверждено с помощью ПЦР. Иммуноферментный анализ показал, что количество HBs-антигена в растениях составляет до 0,02% от общего растворимого белка. Синтез HBs-антигена в полученных трансгенных растениях достаточен для использования их в качестве безопасных продуцентов вакцины против гепатита В.

Исследование выполнено при поддержке РФФИ (проект № 11-08-00413) и Программы Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере «Участник молодежного научно-инновационного конкурса (У.М.Н.И.К)» -2009.

ОТЗЫВЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ НА ИНОКУЛЯЦИЮ БАКТЕРИЯМИ ВЕРОЯТНО ЗАВИСИТ ОТ СОДЕРЖАНИЯ ЛЕКТИНА ПШЕНИЦЫ В СЕМЕНАХ

Кушнерук М.А., Старичкова Н.И., Антонюк Л.П.

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН; Саратовский
государственный университет им. Н.Г.Чернышевского, Саратов (Россия)

E-mail: kushneru-uk@mail.ru

Известно, что ростстимулирующие ризобактерии способны продуцировать для растения-хозяина фитогормоны, улучшать его азотное питание за счет азотфиксации, повышать стрессоустойчивость растений и защищать их от фитопатогенов; на этом основано применение бактериальных препаратов в растениеводстве. Для биопрепаратов, включая эффективные современные разработки, например БисолБисан, характерна нестабильность результатов их полевого применения – от значительных прибавок урожая до полного отсутствия эффекта; причины нестабильности остаются неизвестными. Накоплены данные, позволяющие предположить решающий вклад экскретируемого лектина – агглютинина зародышей пшеницы (АЗП) в формирование эффективного микробного сообщества на корнях пшеницы в начале вегетации и, соответственно, в увеличение урожайности этой культуры. Цель данной работы – создать коллекцию современных сортов пшеницы, контрастных по содержанию АЗП в семенах, и получить данные о возможной корреляции между содержанием АЗП и эффективностью инокуляции.

Проведена оценка 25-ти сортов мягкой и твердой пшеницы по содержанию АЗП в семенах. Обнаружена высокая вариабельность признака; создана коллекция перспективных сортов пшеницы, содержащая высоколектиновые и низколектиновые варианты с 40-кратной разницей между ними. С использованием контрастных сортов проведены два полевых эксперимента, в которых семена подвергали предпосевной обработке препаратом БисолБисан и суспензией эндофитной бактерий *Azospirillum brasilense* Sp245 – природного симбионта пшеницы. В целом, в экстремально засушливый вегетационный период 2010 года обработка ризобактериями, *Bacillus subtilis* (в составе БисолБисана) и *A. brasilense*, была эффективной: максимальные прибавки по массе зерна с делянки были 60 и 91%, соответственно. Отзывчивость растений на инокуляцию зависела от содержания АЗП: у низколектинового сорта Альбидум 28 положительная реакция была относительно невысокой (37%) и только при обработке азоспириллой; у высоколектинового сорта Саратовская 60 положительная реакция на бактериризацию проявлялась во всех случаях и была более выраженной.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ РЕКУЛЬТИВАЦИЯ ЗАГРЯЗНЕННОЙ НЕФТЬЮ ПОЧВЫ ПРИ НИЗКОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ

Смолова О.Н., Бакаева М.Д., Ануфриева Ю.С.

ООО «Юганск НИПИ», Ханты-Мансийск (Россия)

Учреждение Российской академии наук Институт биологии УНЦ РАН; Уфимский
государственный нефтяной технический университет, Уфа (Россия)

E-mail: margo22@yandex.ru

Природные условия на местах нефтяных разливов отличаются большим разнообразием. Поэтому исследование применимости биологических препаратов в условиях низких температур является важной задачей.

Способность биопрепаратов «Деойл» и «Ленойл» к разложению нефти в почве исследована в условиях модельного эксперимента на образцах почво-грунта среднеподзолистого легкосуглинистого, отобранного на территории Тюменской области. В качестве загрязнителя использована товарная нефть Угутского месторождения. Грунт инкубировали при температуре воздуха 10°C в течение 90 суток.

Биопрепарат с рабочим названием «Деойл» получен в Институте биологии УНЦ РАН и представляет собой консорциум бактерий, на основе морфолого-культуральных признаков и анализа последовательностей генов 16S рРНК идентифицированных как *Rhodococcus gingshengii* и *Pseudomonas nitroreducens*.

Уменьшение содержания углеводов в почве зафиксировано как в вариантах опыта с внесением биологических препаратов, так и без их использования (21% до 26%), по-видимому, за счет деятельности аборигенных углеводородокисляющих микроорганизмов. Однако средняя скорость разложения нефти в почве с участием биопрепаратов была выше. Эффективность утилизации нефти биопрепаратом Деойл (35% до 57%) сопоставима или превосходит эффективность коммерческого биопрепарата Ленойл (37% до 42%).

В образцах почво-грунта был определен и проанализирован видовой состав микроскопических грибов как индикатор экологического состояния почв. В загрязненных образцах уменьшалось видовое разнообразие, увеличивалась доля грибов рода *Penicillium*, доминировании видов *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium decumbens*, тогда как в незагрязненных почвах доминирующие позиции занимали микроскопические грибы рода *Huiphoderma*. В присутствии биологических препаратов в грунте формировался более выровненный на частоте встречаемости и более близкий к контрольному (незагрязненный грунт) набор видов микроскопических грибов, в котором присутствовали представители р. *Huiphoderma*, р. *Trichoderma*, р. *Mucor* и др.

Полученные результаты позволяют считать консорциум биопрепарата «Деойл» перспективным для рекультивации нефтезагрязненных почв Тюменской области.

ПЦР-МАРКЕРЫ ДЛЯ ВИДОВОЙ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ПЕРСИКА И АБРИКОСА

Мудрикова О.В., Просеков А.Ю., Мудрикова Ю.В.

Кемеровский технологический институт пищевой промышленности, Кемерово (Россия)

E-mail: mudrikovaov@mail.ru

Видовая дифференциация персика и абрикоса представляет собой сложную задачу поскольку оба представителя относятся к одному роду. В связи с этим, проблема их дифференциации в продуктах на растительной основе и при генетическом скрининге рассады до сих пор не решена.

В настоящее время апробированы и используются в практике для определения видовой принадлежности растительного сырья органолептические и некоторые физико-химические методы определения, основанные на таких показателях как, содержание растворимых сухих веществ, состав моно- и дисахаридов, состав и содержание органических кислот, аминокислот и т.д.

Разработка надежного и быстрого метода дифференциации персика и абрикоса на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР) является важной задачей современной биотехнологии. По

сравнению с традиционными способами видовой детекции, установление видовой принадлежности плодово-ягодного сырья при помощи ПЦР-анализа отличается универсальностью, более глубоким уровнем видовой дифференциации и высокой воспроизводимостью.

Одним из видов молекулярных маркеров для исследования полиморфизма геномов являются гены рибосомных РНК (рДНК), которые локализируются кластерами высоко повторяющихся последовательностей. Использовали ПЦР-амплификацию последовательностей внутренних транскрибируемых спейсеров ITS1 и ITS2 гена 5,8S рРНК, поскольку данные рибосомальные области согласованы таким образом, что обеспечивают низкий внутривидовой полиморфизм и высокую межвидовую изменчивость, значительно больше, чем 18S рРНК и 25S рРНК.

Для проведения дифференциации персика и абрикоса в плодах, напитках и других продуктах были разработаны две пары специфических олигонуклеотидных праймеров. Специфичность молекулярных маркеров устанавливали при скрининге образцов чистых культур с помощью видоспецифичных молекулярных маркеров. Было протестировано 10 образцов плодов и 20 образцов продуктов, содержащих растительное сырье.

ВЛИЯНИЕ ПОДГОТОВКИ СУБСТРАТА НА АДАПТИВНОСТЬ К УСЛОВИЯМ POST VITRO РАСТЕНИЙ *VITIS VINIFERA*

Ребров А.Н.

Всероссийский научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия им. Я.И. Потапенко, Новочеркасск (Россия)

E-mail: rebrov_anton@mail.ru

Одной из самых ответственных и трудоемких операций при получении оздоровленного посадочного материала винограда является адаптация к нестерильным условиям. При этом у некоторых сортов в культуре *in vitro* наблюдали формирование большого числа растений с витрифицированными побегами и листьями. При этом при переводе в нестерильные условия такие растения, как правило, погибают. Основным фактором повышения адаптивности в нестерильных условиях таких растений является снижение микробиологической инфекционной нагрузки полной стерилизацией субстрата (например автоклавированием). Полная стерилизация незаменима при использовании почвенных субстратов, из-за возможного наличия в них возбудителя бактериального рака (*Agrobacterium tumefaciens*), переносчиков НЕПО-вирусов (нематод), а также семян сорных растений являющихся хозяевами общих с *Vitis vinifera* вирусов. Однако полная стерилизация субстратов с органическими компонентами (почва, торф, перегной и т.п.) имеет негативные последствия, основное из которых полное уничтожение, полезной микрофлоры. На этом фоне в условиях повышенной влажности воздуха и субстрата во время адаптации уже через 3÷5 дней (после попадания из окружающего воздуха) начинают бурно развиваться плесневые сапрофитные грибки, часто ослабляющие нормально развитые растения и вызывающие почти полную гибель растений с признаками витрификации.

Для нивелирования отрицательного влияния обеспложивания субстрата, нами отработан способ, основанный на восстановлении микробиологического равновесия в субстрате, путем обработки его препаратом, содержащим широкий спектр полезных микроорганизмов, с последующей выдержкой, до высадки растений, во влажном и рыхлом состоянии, в течение двух недель. При этом в дальнейшем на субстрате развитие грибной инфекции не наблюдали. На этом фоне заметно возрастала приживаемость витрифицированных растений до 75%, тогда как в контроле она была не более 30%.

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Сытник Д.М., Стахив М.П.

Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины, Киев (Украина)

E-mail: sytnikov@list.ru

Экономический кризис, снижение качества продукции растениеводства, падение естественного плодородия почв – причины возрастающего внимания к биологическому земледелию, суть которого заключается в использовании потенциальных возможностей естественных экосистем. Биологическая азотфиксация – это процесс связывания и усваивания азота микроорганизмами. Симбиотические и ассоциативные системы растений и микроорганизмов-азотфиксаторов – пример эволюционно сложившегося специфического взаимодействия живых организмов, актуальность изучения которого заключается в решении ряда экономических и экологических проблем, путём создания новых эффективных биологических препаратов.

Микроорганизмы, являющиеся основой биопрепаратов, должны соответствовать ряду требований, таких как конкурентоспособность, вирулентность, активность и технологичность. Для практического применения микроорганизмов создают их различные препаративные формы – жидкая культура, твердые носители (перлит, вермикулит, торф, лигнин), гельные носители (силикагель, высокодисперсные материалы, экзополисахариды). Среди общих требований к биопрепаратам выделяют следующие – высокий титр активных клеток, необходимый срок хранения, транспортабельность, технологичность и экономичность производства.

Различные препаративные формы симбиотических и ассоциативных азотфиксаторов эффективно повышают продуктивность растений и могут быть рекомендованы аграрному сектору с учётом потребностей практиков и возможностей производства. Экономическая эффективность применения биопрепаратов зависит от прироста урожая растений, его стоимости и дополнительных затрат. Применение бактериальных препаратов ведет к незначительному удорожанию производства продукции, при этом экономический эффект применения азотфиксирующих бактерий достигается за счёт стоимости дополнительного урожая, снижения других производственных энергозатрат и экономии минеральных удобрений.

ЛИПОЛИТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА ПСИХРОТРОФНОГО МИКРООРГАНИЗМА *PSYCHROBACTER CRYOHALOLENTIS K5^T*

Новотоцкая-Власова К.А., Гиличинский Д.А., Петровская Л.Е., Крюкова Е.А.

Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН,
Пушино (Россия)

Институт биоорганической химии им. акад. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН,
Москва (Россия)

E-mail: nksusha@gmail.com

Липазы – это обширная группа ферментов, катализирующих реакции гидролиза триацилглицеридов до глицерина и жирных кислот. В последнее время наблюдается повышенный интерес к применению липолитических ферментов в том числе холодо-активных в различных биотехнологических процессах. Например, липазы с пониженным температурным оптимумом активности могут быть использованы в качестве добавок к стиральным порошкам, катализаторов в реакциях органического синтеза, проводимого при низких температурах, в биоремедиации в холодных районах и т.д. Многолетнемерзлые осадки, занимающие более 50% территории России, являются местообитанием различных микроорганизмов, в том числе бактерий, архей, грибов и водорослей. Одним из способов выживания этих организмов в условиях низких температур является синтез холодоактивных ферментов.

Объектом наших исследований стала психротрофная бактерия *Psychrobacter cryohalolentis* K5^T, выделенная из линзы отрицательнотемпературного рассола в толще многолетнемерзлых пород. Образование флюоресцирующего окрашивания и появление областей гидролиза при культивировании *P. cryohalolentis* на агаризованной среде с родамином В и трибутирином указывали на наличие липаз у этого организма. Была изучена липолитическая активность *P. cryohalolentis* в зависимости от стадии роста культуры. Активность измерялась в супернатантах и клеточных экстрактах с использованием паранитрофенилбутирата в качестве субстрата.

На сегодняшний момент геном *Psychrobacter cryohalolentis* K5^T полностью секвенирован и мы выбрали в нем 3 гена, кодирующие потенциальные липазы: Pcryo_0023, Pcryo_0443 и Pcryo_2458. С помощью генспецифичных праймеров они были амплифицированы на матрице

бактериальной ДНК и клонированы в плазмидный вектор pET32a. Была сконструирована система экспрессии этих генов в *E. coli*, обеспечивающая высокий уровень синтеза. Проведена предварительная характеристика очищенных белков.

Дальнейшее изучение липолитической системы *P. cryohalolentis* позволит оценить возможность применения этого микроорганизма в различных биотехнологических процессах.

Работа выполняется при поддержке гранта РФФИ 11-04-01264-а.

ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ ОТХОДОВ НЕФТЕПЕРЕРАБАТЫВАЮЩЕЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ АССОЦИАЦИЕЙ МИКРООРГАНИЗМОВ

Ракитин М.Ю., Прутенская Е.А., Сульман Э.М.

Тверской государственной технической университет, Тверь (Россия)

E-mail: prutenskaya@mail.ru

Нефть и нефтешламы, попавшие в окружающую среду в результате аварийных ситуаций при добыче, транспортировке, хранении и переработке, являются причиной многочисленных экологических проблем. Неблагоприятное воздействие нефтешламов на окружающую природную среду делают вопрос утилизации этих отходов весьма актуальным.

Наиболее эффективным обезвреживанием нефтешламов с высоким содержанием углеводов нефти является их компаудирование с торфом, почвой, опилкам. В почве всегда присутствует естественная микрофлора, которая может использовать нефтепродукты, как источник энергии и углерода. Однако, в этом случае обезвреживание нефтешламов будет идти продолжительное время. Для более эффективной и относительно быстрой деструкции углеводов нефти необходимо вносить монокультуры или консорциум микроорганизмов.

Целью работы являлась разработка ассоциации микроорганизмов, способной к деструкции углеводов нефти отходов нефтеперерабатывающих предприятий.

В экспериментах использовали модельные системы, содержащие нефть Каспийского месторождения. Исследуемая нефть содержала около 10% парафинов и 0.2% серы. Качественный и количественный анализ нефти проводился при помощи газовой хроматографии на хроматографе Кристаллюкс-4000, оснащенный пламенно-ионизационным детектором, с использованием капиллярной колонки Zebtron ZB-FFAP 50 и хроматомасс-спектрометре GCMS-QP2010. Экстракцию углеводов нефти из нефтешламов осуществляли органическими растворителями. Для исследований использовали микроорганизмы, предоставленные кафедрой «Биотехнологии» РХТУ им. Менделеева и выделенные на кафедре «Биотехнологии и химии» ТвГТУ.

Были подобраны оптимальные условия биодеструкции углеводов нефти в модельных нефтешламах (температура; pH; концентрация углеводов нефти, минеральных солей). Показано, что наиболее эффективными деструкторами в ассоциации являются дрожжи рода *Candida*. Подобраный консорциум способен разлагать не только легкие фракции нефти, такие как гексадекан, но и дизельное топливо и более тяжелые фракции нефти, например мазут, т.е. деструктировать широкий спектр углеводов. Причем консорциум не теряет свою окислительную активность при содержании гексадекана, дизельного топлива, нефти и мазута при 5% масс.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕГО СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУРАХ ПАЖИТНИКА ГРЕЧЕСКОГО

Логвина А.О.

Белорусский государственный университет, Минск (Беларусь)

E-mail: hanna.lohvina@gmail.com

Фенольные соединения представляют собой один из наиболее разнородных и многочисленных классов вторичных метаболитов растений. Спектр их фармакологической активности чрезвычайно широк. В этой связи значительный интерес представляет поиск экономически выгодных и экологически безопасных способов получения данных соединений в чистом виде в промышленных масштабах, среди которых биотехнологический метод культуры

клеток и тканей растений является наиболее перспективным. Пажитник греческий (*Trigonella foenum-graecum* L.) – это одно из древнейших лекарственных растений, синтезирующее биологически активные вещества различных классов, в том числе фенольные соединения. Клеточные культуры данного растения могут служить альтернативным источником получения этих веществ. При этом известно, что происхождение культур *in vitro*, а также физические условия культивирования, в частности условия освещения, могут в значительной степени определять их биосинтетический потенциал. В связи с этим, целью данной работы явилось количественное определение суммы фенольных соединений в каллусах пажитника греческого озимого и ярового сортов, культивируемых в темноте и на свету, полученных на основе листовых и стеблевых эксплантов.

Общее содержание фенольных веществ определялось спектрофотометрически с применением реактива Фолина-Чиокалтеу в пересчете на хлорогеновую кислоту.

В ходе проведенных исследований установлено, что суммарное содержание фенольных соединений в темновых каллусах листового и стеблевого происхождения пажитника греческого озимого и ярового сортов варьировало незначительно (6,24-6,94 мг/г сухой массы). Те же клеточные культуры, выращиваемые на свету, демонстрировали в среднем на 40% более низкую способность к биосинтезу данной группы вторичных метаболитов.

Таким образом, показано, что свет оказывал значительное негативное влияние на синтез фенольных соединений изучаемыми каллусными культурами, в то же время этот показатель не зависел от происхождения первичных эксплантов и сорта растения, служившего их источником.

ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА РОСТ И СИНТЕЗ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ *RHODOCOCCLUS ERYTHROPOLIS* ЭК-1

Квятковская И.В., Софилканич А.П., Пирог Т.П.

Национальный университет пищевых технологий, Киев (Украина)

E-mail: irinakvyatkovskaya@mail.ru

Благодаря уникальным физико-химическим свойствам (биodeградability, нетоксичность, устойчивость в широком диапазоне pH и температуры,) микробные поверхностно-активные вещества (ПАВ) привлекают внимание исследователей как в теоретическом, так и прикладном аспекте. Предполагается, что синтез ПАВ может быть адаптационным механизмом, обуславливающим защиту продуцентов от воздействия неблагоприятных факторов, в том числе и от тяжелых токсичных металлов.

Цель данной работы – изучение влияния токсичных металлов (Cu^{2+} , Cd^{2+} и Pb^{2+}) на рост *Rhodococcus erythropolis* ЭК-1 и синтез поверхностно-активных веществ, а также исследование роли метаболитов с поверхностно-активными свойствами в защите клеток от воздействия Cu^{2+} .

Установлено, что внесение в среду культивирования штамма ЭК-1 с этанолом Cu^{2+} (0,01 мМ) в экспоненциальной фазе роста сопровождалось повышением синтеза ПАВ на 25-35%. При наличии в среде Cd^{2+} (0,01 мМ) наблюдали угнетение роста и синтеза ПАВ *R. erythropolis* ЭК-1. Внесение Pb^{2+} (0,01 мМ) приводило к прекращению роста и синтеза ПАВ, однако после пересева бактерий на среду без металла активизировался синтез метаболитов с эмульгирующими свойствами. Так, индекс эмульгирования культуральной жидкости в этом случае повышался от 43% до 65%.

Внесение Cu^{2+} в концентрации 0,01 мМ в суспензию клеток, освобожденных от поверхностно-активных веществ, сопровождалось полной их гибелью, в то время как в присутствии ПАВ выживаемость бактерий после обработки металлом составляла 65%.

Полученные результаты являются основой для разработки природоохранных технологий с использованием поверхностно-активных веществ *R. erythropolis* ЭК-1.

УЛЬТРАСТРУКТУРА КЛЕТОК СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ *POLYSCIAS FRUTICOSA* ПРИ ПЕРЕХОДЕ К СТАЦИОНАРНОЙ ФАЗЕ РОСТА

Соловьева Л.В.¹, Гафиятова Э.И.¹, Суханова Е.С.², Кочкин Д.В.², Абдрахимов Ф.А.³, Абдрахимова Й.Р.¹, Носов А.М.²

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

²Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва (Россия)

³Казанский институт биохимии и биофизики РАН, Казань (Россия)

E-mail: Ljybava-8881@yandex.ru

Растения рода *Polyscias* (сем. *Araliaceae*) являются фармакологически ценными благодаря содержанию тритерпеновых сапонинов. Биотехнологическое выращивание дает возможность сохранения культивируемыми клетками способности к биосинтезу многих ценных соединений, однако в условиях *in vitro* могут происходить изменения вторичного метаболизма, что должно отражаться на ультраструктуре клеток.

Целью исследований являлся анализ ультраструктурной организации клеток суспензионной культуры *Polyscias fruticosa* (L.) Harms. при ее переходе к стационарной фазе роста.

Анализ ростовых характеристик выявил отсутствие лаг-фаза в процессе культивирования, а переход с экспоненциальной на стационарную фазу роста отмечался на 10-11-е сутки. лаг-фаза, переход на стационарную фазу роста, и соответственно замедление экспоненциальной отмечалось на 10-11-е сутки

Электронно-микроскопический анализ показал, что культура в завершении логарифмической фазы роста (на 8-е сутки) состояла из гетерогенных по стадиям развития клеток, объединенных в кластеры. В центре дифференцированных клеток располагалась большая центральная вакуоль, по периферии – мелкие литические вакуоли. Хондриом представлен палочковидными митохондриями с небольшим количеством крист. Пропластиды плеоморфны, содержали крупные крахмальные зерна. Цитоглобулы преимущественно средней электронной плотности, иногда образовывали скопления. Так как тритерпеноидные соединения синтезируются из мевалоната в цитозоле, именно в этом компартменте были отмечены округлые включения со сложной внутренней структурой, липидный матрикс которых содержал локальные зоны, представленные в виде «сети» и образованные более осмиофильным веществом.

Полученные ультраструктурные данные подтверждаются результатами тонкослойной хроматографии, согласно которым было идентифицировано не менее двух тритерпеновых гликозида с Rf 0,17 и 0,28.

Таким образом, установлено, что при переходе к стационарной фазе роста, клетки суспензионной культуры *P. fruticosa* сохраняют способность к синтезу сапонинов, которые преимущественно накапливаются в клетке в структурах, являющихся производными от липидных капель цитоплазмы - цитоглобул.

УСЛОВИЯ РИЗОГЕНЕЗА И ВЫВОДА ИЗ АСЕПТИКИ ЦЕННЫХ СОРТОВ ВИДА *SYRINGA VULGARIS* L.

Сошинкова Т.Н., Гурьянова А.Ю.

Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН, Москва (Россия)

E-mail: soshinkova@mail.ru

Род *Syringa* является одним из самых перспективных для использования в садово-парковом строительстве и городском озеленении. Но при современных темпах создания тематических ландшафтов потребность в посадочном материале этих растений не удовлетворяется в полной мере. Альтернативным способом размножения является микроклональное, которое не только позволяет за короткий срок получить большое количество посадочного материала, но также способствует поддержанию генофонда ценных сортов.

Цель данной работы состояла в подборе оптимальных условий ризогенеза и вывода из асептики следующих сортов: Красавица Москвы, Сенсация, Экселент, Моник Лемуан, ранее

культивируемых *in vitro* в климатических камерах. Для укоренения использовали верхушки побегов длиной 15-20 мм, которые переносили на питательные среды MS, ½ MS, DCR и WPM с различными комбинациями гормонов, витаминов и сахарозы. Появление первых корней отмечалось на 14-16 день культивирования, причем высокий процент укоренения был характерен для питательных сред WPM и DCR с концентрацией НУК до 1 мг/л и без гормонов соответственно. На этапе вывода из асептики было использовано несколько приемов: адаптация в климатической камере после извлечения растений из культурального сосуда и адаптация к условиям внешней среды непосредственно в сосуде. Затем, растения с хорошо развитыми корнями пересаживали в почвенную смесь, состоящую из песка, торфа, вермикулита и биогумуса в соотношении 1:1:0,5:0,1 и переносили для акклиматизации в теплицы. Таким образом, нами были оптимизированы условия ризогенеза и вывода из асептики ценных сортов сирени, которые могут быть использованы для быстрого размножения ценных генотипов.

КЛОНИРОВАНИЕ И ЭКСПРЕССИЯ В РАСТЕНИЯХ ТАБАКА (*NICOTIANA TABACUM*) И РЯСКИ МАЛОЙ (*LEMNA MINOR*) ГИРУДИНА

Таранов А.И.^{1,2}, Фирсов А.П.², Долгов С.В.²

¹Пушинский государственный университет; ²Филиал Института биоорганической химии им. акад. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Пушкино (Россия)

E-mail: taranovemva@rambler.ru

Гирудин – высокоспецифический прямой ингибитор тромбина, обнаруженный в слюнных железах медицинской пиявки *Hirudo medicinalis*. В настоящее время препараты гирудина используются при лечении широкого спектра заболеваний, таких как - антикоагулянтная терапия при тромбозах, профилактика и лечение тромбозов после хирургических вмешательств и переломов и др.

На данный момент существует два источника получения гирудина – природный из слюнных желез пиявки и синтез рекомбинантного гирудина в дрожжах. Оба этих способа дорогостоящи, кроме того, гирудин, синтезированный в дрожжах, обладает лишь 20-30% активности от природного. Это связано с недостаточной точностью процессинга молекул гирудина в дрожжах.

Нами исследуется возможность синтеза гирудина в растительных экспрессионных системах. Преимуществом такого подхода является низкая стоимость конечного продукта, а также наличие в растениях биохимических систем, необходимых для формирования корректной вторичной структуры гирудина.

Аминокислотная последовательность гирудина была получена из баз данных GenBank. К N-концу аминокислотной последовательности гирудина в трансляционном слиянии был добавлен сигнальный пептид α-амилазы риса. Для усиления экспрессии гирудина в растениях была проведена оптимизация кодонного состава последовательности кодирующей ДНК с помощью программы Gene Composer. Синтез последовательности ДНК был выполнен методом полимеразной цепной реакции. Для дизайна наборов перекрывающихся олигонуклеотидов была использована программа Primo Optimum 3.6 Optimal Gene Synthesis And Expression. Полученная нуклеотидная последовательность была клонирована в вектор pBI121 под контролем 35S промотора CaMV и отсиквенирована, нуклеотидная последовательность 3 из 5 проанализированных клонов соответствовала заданной. Полученный вектор был перенесен в *Agrobacterium tumefaciens* CBE21 и будет использован для трансформации растений табака (*Nicotiana tabacum*) и ряски малой (*Lemna minor*).

ПРИМЕНЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ В ТЕХНОЛОГИЯХ РЕГЕНЕРАЦИИ ПОЧВОЗАМЕНИТЕЛЕЙ В КОСМИЧЕСКИХ ОРАНЖЕРЕЯХ

Кривобок А.С., Чувильская Н.А., Щербакова В.А.

Государственный научный центр РФ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва (Россия)

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии
микроорганизмов им. Г.К.Скрябина РАН, Пушкино (Россия)

E-mail: *nuxin@yandex.ru*

В рамках разработки биолого-технических систем жизнеобеспечения космических экипажей в длительных автономных экспедициях ведутся активные работы по созданию установки для выращивания богатых витаминами овощных растений – космической оранжереи (КО). Разрабатываемая технология предусматривает использование в качестве корневой среды растений ионообменного волокнистого почвозаменителя (ВПЗ). В настоящее время при выращивании салатных культур в прототипе КО «Фитоцикл - СД» ВПЗ служат не более двух товарных вегетаций. Обнаружено, что в процессе эксплуатации происходит сдвиг основной гидрофизической характеристики (ОГХ) ВПЗ, свидетельствующий об ухудшении гидрофизических свойств корнеобитаемой среды. Накопление растительных остатков способствует росту сапротрофной микрофлоры и значительно снижает продуктивность посевов.

Регенерация ионообменного ВПЗ включает в себя 2 стадии: освобождение пор от корневых остатков и коррекцию химического состава ионитов. Одним из возможных способов удаления растительных остатков внутри ВПЗ является применение микроорганизмов – деструкторов растительного сырья. В работе были использованы различные биологические агенты, такие как микромицеты рода *Trichoderma*, термофильные анаэробные бактерии *Clostridium sp.*, ассоциации целлюлолитических бактерий.

Среди рассмотренных микроорганизмов наиболее эффективным биодеструктором корней явились анаэробные термофильные бактерии *Clostridium thermocellum*. Культивирование различных штаммов *C. thermocellum* в среде с корнями *Brassica pekinensis* при температуре 55°C в течение 10 суток приводило к потреблению от 30 до 60% целлюлозы из состава корней и способствовало 80% убыли сухого веса корневой массы. Эффективность процесса значительно увеличивалась в случае предварительного автоклавирования отработанного ВПЗ в 1% растворе NaOH.

Наряду с улучшением ОГХ материала, не было отмечено негативного влияния указанных процедур на состояние растений последующей вегетации. Таким образом, термофильные целлюлолитические бактерии *Clostridium thermocellum* в дальнейшем могут быть использованы в качестве биологических агентов для создания технологии регенерации ионообменного ВПЗ в биолого-технических системах жизнеобеспечения.

ВЛИЯНИЕ АРБУСКУЛЯРНО-МИКОРИЗНЫХ ГРИБОВ НА МИКОРИЗАЦИЮ И ПРОДУКТИВНОСТЬ РАСТЕНИЙ СОИ

Абдурашитов С.Ф.

Южная опытная станция Института сельскохозяйственной микробиологии НААН
Украины, с. Гвардейское (Украина)

E-mail: *asuleyman83@rambler.ru*

Один из эффективных микробиологических препаратов мирового сельского хозяйства для улучшения фосфорного питания растений, является препарат на основе арбускулярно-микоризных (АМ) грибов. Известно, что АМ грибы являются облигатными симбионтами и без растения-хозяина в природе их развитие не отмечено. Поэтому препарат на основе микоризных грибов производится в бинарной культуре «растение - АМ грибы» на смеси песка с вермикулитом.

Целью работы было изучить влияние разных компонентов субстратно-корневой смеси (СКС) с АМ грибами на наличие симбиотических структур в корнях сои и продуктивность растений. Влияние разных компонентов СКС на основе ассоциации АМ грибов ПЗ изучали в вегетационном опыте на смеси песка с вермикулитом. Анализ корневой системы на наличие микоризных структур проводили в разные фазы роста растений сои. Были использованы различные компоненты (отрезки корней, механизировано измельченные корни, их вариации с субстратом, субстрат) и дозы их внесения (0,1; 0,5; 1; 2 г/семя).

В результате проведенных исследований в контроле без инокуляции микоризных структур в корнях сои не выявлено. В варианте с обработкой «отрезками корней + субстрат» установлено, что инфицирование корней сои эндомикоризными грибами происходило уже с фазы первого тройчатого листа, а воздушно-сухая зеленая масса растений в фазу цветения увеличилась на 20,0-76,2% в сравнении с контролем в дозе 0,1 и 0,5 г/семя. В остальных вариантах применение препаративных форм СКС было малоэффективным. Вероятно, это объясняется недостаточным количеством сформированных спор в субстрате (1-2 штук/г), а при механизированном измельчении корней сохранением малого количества инфицирующих единиц: гиф и везикул.

Таким образом, для создания биопрепарата на основе АМ грибов, можно рекомендовать препаративную форму в виде отрезков корней смешанных с субстратом в дозе 0,1-0,5 г/семя как наиболее эффективную.

ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ MFS ТРАНСПОРТЕРА CefT ИЗ ШТАММА ПРОДУЦЕНТА ЦЕФАЛОСПОРИНА С А. *CHRYSOGENUM*

Думина М.В., Домрачева А.Г., Новак М.И., Бартошевич Ю.Э., Эльдаров М.А.,
Валиахметов А.Я., Жгун А.А.

Учреждение Российской академии наук Центр «Биоинженерия» РАН, Москва (Россия)

E-mail: DuminaMaria@gmail.com

Белки, кодируемые генами биосинтеза цефалоспорино С, осуществляют реакции в различных компартментах клетки *A. chrysogenum*, единственного промышленного продуцента данного β-лактаминового антибиотика. Проблема компартментализации решается посредством одного из транспортеров MFS-семейства CefT, отвечающего за секрецию целевого продукта.

С целью исследования функциональной активности белка, а также характеристики его мембранной топологии провели гетерологичную экспрессию CefT в трех штаммах *S. cerevisiae*: YPH857, SY4, AD1-8. Для этого на базе векторов pRS423-pRS426, pYCr2HSE сплайсированную форму *cefT*, слитую с последовательностью, кодирующей циановый флуоресцентный белок, ставили под контроль конститутивных *gpdA* промотора из *A. nidulans*, TEF1 из *A. gossypii* или термоиндуцибельного 2HSE промотора из *S. cerevisiae*. Штамм YPH857/PMA-YFP позволил установить мембранную топологию исследуемого транспортера относительно рафтового белка PMA, слитого с желтым флуоресцентным белком. Для получения данных о функциональной активности CefT провели его экспрессию в штамме, дефектном по MDR белкам, *S. cerevisiae* AD1-8. В работе использовали три предполагаемых субстрата CefT – фенилуксусную кислоту, циклогексимид D, этидий бромистый. Значимые результаты были получены при тестировании бромистого этидия в концентрации 400 мкг/мл, что выражалось в двукратном увеличении зоны ингибирования роста *S. cerevisiae* AD1-8/CefT по сравнению с контролем, что говорит о снижении резистентности к препарату штаммов, рекомбинантных по *cefT*.

Далее провели гомологичную экспрессию CefT в высокопродуктивном штамме *A. chrysogenum* 26/8. ВЭЖХ анализ отобранных клонов показал снижение продукции цефалоспорино С на 35-25% от уровня исходного штамма-продуцента при одновременном увеличении выхода его предшественников, дезацетил-, дезацетоскицефалоспорино С. По литературным данным, CefT способен повышать выход целевого продукта для низкопродуктивных штаммов. Однако, его повышенная экспрессия в высокопродуктивных штаммах приводит к снижению продукции цефалоспорино С, что может быть обусловлено неспецифическим транспортом в культуральную жидкость промежуточных форм его метаболизма.

СНИЖЕНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ СРЕДЫ ДРОЖЖЕЙ *PICCHIA PASTORIS* – ПРОДУЦЕНТОВ ХИМЕРНЫХ БЕЛКОВ

Сазонова Е.А., Карабельский А.В., Падкина М.В.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: jeniasaz@mail.ru

Недавние исследования показали, что секреция метилотрофными дрожжами *Pichia pastoris* рекомбинантных гибридных белков, состоящих из альбумина человека и молекул цитокинов, сопровождается протеолитической деградацией синтезируемых белков в культуральной жидкости.

В процессе расщепления секретируемых белков в дрожжах *Saccharomyces cerevisiae* принимают участие сериновые протеазы Kex1, Kex2 (КФ 3.4.21.61) и аспарагиновые протеазы Yps1, Yps2 (КФ 3.4.23.41). Недавно гомологи этих протеаз открыли у дрожжей *P. pastoris*. Было обнаружено, что протеолиз синтезируемых белков осуществляется ферментом, гомологичным аспарагиновой протеазе Yps1 дрожжей-сахаромицетов. Для снижения уровня протеолиза используют введение дополнительных субстратов для протеаз, ингибиторов протеаз, создание штаммов, мутантных по гену, кодирующему протеазу.

Мы показали, что снижение температуры культивирования, использование буферных растворов с нейтральным, щелочным значением pH, добавление ЭГТА до конечной концентрации 5 мМ позволяет уменьшить активность протеаз, и, тем самым, повысить продуктивность штаммов и обеспечить сохранение биологической активности белков. В ходе дальнейшего исследования мы обнаружили, что при ферментации в «BIOSTATR В plus» повышение pH с 6,0 до 10,0 снижает уровень протеолиза, не влияя на биологическую активность химерного белка Альбумин-интерферон-альфа16, а использование комплекса ингибиторов протеаз (Protease inhibitor cocktail) в рекомендуемой концентрации не приводит к снижению уровня протеолиза.

Известно, что использование штаммов с дизрупцией гена *YPS1* в большинстве случаев приводит к снижению активности протеаз, не оказывая существенного влияния на уровень синтеза рекомбинантных белков и жизнеспособность клеток. В ходе проделанной работы был клонирован ген *YPS1* дрожжей *P. pastoris*, на основе которого была получена плазида pYPS-ZEO, содержащая ген устойчивости к зеоцину (Bleo^r). Полученный вектор будет использован для создания штамма дрожжей *P. pastoris* с неактивным геном *YPS1*, что, возможно, позволит увеличить уровень синтеза сшитых с альбумином рекомбинантных белков.

СИНТЕЗ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ АНТИМИКРОБНЫЙ БЕЛОК ЭСКУЛЕНТИН

Совгир Н.В., Прокулевич В.А.

Белорусский государственный университет, Минск (Беларусь)

E-mail: nata506b@mail.ru

В связи с проблемой возникновения устойчивости патогенных штаммов бактерий к традиционным средствам терапии, целесообразным является поиск новых антибактериальных веществ, обладающих свойствами отличными от широко распространенных антибиотиков. Такими веществами являются антимикробные пептиды (АМП), которые могут быть использованы при разработке новых препаратов высокой эффективности, которые найдут свое применение, как в медицине, так и в ветеринарии для лечения различного рода инфекционных заболеваний.

К одним из таких АМП, перспективным для использования, относится эскулентин-1b, который обладает, по данным разных исследований, наиболее широким спектром антибактериальной и антифунгальной активности среди АМП, выделенных из кожных секретов прудовой лягушки (*Rana esculenta*). Данный пептид относится к семейству АМП эскулентин-1. Оно включает в себя пептиды (46-аминокислотных остатков), которые демонстрируют наиболее мощную антимикробную активность при незначительном токсичном воздействии на клетки эукариот.

Целью исследования является изучение особенностей экспрессии в бактериальных клетках нативной и модифицированных форм антимикробного белка эскулентина-1b.

На первом этапе *in vitro* при помощи ПЦР были синтезированы гены, кодирующие нативный белок эскулентин-1b и белок эскулентин, содержащий His-tag на С-конце молекулы. С помощью разработанных праймеров методом ПЦР были произведены замены редко встречающихся у прокариот триплетов в нуклеотидной последовательности гена эскулентина-1b.

Синтезированные гены были встроены в плазмиду pUC18 по сайтам рестриктаз *Nde* I и *Eco* RI, отсекужены и переклонированы в составе вектора экспрессии pET24b(+) в клетках *Escherichia coli* BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL.

На данном этапе ведется работа по оптимизации экспрессии с целью получения высокого выхода целевых продуктов.

ПОИСК РИЗОСФЕРНЫХ БАКТЕРИЙ, ОБЛАДАЮЩИХ ВЫСОКИМ АДАПТИВНЫМ ПОТЕНЦИАЛОМ К МУЛЬТИЗАГРЯЗНЕНИЮ

Крючкова Е.В., Любунь Е.В., Чернышова М.П., Бурьгин Г.Л., Турковская О.В.
Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов (Россия)

E-mail: kryu-lena@yandex.ru

Работа посвящена поиску ризосферных бактерий-деструкторов глифосата, устойчивых к тяжёлым металлам, не обладающих фитотоксичностью, способных колонизировать корни и стимулировать рост растений. С поверхности корней выделены 10 штаммов, которые протестированы на способность деградировать глифосат, используя его в качестве источника фосфора. Изучена пороговая чувствительность выделенных штаммов к тяжёлым металлам и соединениям мышьяка. В ходе исследования отобран штамм *Acinetobacter* sp. K7, обладающий высокой деструктивной активностью по отношению к глифосату, а также устойчивый к следующим концентрациям тяжёлых металлов (мг/мл): Pb - 1,31; Cd - 0,40; Ni - 0,57.

Данный штамм не подавлял рост ассоциативных бактерий рода *Azospirillum* при совместном культивировании. Не проявлял вирулентности по отношению к млекопитающим. Колонизировал проростки подсолнечника и оказывал выраженное стимулирующее действие на длину и развитие корней. Получены специфические миниантитела, позволяющие проводить идентификацию и мониторинг штамма *Acinetobacter* sp. K7 в лабораторных и полевых условиях. Методом ИФА показано, что в модельных экспериментах с загрязненной почвой в течение 30-ти суток численность интродуцированного *Acinetobacter* sp.K7 снижалась до предела чувствительности метода. Подобные бактериальные штаммы являются перспективными для очистки и восстановления почв, загрязнённых органофосфонатами и тяжёлыми металлами.

ВЛИЯНИЯ БИОПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ *PSEUDOMONAS* SP. НА РОСТ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ

Лукаткин А.А., Бурова Ю.А., Ибрагимова С.А.

Мордовский государственный университет им. Н.П.Огарева, Саранск (Россия)

E-mail: ussr1960@yandex.ru

Взаимодействие растений с ризосферными микроорганизмами играют важную роль в развитии растений, обеспечивая их соответствующим питанием и регуляторами роста, защищая от патогенных микроорганизмов. В последнее время отмечается интерес к микробиологическим препаратам, которые используются для повышения почвенного плодородия и продуктивности культурных растений, защиты их от фитопатогенной микрофлоры, повышения качества урожая.

На кафедре биотехнологии ведутся работы по созданию биопрепарата на основе бактерий рода *Pseudomonas* с целью использования в сельском хозяйстве для защиты растений от

фитопатогенных грибов. Антагонистические свойства бактерий *Pseudomonas* обусловлены не только синтезом антибиотиков, но представляют собой сложный комплекс, включающий образование белковых соединений и пептидов группы бактериоцинов и микроцинов, литических ферментов, сидерофоров и других биологически активных соединений.

При совместном культивировании *Pseudomonas* sp. с *Botrytis cinerea* развитие гриба наблюдалось в течение суток, на вторые сутки культивирования наблюдалось частичное разрушение грибного мицелия. Однако на девятые сутки культивирования культур наблюдалось частичное восстановление грибного мицелия.

При культивировании бактерии с грибом *Fusarium* sp. наблюдалась схожая картина взаимодействия между ними. Так рост гриба наблюдался до вторых суток, затем происходило частичное разрушение мицелия вызванное, скорее всего, окончательным развитием *Pseudomonas* sp. Спустя десять суток наблюдалось восстановление мицелия гриба, что возможно связано со старением культуры бактерии.

Результаты проведенной работы показывают принципиальную возможность использования бактерий *Pseudomonas* sp. для создания биопрепарата для защиты сельскохозяйственных растений. Данный вид защиты является более выгодным с экономической и экологической точки зрения по сравнению с использованием пестицидов для обработки растений.

ДИНАМИКА ВОССТАНОВЛЕНИЯ КЛЕТОК ПЕРЕВИВАЕМОЙ ЛИНИИ МДБК ПОСЛЕ КРИОКОНСЕРВАЦИИ

Кириллова Ю.М., Плотникова Э.М.

ФГУ «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных», Казань (Россия)

E-mail: polyana_travinka@mail.ru

Криоконсервирование – наиболее эффективный метод длительного хранения клеток, широко используемый в практике коллекций и банков клеточных культур. На сегодняшний день актуальной проблемой криобиологии и криомедицины остается оптимизация условий криоконсервации и восстановления клеток животных и человека после оттаивания с максимальным процентом жизнеспособности. Данная работа направлена на исследование жизнеспособности и скорости восстановления клеток перевиваемой линии МДБК после криоконсервации с целью дальнейшего усовершенствования условий декриоконсервации клеточных линий животных и человека. Клетки замораживались в концентрации $3,9 \times 10^6$ кл/мл. После оттаивания определяли процент жизнеспособных клеток и начальную адгезию, скорость и качество формирования монослоя. Концентрация клеток после размораживания - $2,76 \times 10^6$ кл/мл, что соответствовало 70% от общего числа клеток, подвергшихся криоконсервации. Окрашивание трипановым синим, показало, что живые из них лишь 70%. Таким образом, очевидно, что реальное число живых клеток, от общего числа замороженных - 48,7%. Так как наиболее достоверную оценку жизнеспособности восстановленных после криоконсервации клеток может дать лишь учет интенсивности роста при высеве в культуральные сосуды, клетки высевали в 24-луночные планшеты. Концентрацию клеток путем разведения доводили до посевной $2,76 \times 10^5$ кл/мл. Поскольку через 2, 4, 6 и 24 часа инкубации число прикрепившихся клеток находилось примерно на одном уровне - $0,73 \times 10^5$ кл/мл, и соответствовало 26,4% выживаемости, вероятно, что полная седиментация и адгезия клеток происходит уже через 2 ч инкубации. На 48 ч культивирования количество клеток увеличивалось до $0,86 \times 10^5$ кл/мл, что соответствовало 31,1% от общего числа размороженных и свидетельствует о начале процесса деления клеток. Через 72 ч число клеток увеличивалось до $2,22 \times 10^5$ кл/мл. Конфлюэнтный монослой сформировывался на 5-е сутки.

ВЛИЯНИЕ КЛЕВЕРА ЛУГОВОГО *TRIFOLIUM PRATENSE* НА БИОДЕГРАДАЦИЮ УГЛЕВОДОРОДОВ В ЗАГРЯЗНЁННОЙ ПОЧВЕ

Шестакова Е.А., Ананьина Л.Н., Назаров А.В.

Учреждение Российской академии наук Институт экологии и генетики

микроорганизмов Уральского отделения РАН, Пермь (Россия)

E-mail: shestakovaelen@mail.ru

Фиторемедиация – применение растений для очистки загрязненных экосистем-получает в настоящее время все большее развитие и применение. В работе было исследовано влияние клевера на микробное сообщество и биодеструкцию фенантрена, октадекана в загрязненной почве.

Показано увеличение численности бактерий-деструкторов октадекана с $4,0 \times 10^7$ кл/г почвы в варианте опыта без растений до $2,7 \times 10^8$ кл/г почвы при уровне биомассы корней 52,6-108,0 мг/10 г почвы. Численность бактерий-деструкторов фенантрена в большинстве вариантов с растениями была в 1,1-1,6 раза больше, чем без растений, при этом увеличение численности данных бактерий слабо коррелировало с биомассой корней в почве. Изученные растения положительно влияли на деструкцию углеводов в почве. В почве без растений убыль углеводов через 11 суток составила 21,8% от исходной концентрации для октадекана и 6% – для фенантрена. С увеличением биомассы корней растений концентрация октадекана в почве снижается, максимальная скорость деструкции – 52,4-53,9% отмечена при плотности корней 0,8-1,6 мг/10 г почвы, при дальнейшем возрастании плотности корней убыль октадекана снижается, в варианте опыта 108 мг корней в 10 г почвы, убыль октадекана составила 33,8% от исходной концентрации. Скорость деструкции фенантрена возрастала с увеличением плотности корней растений во всех вариантах опыта. Максимальная скорость деструкции отмечена при плотности корней 108 мг/10 г почвы – 93,6% от исходной концентрации.

Присутствие растений оказало влияние на состав бактерий деструкторов в загрязнённой почве. Полученные данные могут быть использованы в биотехнологии очистки окружающей среды. Растения оказывают действие на общую численность и биомассу бактерий, на численность микроорганизмов-деструкторов углеводов и таксономическую структуру сообщества данных бактерий, а также на скорость деструкции углеводов в загрязненной почве.

ДИАГНОСТИКА ВИРУСА НЕКРОТИЧЕСКОЙ КОЛЬЦЕВОЙ ПЯТНИСТОСТИ КОСТОЧКОВЫХ КУЛЬТУР МЕТОДОМ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

Соловей О.В.

РУП «Институт плодоводства», пос. Самохваловичи (Беларусь)

E-mail: solovei_ov@tut.by

Целью исследования являлась диагностика растений рода *Prunus* на наличие вируса некротической кольцевой пятнистости косточковых (PNRSV). Объектами исследования служили 34 образца клоновых подвоев сливы (ВВА-1, ВПК-1, ОД-2-3, 140-2). Тестирование проводили в отделе биотехнологии РУП «Институт плодоводства» (Беларусь). Диагностику вируса проводили методом иммуноферментного анализа (TAS-ELISA Mix Conjugate) с использованием реактивов фирмы SEDIAG. Считывание и регистрацию результатов проводили с помощью автоматического ридера PR 2100 при длине волны 405 нм (A405). Сравнивались показатели оптической плотности анализируемых образцов (A0) с показателями оптической плотности отрицательного контроля (Ak). Образцы, значение оптической плотности у которых превышало на 20% и более среднюю оптическую плотность отрицательного контроля ($A0 \geq Ak + 20\%$) считали положительными. В результате полученных данных 35% образцов клоновых подвоев сливы заражены вирусом некротической кольцевой пятнистости косточковых культур.

КЛОНИРОВАНИЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ СНАР-ДОМЕНА ЛИЗИНА БАКТЕРИОФАГА К В КЛЕТКАХ *ESCHERICHIA COLI*

Голенченко С.Г., Прокулевич В.А.

Белорусский государственный университет, Минск (Беларусь)

E-mail: golenchenko@inbox.ru

Одной из наиболее острых проблем современной терапии бактериальных инфекций является повсеместное распространение мультирезистентных штаммов патогенных микроорганизмов, в частности, одного из основных инфекционных агентов человека и животных - *Staphylococcus aureus*. Перспективным способом решения данной проблемы является использование лизирующих ферментов (эндолизинов) бактериофагов. Из множества известных фаговых эндолизинов, активных в отношении *S. aureus*, одним из наиболее изученных является лизирующий фермент бактериофага К (LysK), обладающий следующими уникальными характеристиками: проявляет высокую активность против всех, в том числе и мультирезистентных, штаммов *S. aureus*; активен против коагулазо-отрицательных стафилококков; обладает низкой токсичностью для человека и животных; не вызывает появление устойчивых к нему штаммов *S. aureus*. Более того, известно, что основным носителем активности данного белка является N-концевой домен, представленный цистеин-, гистидин-зависимой аминогидролазой/пептидазой (СНАР).

Последовательность, детерминирующая синтез N-концевого участка LysK из 174-х аминокислотных остатков (СНАР-домен), была получена путём обратной трансляции с наилучшим для *E. coli* использованием кодонов, синтезирована посредством ПЦР из отдельных праймеров производства Invitrogen, и клонирована в составе экспрессионного вектора рЕТ24b(+) в клетках *E. coli* BL21 (λ DE3). После индукции клетки разрушали на проточном дезинтеграторе EmulsiFlex-C5. Тельца включения собирали центрифугированием, отмывали, растворяли в буфере с 6 М гуанидингидрохлоридом, далее, постепенно понижая концентрацию гуанидингидрохлорида до 1М, проводили рефолдинг, после чего белок очищали на колонке, заполненной Sephadex G25. Полученный таким образом продукт обладал высокой активностью, обеспечивая за 30 мин. более чем десятикратное падение ОП600 (с 0,31 до 0,029), что соответствовало уменьшению концентрации жизнеспособных клеток штамма *S. aureus* P-209 с $23 \cdot 10^7$ до $2 \cdot 10^7$ мл⁻¹.

Таким образом, получен высокоактивный антистафилококковый пептид, который может стать основой для ряда антибактериальных препаратов.

ЭКСПРЕССИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО КИСЛОТНОГО ФАКТОРА РОСТА ФИБРОБЛАСТОВ ЧЕЛОВЕКА (FGF1) В КЛЕТКАХ *ESCHERICHIA COLI*

Емельянова В.Ю.^{1,2}, Данилкович А.В.^{1,3}, Удовиченко И.П.^{1,3}

¹Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Пущино (Россия)

²Владимирский государственный университет им. А.Г. и Н.Г.Столетовых, Владимир (Россия)

³Пушинский государственный университет, Пущино (Россия)

E-mail: phloss@yandex.ru

Кислотный фактор роста фибробластов человека (FGF1) принадлежит к большому семейству ростовых факторов, которые влияют на рост, дифференцировку, миграцию и выживание множества типов клеток. В настоящее время идентифицированы 22 члена семейства FGF и четыре рецептора этих цитокинов (FGFR). В организме FGF1 синтезируется клетками мезодермального и нейродермального происхождения и обладает широким спектром биологического действия, являясь модулятором клеточной пролиферации, дифференциации, подвижности и ангиогенеза. FGF1 обладает сильным ангиогенным эффектом *in vivo* и *in vitro*, стимулирует рост клеток гладких мышц, заживление ран и регенерацию тканей. Механизм действия FGF1 ещё недостаточно изучен. Способность FGF1 к стимуляции ангиогенеза и заживлению ран позволяет рассматривать его в качестве потенциального лекарственного средства для лечения ишемических заболеваний.

Как один из компонентов составного матрикса, предназначенного для использования в тканевой инженерии при стимуляции ангиогенеза, FGF1 человека был клонирован в клетках *Escherichia coli* штамма BL21(DE3) под контролем промотора T7. Нуклеотидная последовательность клонированного FGF1 была модифицирована и содержала 104 нуклеотидные замены для оптимизации экспрессии с учётом частоты встречаемости кодонов в *E. coli* и элиминирования возможности образования шпилек мРНК. Уровень экспрессии

рекомбинантной формы FGF1 (16 – 155) с аминокислотным составом, идентичным FGF1 человека и без лидерного пептида для исключения возможности модификации при контактах с клетками эукариот, составлял до 50 мг с 1 л культуры, что обеспечивает возможность проведения широкомасштабных исследований по тканевой инженерии с использованием рекомбинантного FGF1 человека.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (ГК №02.740.11.5224 и ГК №14.740.11.0170) в рамках Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России».

УЛУЧШЕНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИКИ РЕКОМБИНАНТНЫХ ИНТЕРФЕРОНОВ: СОЗДАНИЕ ХИМЕРНОГО БЕЛКА

Барковский М.Б., Карабельский А.В., Падкина М.В.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: *b-mihey@yandex.ru*

Терапия препаратами интерферонов обладает рядом недостатков, среди которых – небольшое время полужизни в крови человека. Одним из наиболее успешных путей улучшения фармакокинетики интерферонов является создание химерных белков «Интерферон – Альбумин человека».

В 2009 году в лаборатории биохимической генетики был получен штамм *Pichia pastoris* - продуцент химерного белка «Альбумин человека – ИФН-α16» («Альбурон»), в котором Альбумин находится в N-концевом положении. Было установлено, что данный препарат обладает противовирусной активностью *in vitro* и *in vivo*, и при этом обладает увеличенным временем циркуляции в крови (Карабельский и др., 2009).

Тем не менее, данный белок при длительном хранении проявляет тенденцию к агрегированию, что приводит к снижению его биологической активности, а также может стать фактором развития иммуногенности. Одна из вероятных причин агрегации белка связана с особенностью строения его молекулы: ИФН-α16 имеет остаток цистеина в положении 1, который в норме образует дисульфидную связь с Цис98. Если интерферон располагается в C-концевой области химерного белка (как это имеет место в «Альбуроне»), образование связи может быть затруднено, что приведёт к снижению стабильности белка.

Для решения данной проблемы нами было предложено изменить ориентацию белков в химерной молекуле таким образом, чтобы интерферон располагался в N-концевой части пептида и мог беспрепятственно принимать третичную структуру, близкую к нативной.

На настоящий момент нами получен дрожжевой вектор, содержащий последовательность, кодирующую химерный белок «ИФН-α16 – Альбумин человека» и получен штамм-продуцент на основе дрожжей *P. pastoris*. В дальнейшей работе будет произведена оценка биологической активности нового белка, его стабильности и склонности к агрегации. Эти данные позволят судить о перспективности его использования в качестве лекарственного препарата.

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ АКТИВАЦИЯ ПРОГРАММ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ ОТ АБИОТИЧЕСКИХ И БИОТИЧЕСКИХ СТРЕССОВ

**Череватенко А.М., Тарлачков С.В., Дьяченко О.В., Захарченко Н.С., Шевчук Т.В.,
Бурьянов Я.И.**

Пензенский государственный педагогический университет, Пенза (Россия)

Пушкинский государственный университет; Филиал Учреждения Российской академии наук Института биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и

Ю.А.Овчинникова РАН, Пушкино (Россия)

E-mail: *cannabisindian@gmail.com*

В отличие от применявшихся до настоящего времени малоэффективных подходов, направленных на изменение только одного из многочисленных звеньев метаболического защитного ответа растений, имеются новые возможности реализации генетического потенциала

защитных ответов растений на абиотические стрессы. Нами предложена стратегия трансген-индуцированной активации генетических программ защиты растений от солевого стресса на модели факультативных галофитных растений *Mesembryanthemum crystallinum*. На основе применения CpG- и CpHpG- сайт-специфических ДНК-метилтрансфераз разработана система получения модельных растений с трансген-индуцированной эпигенетической активацией генетических программ защиты от абиотических и биотических стрессов. Разработаны методы регенерации и трансформации растений *Mesembryanthemum crystallinum*. Для трансформации растений *M. crystallinum* были созданы специализированные векторы, содержащие модифицированные гены бактериальных ДНК-метилтрансфераз, различающихся сайтовой специфичностью. Полученными конструкциями проведена агробактериальная трансформация растений *Mesembryanthemum crystallinum*. Получены устойчивые к селективным антибиотикам регенеранты. Проведен скрининг трансформантов. Проводится молекулярно-генетический анализ трансгенных растений. У полученных трансгенных растений будет исследована связь между адаптацией растений *M. crystallinum* к солевому стрессу и водному дефициту и гиперметилением CCWGG-повторяющихся последовательностей в их геноме. Полученные нами данные будут способствовать дальнейшим разработкам новых оригинальных технологий трансгенной активации генетических программ защиты растений от абиотических и биотических стрессов и их внедрение в практику селекционно-генетической работы с сельскохозяйственными растениями.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№ 09-08-00687).

РАЗЛОЖЕНИЕ ХЛОРФЕНОЛОВ ШТАММОМ *RHODOCOCCLUS OPACUS* 1СР ПОСЛЕ СТАДИИ ПОКОЯ

Овчарова В.С., Соляникова И.П., Головлева Л.А.

Учреждение Российской Академии наук Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина, Пущино (Россия)

Белгородский государственный университет, Белгород (Россия)

E-mail: *neispravimya@mail.ru*

Микроорганизмы-деструкторы различных ароматических соединений подвергаются комплексному стрессу – стресс голодания, стресс новой среды, а также токсичный эффект самих субстратов. Экстремальной формой адаптивного ответа микробных культур на стресс голодания рассматривается образование покоящихся форм, представленных у ряда бактерий цистоподобными клетками (ЦПК). Ранее нами было изучено появление минорных вариантов колоний после пребывания в состоянии покоя культуры *Rhodococcus opacus* 1ср и после посева ЦПК этих бактерий на плотных средах.

Целью нашей работы было выявление возможного влияния на биодegradативный потенциал штамма *R. opacus* 1ср при введении в его жизненный цикл стадии покоя. Покоящиеся клетки получали из культуры, длительное время поддерживаемой только на богатой среде LB.

Показано, что после одного пассажа покоящихся клеток через богатую среду они росли на 4-хлорфеноле в концентрации 50-100 мг/л практически без лаг-фазы. Более того, культура *R. opacus* 1ср оказалась способной использовать в качестве ростовых субстратов 2-, 3-, 4-хлорфенолы, 2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4-дихлорфенолы, 2,3,4-, 2,4,5- и 2,4,6-трихлорфенолы, пентахлорфенол, 1,2,4,5-тетрахлорбензол. До состояния покоя пентахлорфенол, 2,3-, 2,6- и 3,4-дихлорфенол не поддерживали рост культуры, а 2,5-дихлорфенол, 2,3,4- и 2,4,5-трихлорфенолы разлагались лишь на 30%.

Культура полностью разлагала 2,4,6-трихлорфенол в концентрациях 150, 200 и 250 мг/л за 90, 220 и 272 ч, соответственно.

Хлорпирокатехин 1,2-диоксигеназа, выделенная из клеток *R. opacus* 1ср, выращенных на 4-хлорфеноле после состояния покоя (ХПК 1,2-ДОСП), по субъединичной массе не отличалась от фермента, индуцирующегося при росте исходного штамма на 4-хлорфеноле. Однако обнаружены некоторые различия в каталитических свойствах сравниваемых ферментов.

Таким образом, после введения в жизненный цикл культуры *R. opacus* 1ср стадии покоя выявлено расширение его биодegradативной активности, что делает этот штамм

перспективным при использовании его для очистки стоков, загрязненных различными хлорфенолами.

ДЕСТРУКЦИЯ ТНТ БАКТЕРИЕЙ *BACILLUS SP. VT8*

Робота И.В., Соляникова И.П., Головлева Л.А.

Учреждение Российской Академии наук Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина, Пушкино (Россия)
Белгородский государственный университет, Белгород (Россия)

E-mail: *ir_robik@qip.ru*

ТНТ является одним из наиболее распространенных нитроароматических ксенобиотиков. Из-за симметричного расположения трех нитро-групп в ароматическом кольце ТНТ более устойчив к микробному разложению, чем моно- и динитротолуолы. В подавляющем большинстве случаев аэробный метаболизм ТНТ включает на первых этапах восстановление одной из двух нитро-групп с образованием различных изомеров amino-нитропроизводных ТНТ. Известны только единичные штаммы бактерий, способные использовать ТНТ в качестве единственного ростового субстрата.

Целью нашей работы было изучение процесса разложения ТНТ бактерией *Bacillus sp. VT8* и его оптимизация.

Установлено, что полная трансформация ТНТ (концентрация 40 мг/л) в присутствии дополнительного ростового субстрата (10% LB) штаммом *Bacillus sp. VT8* проходила за 2 суток, при этом половина количества ТНТ трансформировалась уже за первые сутки. Увеличение концентрации ТНТ с 69 до 139 мг/л не приводило к замедлению процесса деструкции. При использовании ТНТ (70 мг/л) в качестве единственного ростового источника, для его полного исчезновения требовалось 3 суток.

Оптимизацию процесса утилизации ТНТ проводили, добавляя в среду твин-80, что приводило к значительному ускорению процесса деструкции. Добавление твина в концентрации 0.25% сопровождалось исчезновением внесенного ТНТ (100 мг/л) на 99% за 3 дня. Эти данные указывают на положительное влияние добавления ПАВ на скорость деградации ТНТ, что связано с повышением растворимости субстрата и его большей доступности клеткам. Положительного влияния иммобилизации клеток на скорость утилизации ТНТ обнаружено не было.

Проведен почвенный эксперимент с использованием культуры *Bacillus sp. VT8*. Показано, что остаточное количество ТНТ не превышало 4% от внесенного после 2,5 месяцев культивирования при средней влажности.

Таким образом, штамм *Bacillus sp. VT8* является перспективным для очистки почв, загрязненных ТНТ.

ВЛИЯНИЕ УГЛЕРОДНЫХ НАНОЧАСТИЦ НА НЕКОТОРЫЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ОБЪЕКТЫ

Барчева А.В., Бордей Н.С.

ОАО «Фармацевтическая фабрика Санкт-Петербурга»; Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: *a430@yandex.ru*

Целью работы являлась оценка влияния углеродных наночастиц в различных состояниях на жизнеспособность и репродуктивную функцию микроорганизмов и культуру растительных клеток.

Ранее сотрудниками СПГХФА и СЗГЗТУ было показано, что смешанный наноуглеродный материал фуллероидного типа (HFNCM) в водной дисперсии в концентрации до 10^4 г/л не оказывают существенного влияния на жизнеспособность и продуцирующую активность культуры растительных клеток. Пригодность наноуглеродного покрытия при культивировании микроорганизмов подтверждает ряд других работ.

Данная работа посвящена изучению возможности применения углеродных наночастиц, растворенных в растительном масле, для модификации среды при биотехнологическом производстве различных БАВ. Выбор такого растворителя обосновывается его безопасностью при введении в организм, а также хорошей растворимостью в нем наночастиц углерода, что приведет к экономии времени и упрощению технологической схемы.

Был проведен ряд опытов с биотехнологическими культурами бактерий (на примере штамма № 3 *Escherichia coli*) и растительных клеток (на примере штамма женьшеня коллекции клеточных культур банка клеток СПХФА). Фуллерены использовались растворенные в масле и в виде эмульсий типа масло в воде.

Было выяснено, что растительные клетки не индифферентны в отношении масляных растворов фуллеренов C_{60} . Они поглощают C_{60} из масла, что может быть вызвано явлением адсорбции клеточной оболочкой или абсорбцией всем объемом клетки. Влияние масла на микроорганизмы зависит от содержания в нем фуллеренов. Оно вызывает небольшое ухудшение ростовых показателей *E.coli*. Влияние постепенно возрастает с увеличением концентрации фуллеренов. При анализе методом агаровых лунок или дисков изменения в росте бактерий отмечается только в области 2-4 мм вокруг диска или лунки. При пересеве культуры, выросшей на среде с маслом или с масляным раствором фуллеренов, признаков роста не наблюдается или наблюдаются незначительные.

ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ВЫСШИХ ВОДНЫХ РАСТЕНИЙ ДЛЯ ТАЛАССОТЕРАПИИ

Новиченко О.В.

ГОУ ВПО «Астраханский государственный университет», Астрахань (Россия)

E-mail: ollevi@bk.ru

Известно, что водные растения имеют сбалансированный макро- и микроэлементный состав и являются важнейшими источниками витаминов и пектиновых веществ, фенольных соединений и эфирных масел, дубильных веществ, флавоноидов и др. На основе экстрактов водных растений разрабатываются целые косметические линии, которые применяются они для прямого контакта с человеческим телом посредством обертываний.

Биологически активные вещества эффективно воздействуют на процессы обмена в клетках кожи, оказывают сильное антисептическое, противовоспалительное, антимикробное, успокаивающее, вяжущее, тонизирующее, смягчающее действие.

В связи с этим, весьма актуальным является получение ценных биоактивных компонентов методом экстрагирования из водных растений Волго-Каспийского бассейна с целью создания эффективных косметических препаратов для талассотерапии.

Объектом нашего исследования стала пресноводная трава рдест пронзеннолистный (*Potamogeton perfoliatus L.*), отобранная из реки Волги.

Для извлечения пектиноподобного вещества (рдестина) пробы водных растений были изъяты из воды, промыты и высушены в естественных условиях и хранились при относительной влажности 75% и имели остаточное содержание воды 10 – 12%.

На первом этапе постановки эксперимента было установлено содержание примесей в рдесте пронзеннолистном, изучены органолептические и физико-химические показатели качества водных растений. Затем была проведена санитарно-гигиеническая оценка пресноводной травы. После чего был изучен химический состав исходного сырья (образцов пресноводного рдеста), который показал возможность её переработки с целью получения экстрактов.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в составе рдеста пронзеннолистного содержится значительное количество углеводов, включающие в частности клетчатку – 19,2% и пектиновые вещества – 21,7%, а так же легкогидролизуемые и растворимые углеводы в количестве 10,2% и 9,4% соответственно.

Таким образом, высокий уровень углеводов и минеральных веществ, а также микробиологическая безопасность рдеста пронзеннолистного указывает на возможность использования водных растений для получения экстрактов.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НАНОКОМПОЗИТНОГО ПРЕПАРАТА ЕМАР II НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ И ВЫЖИВАЕМОСТЬ ИММОРТАЛИЗОВАННЫХ КЛЕТОК

**Бабенко Л.А., Коцаренко К.В., Лыло В.В., Мацевич Л.Л., Рубан Т.А.,
Корнелюк А.И., Лукаш Л.Л.**

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Киев (Украина)

E-mail: *babenko_lesia@ukr.net*

Наноконкомпозитный препарат ЕМАР II разработан в Институте молекулярной биологии и генетики НАНУ. В основе этого препарата содержится эндотелиальный и моноцитактивирующий полипептид II – цитокин, обладающий антиангиогенными свойствами и способностью индуцировать апоптоз. Декстран-70 в составе препарата служит высокополимерным компонентом, стабилизирующим структуру белка. В перспективе наноконкомпозитный препарат ЕМАР II благодаря своей противоопухолевой активности может быть использован в качестве полноценного лекарственного препарата.

Цель работы – исследовать влияние наноконкомпозитного препарата ЕМАР II на пролиферацию и выживаемость клеток в условиях *in vitro*.

В работе была использована иммортализованная клеточная линия 4BL6 (клетки, полученные из периферической крови человека). Исследование влияния наноконкомпозитного препарата ЕМАР II на пролиферацию и выживаемость клеток проводили с использованием МТТ-теста и метода окрашивания клеток трипановым синим. В опытном варианте клетки обрабатывали средой без сыворотки с добавлением наноконкомпозитного препарата ЕМАР II и культивировали на протяжении 24 часов. В контрольном варианте клетки находились в среде без сыворотки. Препарат ЕМАР II использовался в концентрациях 20, 10, 2, 0,2 и 0,02 мкг/мл.

Результаты окрашивания клеток трипановым синим показали, что присутствие наноконкомпозитного препарата ЕМАР II в культуральной среде в концентрациях 20, 10, 2, 0,2 и 0,02 мкг/мл вызывало гибель 90,55%, 72,44%, 33,99%, 25,33%, 12,59% клеток соответственно. С этими данными согласуются результаты МТТ-теста: при увеличении концентрации исследуемого препарата от 0,02 до 10 мкг/мл снижалась интенсивность окрашивания клеточной суспензии, что свидетельствует о снижении числа живых, активно метаболизирующих клеток.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что наноконкомпозитный препарат ЕМАР II ингибирует пролиферацию клеток и вызывает их гибель и, по сравнению с полученными ранее данными, гибель клеток более выражена, чем при воздействии цитокина ЕМАР II.

СИНТЕЗ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ *RHODOCOCCLUS ERYTHROPOLIS* ЭК-1 НА МАСЛОСОДЕРЖАЩИХ СУБСТРАТАХ В ПРИСУТСТВИИ ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО ИСТОЧНИКА УГЛЕРОДА

Кундеев М.Д., Софилканич А.П., Пирог Т.П.

Национальный университет пищевых технологий, Киев (Украина)

E-mail: *azmadan@bigmir.net*

Поверхностно-активные вещества (ПАВ) микробного происхождения имеют ряд существенных преимуществ перед синтетическими аналогами, однако их производство в промышленных масштабах до сих пор не реализовано из-за дороговизны питательных сред, низкого выхода целевого продукта и высоких расходов на его выделение и очистку. Повысить эффективность технологий микробных ПАВ можно за счет использования в качестве ростовых субстратов промышленных отходов, в частности, отходов пищевой отрасли.

Цель работы – изучение влияния дополнительного источника углерода на биосинтез ПАВ при культивировании *Rhodococcus erythropolis* ЭК-1 на пережаренном масле, которое накапливается в больших количествах в учреждениях общественного питания.

В качестве дополнительного источника углерода использовали глюкозу и мелассу (1–3 г/л), которую вносили в начале процесса культивирования, в экспоненциальной и стационарной фазе роста бактерий. Концентрация основного источника углерода (пережаренное масло) составляла 2% (по объему). Выбор углеводов в качестве дополнительного субстрата был обусловлен тем, что по химической природе ПАВ *R. erythropolis* ЭК-1 являются

трегалозомиколатами, а следовательно, внесение глюкозы в маслосодержащую среду может интенсифицировать образование ПАВ за счет наличия почти готовых блоков для синтеза гликолипидов.

Установлено, что при внесении глюкозы или мелассы в концентрации 1 и 2 г/л в начале процесса культивирования и в экспоненциальной фазе роста штамма ЭК-1 синтез ПАВ повышался в 2,5–4 раза соответственно по сравнению с показателями на среде без дополнительного источника углерода.

Таким образом, использование мелассы и глюкозы в качестве дополнительного субстрата при культивировании *R. erythropolis* ЭК-1 на пережаренном масле дает возможность существенно интенсифицировать синтез поверхностно-активных веществ.

СПОСОБ РЕКУЛЬТИВАЦИИ ПОЧВ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ НЕФТЬЮ И НЕФТЕПРОДУКТАМИ

Казаков А.В., Злотников К. М., Злотников А.К., Казакова М.Л., Баландина А.В.

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.Скрябина РАН, Пущино (Россия)

Пермская государственная фармацевтическая академия, Пермь (Россия)

E-mail: andreynkaz@rambler.ru

Биоремедиация – использование живых организмов, для восстановления нефтезагрязненных почв. В последнее время введен новый термин «микоремедиация»– очистка загрязненных почв с использованием грибов.

Цель работы: отработка нового способа очистки почв от нефти, основанного на совместном использовании микромицета *Phoma eupyrena* DM и препарата Альбит, с применением микромицета *Cephalophora tropica* D3 для стимуляции роста и защиты растений на этапе фиторемедиации.

Объект очистки – нефтяной амбар на территории Пермского края. Начальная концентрация нефти – 520 гр/кг почвы. Рекультивационные работы проводили с мая 2008 года по август 2009. В июле 2010 года проводили контрольную проверку состояния почвы. Был применен 3-х этапный метод рекультивации: 1 –рыхление дискованием, полив, внесение диаммонийфосфата (40 гр/м²) и биогумуса (300гр/м²); 2 – рыхление, полив, внесение 2%-го раствора Альбита (5 мл/м²) и *P. eupyrena* DM с титром 10⁶ КОЕ/мл (10 мл/м²); 3 – рыхление, высев трав с предварительным замачиванием семян на 3 часа в 0,1%-ом растворе Альбита с добавлением *C. tropica* D3 с титром 10⁵ КОЕ/мл в дозе 10 мл/кг семян, норма высева семян 30 гр/м².

За первые 3 месяца эксперимента практически восстановилась гетеротрофная микрофлора и агрохимический состав почвы. Деградация нефти за 1-й и 2-й этапы составила 79%. После фиторемедиации (3-й этап) убыль нефти – 90%, площадь покрытия участка растениями 85%. Окончательные показатели в июле 2010: деградация нефти 93%, площадь покрытия участка растениями без посева трав около 70%, микрофлора почвы соответствует фоновому значению, агрохимические показатели в норме.

Основными этапами разработанного способа биоремедиации нефтезагрязненных почв являются: рыхление, полив, внесение минеральных удобрений, внесение штамма *P. eupyrena* DM и Альбита, посев семян трав обработанных штаммом *C. tropica* D3 и Альбитом. Внесение микромицетов и Альбита, а также высев трав может быть многократным и зависит от степени загрязнения.

ШТАММ *BACILLUS SUBTILIS* КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ДЕСТРУКТОР ТРИЭТИЛАМИНА

Нагорный Р.К.

Институт микробиологии НАНБ, Минск (Беларусь)

E-mail: roman19031988@mail.ru

Выделение микроорганизмов-деструкторов триэтиламина (ТЭА) проводили методом накопительных культур с использованием почв, загрязненных данным веществом и активного ила очистных сооружений предприятий органического синтеза. Из 33 выделенных в чистую культуру микроорганизмов-деструкторов отобран 1 штамм, дающий обильный рост на минеральной среде с добавлением ТЭА в качестве единственного источника углерода в концентрации 1г/л. Данный микроорганизм идентифицирован как *Bacillus subtilis*.

Изучение деструктивной активности в стационарных условиях показало, что культура способна активно утилизировать ТЭА в процессе своей жизнедеятельности, используя его в качестве единственного источника углерода. Эффективность деструкции ТЭА в концентрации 1 г/л культурой *B. subtilis RT1* составляет 46% и 100% через 24 и 48 часов соответственно.

Исследование иммобилизационной активности *B. subtilis RT1* показало, что клетки образуют на поверхности носителя сплошную бактериальную пленку, имеют высокие иммобилизационные свойства. При адгезии на полипропиленовом и капроновом носителях сухая биомасса составила 56мг и 32мг на 1г носителя соответственно. Это дало возможность исследовать их деструктивную активность в проточных условиях.

Динамика деструкции ТЭА *B. subtilis RT1* изучалась в биореакторе проточного типа объемом 1л при температуре 20⁰С и интенсивности аэрации 20 л/ч и показала, что полностью ТЭА разрушался при скорости потока 10 мл/ч.

Полученные результаты были положены в основу разработки опытно-промышленной технологии очистки сточных вод от ТЭА.

Mg⁺⁺ - ЗАВИСИМЫЙ РАСПАД рРНК ЗРЕЛОГО ЗЕРНА IN VITRO: ПРОГНОЗИРОВАНИЕ МОРОЗОУСТОЙЧИВОСТИ ОЗИМОГО ЯЧМЕНЯ

Степанов И.В., Насонов А.И., Евтушенко Я.Ю., Плотников В.К.

ГНУ Краснодарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства РАСХН,
Краснодар (Россия)

E-mail: molbiokniish@mail.ru

Ранее на культуре озимой мягкой пшеницы было показано наличие сортовых различий в зрелом зерне по признаку стабильности рРНК и содержанию катионов магния как фактора устойчивости нуклеиновых кислот. Обнаруженные сортовые различия коррелировали с данными по морозоустойчивости, полученными методом прямого промораживания. Особую актуальность подобные исследования имеют в отношении озимого ячменя, который уступает по морозоустойчивости озимой мягкой пшенице. Целью настоящего исследования является обнаружение взаимосвязи между морозостойкостью сортов озимого ячменя и степенью стабильности рРНК, а также содержанием магния в зрелом зерне. В отличие от пшеницы, сорта ячменя не различались по содержанию тотального магния в зерне, оцененного методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии. Однако, определение содержания экстрактивного магния в водной вытяжке шрота, которая отражает количество катиона в цитоплазме, фотометрическим методом окрашивания титановым жёлтым, было найдено повышенное содержание магния у среднеморозостойких сортов ячменя по сравнению с относительно высокоморозостойкими и низкоморозостойкими сортами. Это позволяет предполагать наличие сортовых различий в стабильности рРНК в цитоплазме. Для оценки стабильности рРНК проведены исследования по оптимизации метода выделения РНК из зрелого зерна ячменя. Из зерна пшеницы препарат РНК выделяли солевым осаждением при температуре 4⁰С без применения депротенизации смесью фенола и хлороформа. Однако РНК из зрелого зерна ячменя удалось выделить только сочетанием депротенизации и последующего солевого осаждения при – 10⁰С. При этом спектрофотометрические характеристики РНК были следующими – $\lambda_{260}/\lambda_{230}=2,7$; $\lambda_{260}/\lambda_{280}=1,9$. При электрофорезе соотношение различных сортов 25S/18S рРНК близко к 2,0, что говорит о качественном препарате. Это соотношение у разных сортов дифференциально снижалось при инкубации водного препарата магнийсодержащей рРНК (50⁰С, 5 минут: система ommp - *omnia mea tecum porto* - лат. всё своё несу с собой).

ПОЛУЧЕНИЕ МУТАНТНЫХ ШТАММОВ *TRICHODERMA REESEI* – ПРОДУЦЕНТОВ ЦЕЛЛЮЛОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ

Горячев Д.А., Немашкалов В.А., Беккаревич А.О., Кошелев А.В., Окунев О.Н.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН,
Пушино (Россия)

E-mail: gordimetry@rambler.ru

Биодеградация целлюлозы и гемицеллюлозы осуществляется микроорганизмами при помощи ферментов карбогидраз (целлюлаз и гемицеллюлаз). Они относятся к промышленно важным микробным деполимеразам, применяются в различных областях промышленности: в процессе ферментативного осахаривания целлюлозосодержащих отходов производств и сельского хозяйства, для обработки тканей и текстильных изделий, в качестве кормовых добавок, при производстве бумаги и т.д. В настоящее время основными продуцентами промышленных карбогидраз являются грибы рода *Trichoderma*. Это обусловлено их высокой секреторной способностью.

Цель исследований: получение высокоактивных штаммов *Trichoderma* и оптимизация культивирования отобранных мутантов в режимах «fed-batch»

Методами мутагенеза и селекции получены мутанты *Tr. TW-1*, у которых продуктивность КМЦ-азы, ксиланазы, при культивировании в колбах увеличены в 1.5 - 3 раза по сравнению с исходным штаммом.

В процессе ферментации мутантных штаммов в 1.5-литровых ферментерах «КФ-108» по смешанной схеме в режиме «fed-batch» показано, что возрастание продукции КМЦ-азы и ксиланазы у мутантов, по сравнению с родительским штаммом, связано с повышением количества общего внеклеточного белка. Максимальная активность целлюлазы (КМЦ-азы) почти в 1.5 раза выше чем у исходного *TW-1*. Это уже хороший уровень для получения промышленно значимых целлюлолитических ферментных препаратов.

ИНТЕНСИФИКАЦИЯ СИНТЕЗА ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ *NOCARDIA VACCINIИ K-8* НА ГЛИЦЕРИНЕ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА БИОДЕСТРУКЦИ

Хомяк Д.И., Конон А.Д., Боровик А.А., Гриценко Н.А., Пирог Т.П.

Национальный университет пищевых технологий, Киев (Украина)

E-mail: Khomdan@ukr.net

Глицерин – простой спирт, который является одним из основных продуктов трансэтерификации растительных масел и животных жиров. На сегодняшний день этот спирт в больших количествах образуется как побочный продукт при производстве биодизеля. Одним из способов утилизации избыточного глицерина является использование его в качестве субстрата в технологиях микробного синтеза практически ценных продуктов, в частности, поверхностно-активных веществ (ПАВ), которые благодаря способности к эмульгированию, снижению поверхностного и межфазного натяжения могут быть использованы для решения экологических проблем, например, очистки окружающей среды от нефти и нефтепродуктов.

Цель данной работы – исследование интенсификации биосинтеза ПАВ *N. vacciniИ K-8* на глицерине в присутствии органических кислот, определение химического состава ПАВ и их влияния на процессы биодеградации нефти.

Установлено, что ПАВ *N. vacciniИ K-8* по химической природе являются комплексом нейтральных, глико-и аминокислот. Одновременное внесение в среду с 1,5% глицерина 0,2% фумарата (предшественник глюконеогенеза) и 0,2% цитрата (регулятор синтеза липидов) в начале стационарной фазы роста штамма *K-8* сопровождалось повышением количества синтезированных ПАВ на 35% по сравнению с культивированием бактерий на среде без органических кислот.

Степень деструкции нефти в воде (2,6 г/л) на 20 сутки после обработки суспензией клеток *N. vacciniИ K-8* и препаратами ПАВ в виде культуральной жидкости и супернатанта составила 98 и 67% соответственно.

Полученные результаты являются основой для усовершенствования технологии получения поверхностно-активных веществ *N. vaccinii* К-8 на глицерине и использования ПАВ для очистки окружающей среды от нефтепродуктов.

БИОСИНТЕЗ СОПОЛИМЕРА ПОЛИГИДРОКСИБУТИРОВАЛЕРАТА *METHYLOBACTERIUM EXTORQUENS* G-10 НА МЕТАНОЛЕ

Кучумов П.В.¹, Ежов В.А.²

¹Тульский государственный университет, Тула (Россия)

²Учреждение Российской Академии наук Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина, Пушкино (Россия)

E-mail: chiklizzz@yandex.ru

Быстрый рост производства пластмасс вызывает обоснованную тревогу, связанную с накоплением отходов синтетических пластиков, которые в природных условиях не разлагаются в течение столетия. В связи с этим весьма актуальной задачей является переход на использование биodeградируемых пластиков.

Некоторые микроорганизмы на среде с углеводами или C1-субстратами способны синтезировать высокомолекулярный биополимер – полигидроксибутират, который по своим показателям близок к синтетическим термопластикам, но обладает биосовместимостью и деградируется в почве и воде до углекислого газа и воды. Еще более перспективным биопластиком является сополимер полигидроксибутирата с валератом. Введение валерата в гомополимерную цепь существенно улучшает физикохимические свойства биополимера, снижая температуру плавления, что облегчает переработку, и увеличивая эластичность.

Цель работы – исследовать возможность биосинтеза сополимера полигидроксибутировалерата метилотрофом *Methylobacterium extorquens* G-10 при росте на среде с метанолом, который для России является перспективным и дешевым субстратом для производства биопластиков. Показано, что *Methylobacterium extorquens* G-10 способен синтезировать полигидроксибутировалерат с разным молекулярным процентом включения гидроксивалерата в полимерную цепь при росте на среде с метанолом с добавлением пентанола в качестве предшественника звеньев полигидроксивалерата. При увеличении в среде пентанола от 2 до 20% к объему метанола культура способна синтезировать сополимер с содержанием валерата от 10 до 50%. Увеличение концентрации пентанола в среде приводит к увеличению молекулярной массы биопластика от 200Kda до 2500Kda, что в свою очередь снижает температуру плавления полимера с 175 до 150°C. Показано, что при культивировании продуцента возможна замена технического метанола на метанол-сырец, что резко снижает себестоимость продукта и увеличивает конкурентную способность производства биопластиков из метанола.

Работа выполнена при поддержке ГК 14.740.11.0111.

КОЛЛАГЕН КАК НОСИТЕЛЬ И ПРОТЕКТОР БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Макарова Е.Л., Ковалева Т.А., Короткова Е.В.

Воронежский государственный университет, Воронеж (Россия)

E-mail: makarova7809@mail.ru

Применение природных биополимеров, полностью утилизируемых организмом, то есть перевариваемых и замещаемых собственными тканями, исключает опасность накопления матрицы носителя в организме человека. Среди других белков коллаген обладает наименьшей иммуногенностью и его уникальные физико-химические свойства удовлетворяют многочисленным требованиям, предъявляемым к носителям при создании новых лекарственных препаратов.

Активные функциональные группы в коллагене и сложная молекулярная структура, склонная к образованию фибрилл и волокон, способствует как химическому связыванию, так и

адсорбции биологически активных и лекарственных (низко- и высокомолекулярных) веществ. По сравнению с носителями синтетического происхождения имеют ряд преимуществ. Возможность регулирования лизиса коллагена посредством модификации его дублированием позволяет создавать пролонгированные препараты с различным сроком действия лекарственных веществ.

Иммунные свойства организма значительно ограничивают использование белковых препаратов. В этом отношении преимущества на стороне белков соединительной ткани - коллагена и эластина, обладающих наименьшей иммуногенностью.

В связи с выше изложенным нами была проведена сорбционная иммобилизация глюкоамилазы (α -1,4:1,6 глюкан-4,6-глюкогидролаза, КФ 3.2.1.3) на коллагене

Показано, что адсорбционно связанная глюкоамилаза сохраняет 67% каталитической активности свободного энзима.

Многочисленность применения ферментов является одним из преимуществ при иммобилизации биообъекта, что обеспечивает достаточно высокую стойкость энзима и возможность отделения продукта в чистом виде.

Экспериментальные данные показывают, что при 10-кратном применении иммобилизованный фермент сохраняет 66,25% каталитической активности свободного фермента при однократном применении.

Установлено, что каталитическая активность фермента и содержание белка в иммобилизованном на коллагене препарате, который хранился в лабораторных условиях, не изменялись в течение 2 лет.

Очевидно, фермент достаточно прочно связывается с матрицей носителя, существенно не изменяя при этом каталитически активной конформации, что позволяет применять коллаген в качестве носителя и протектора низко- и высокоактивных веществ.

ПОВЫШЕНИЕ ПРЕАДАПТИВНОСТИ РАСТЕНИЙ ВИНОГРАДА IN VITRO К НЕСТЕРИЛЬНЫМ УСЛОВИЯМ СРЕДЫ

Ребров А.Н.

Всероссийский научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия им. Я.И. Потапенко, Новочеркасск (Россия)

E-mail: *rebrov_anton@mail.ru*

Изучали эффективность различных приемов повышения преадаптивности к нестерильным условиям среды растений винограда in vitro.

Для ввода, пролиферации и укоренения эксплантов использовали различные модификации среды Мурасиге и Скуга, после укоренения микропобегов растения размножали на среде Ливокумского микрочеренкованием. В качестве эксплантов для ввода служили меристемы размером $0,1 \div 0,2$ мм, для микрочеренкования - микрочеренки с одним глазком и усеченной листовой пластиной.

Установлено, что на адаптацию к нестерильным условиям большое влияние оказывает морфологическое развитие растений в культуре. Их преадаптивность возрастает при увеличении плотности покровных тканей (эпидермиса, колленхимы и паренхимы первичной коры) и дифференциации внутренних тканей флоэмы и ксилемы, и снижается при увеличении уровня их оводненности (ветрификации).

Особенность морфологического развития в культуре определяется генотипом (сортом винограда), и условиями культивирования: гормональный, минеральный и органический состав среды, уровень и режим освещенности, спектральный состав света, температура, газовый состав воздуха в культуральном сосуде (уровень CO_2).

Из изученных нами приемов повышения преадаптивности наиболее эффективными были: размножение растений, после этапа пролиферации и укоренения – микрочеренкованием, на среде Ливокумского, не менее 3 субкультивирований перед высадкой на адаптацию; увеличение интенсивности освещения с 2000 до 3000 лк; применение для освещения ламп с оранжевой областью спектра; добавление в состав питательной среды салициловой кислоты - $0,14 \div 0,7$ мг/л; элиситора Эмистим - $10^{-8} \div 10^{-12}\%$. Менее эффективным, в наших условиях, было снижение влажности воздуха в пробирках перед высадкой растений и добавление в состав

среды лигногумата калийного 10,0 ÷ 60,0 мг/л. Препарирование изученных приемов увеличивало выход растений у сортов с низкой адаптивностью в среднем на 30%, у более пластичных сортов на 10 ÷ 15%, при этом возрастала выравненность растений и сокращался период доращивания.

МИКРОБНЫЕ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА КАК ПРЕПАРАТЫ МУЛЬТИФУНКЦИОНАЛЬНОГО НАЗНАЧЕНИЯ

Конон А.Д., Софилканич А.П., Скочко А.Б., Антонюк С.И., Пирог Т.П.
Национальный университет пищевых технологий, Киев (Украина)

E-mail: *Stasse4ka@rambler.ru*

Микробные поверхностно-активных веществ (ПАВ) являются препаратами мультифункционального назначения и могут быть использованы в нефтедобывающей, химической, фармацевтической, пищевой промышленности, сельском хозяйстве, медицине и для очистки окружающей среды от различных ксенобиотиков.

Цель настоящей работы – исследование антимикробных и антиадгезивных свойств ПАВ *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1 и *Acinetobacter calcoaceticus* К-4, а также определение возможности их использования для очистки воды и почвы от нефти.

Эксперименты показали, что выживание тест-культур в присутствии препаратов ПАВ зависело от их концентрации и продолжительности экспозиции. Через 1–2 ч обработки препаратами ПАВ *R. erythropolis* ЕК-1 (0,92–1,44 мг/мл) и *A. calcoaceticus* К-4 (0,15–0,22 мг/мл) наблюдали гибель 100% клеток *Bacillus subtilis* БТ-2, 85% – *Candida tropicalis* ПБТ-5, 74% – *Candida albicans* Д-6, 67% – *Escherichia coli* ИЭМ-1, 48% – *Saccharomyces cerevisiae* ОБ-3 и 18% – *Candida utilis* БВС-65.

Показано, что препараты ПАВ *A. calcoaceticus* К-4 (0,28 мг/мл) снижали количество прикрепленных клеток *B. subtilis* БТ-2 на пластинках кафеля на 41,3 линолеума – на 82,4%, *E. coli* ИЭМ-1 – на пластинках стали, пластика и кафеля на 41, 15 и 14% соответственно.

Установлено, что препараты ПАВ штаммов ЕК-1 и К-4 в виде постферментационной культуральной жидкости интенсифицировали процессы деструкции нефти в загрязненной воде и почве. На 30 сутки после обработки препаратами ПАВ в концентрации 5% степень очистки воды (2,6 г нефти/л воды) составляла 83–92%, а почвы (21,4 г нефти/кг почвы) – 51–86%.

Полученные результаты свидетельствуют о возможности использования исследуемых поверхностно-активных веществ для очистки экосистем от нефти, а также в качестве эффективных антимикробных и антиадгезивных агентов.

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ СИНТЕЗА ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* ИМВ В-7241

Конон А.Д., Билец И.В., Антонюк С.И., Пирог Т.П.
Национальный университет пищевых технологий, Киев (Украина)

E-mail: *Stasse4ka@rambler.ru*

На протяжении последних лет микробные поверхностно-активные вещества (ПАВ) являются объектами интенсивных теоретических и прикладных исследований, что обусловлено возможностью их использования в различных отраслях промышленности и медицине.

В предыдущих исследованиях нами было показано, что штамм *Acinetobacter calcoaceticus* ИМВ В-7241, изолированный из загрязненных нефтью образцов почвы, синтезирует поверхностно-активные вещества при выращивании на гидрофильных и гидрофобных субстратах. Установлены условия культивирования штамма ИМВ В-7241 на этаноле, обеспечивающие максимальные показатели синтеза ПАВ.

Цель данной работы – интенсификация синтеза ПАВ *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241.

Исследования влияния внешних факторов на синтез ПАВ позволили увеличить выход целевого продукта в 1,5–6 раз. Установлено, что одновременное внесение фумарата (0,01%, предшественник глюконеогенеза) и цитрата (0,01%, регулятор синтеза липидов) в конце экспоненциальной фазы роста штамма ИМВ В-7241 на среде с этанолом сопровождается

увеличением количества синтезированных ПАВ на 195% по сравнению с показателями синтеза на среде без органических кислот.

Использование смеси энергетически неравноценных ростовых субстратов (гексадекан+глицерин, гексадекан+глюкоза, гексадекан+этанол) для выращивания *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241 позволило увеличить в 1,5–4,8 раз концентрацию ПАВ.

Внесение 0,1 мМ Cd^{2+} и Pb^{2+} в среду с этанолом сопровождалось увеличением показателей синтеза ПАВ на 100–360% по сравнению с культивированием на среде без металла. Внесение в питательную среду 0,1–0,5 мМ ионов меди приводило к увеличению концентрации ПАВ всего на 10%, однако при пересеве *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241 на среду без Cu^{2+} показатели синтеза ПАВ увеличивались на 300–600% по сравнению с использованием инокулята, выращенного на среде без Cu^{2+} .

Таким образом, полученные результаты могут быть использованы для повышения эффективности технологии микробных поверхностно-активных веществ.

ПОЛУЧЕНИЯ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ОСНОВЫ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ПРЕПАРАТА «ИНТЕРФЕРОН» И ОЦЕНКА ЕЁ КАЧЕСТВА

Ерошенко Д.В., Волкова Л.В.

Пермский государственный технический университет, Пермь (Россия)

E-mail: *eroshonok@ya.ru*

Применение интерфероновых препаратов является одним из наиболее популярных направлений в лечении как вирусных заболеваний, так и иммунодефицитных состояний организма. Поэтому одним из перспективных подходов к повышению терапевтической эффективности интерферона является создание систем, способствующих доставке препарата к определенному органу-мишени и обеспечивающих его дозирование, а затем медленное высвобождение, что может быть достигнуто путем заключения лекарственного препарата в липосомы.

Для получения липосом применялся классический метод дегидратации/регидратации фосфолипидов. В качестве антиоксиданта добавляли 1% α -токоферола. При добавлении к сухой пленке раствора α -интерферона человеческого лейкоцитарного (производства «ФГУП НПО «Микроген» МЗ РФ «Пермское НПО «Биомед») образуются многослойные липосомы разнообразной формы размером 5–18 мкм. Для приготовления однослойных липосом из суспензии мультислойных везикул использовали методы ультразвукования и шприцевания. Получены малые монослойные везикулы правильной округлой формы, гомогенные по размеру (диаметром 0,2 и 0,1 мкм соответственно методам).

В ходе экспериментов показано, что размер и форма липосом зависят от продолжительности ультразвукования: с увеличением времени озвучивания количество слоев в липосомах и их размер уменьшаются (с 4-6 до 0,1-0,2 мкм в диаметре), агрегаты распадаются, везикулы приобретают правильную округлую форму.

Показано преимущество метода экструзии в связи с меньшим размером получаемых липосом и возможностью его применения для получения стерильных препаратов, в отличие от ультразвукового.

С помощью метода ионообменной хроматографии было определено, что поверхность полученных липосом имеет небольшой отрицательный заряд.

Степень включения интерферона в липосомы определяли предварительным разрушением липосом, а затем определением белка по Лоури. Процент включения интерферона в липосомы составил не менее 50%.

СКРИНИНГ ШТАММОВ РОДА *CELLULOMONAS* ПО ПРИЗНАКУ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ ЦЕЛЛЮЛОЛИТИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА

Прохорова А.И., Мордвинова Е.М., Сергеева А.В.

Московский государственный университет инженерной экологии, Москва (Россия)

E-mail: anna-proxorova@yandex.ru

Возобновляемая растительная биомасса - это практически неограниченный источник углеродсодержащего субстрата для предприятий фармацевтической и химической промышленности, полимерного синтеза, кормовой и пищевой промышленности. Основные ее компоненты - целлюлоза, гемицеллюлоза и лигнин. Целлюлоза - высокомолекулярный нерастворимый полимер глюкозы. Она является главным компонентом как растительной биомассы, так и сельскохозяйственных, бытовых отходов, а также отходом деревообрабатывающей и целлюлозно-бумажной промышленности.

В основе биологической деградации лигноцеллюлозы лежит комплексное действие целлюлаз. В настоящее время осуществляются интенсивные исследования, о чем свидетельствуют публикации в научной литературе, в области биосинтеза и изучения свойств целлюлаз и ксиланаз. Целлюлаза - это комплекс ферментов с весьма выраженной субстратной специфичностью. Для определения активности входящих в состав комплекса ферментов используют субстраты с различными свойствами.

Объектом наших исследований были бактерии рода *Cellulomonas* из коллекции ВКПМ: *C. uda* В-5502, *C. cellulans* В-2350, *C. biazotea* В-4143, *C. sp.* В-5373, *C. effuza* В-4465. А также мутантный штамм *C. effuza* К-27, с увеличенной активностью целлюлаз. В результате проведенных исследований были получены данные о наличии амилазной и целлюлазной группы ферментов у этих бактерий. Так целлюлазную активность показали только три штамма из исследованных: К-27, *C. biazotea*, *C. effuza*. Самым продуктивным оказался штамм-мутант К-27, активность которого составила $2,58 \cdot 10^{-3}$ ед/мл, что превышает показатель активности у коллекционного штамма *C. effuza* в 6,6 раз. Амилазную активность показали все представленные штаммы. Наиболее продуктивными оказались: *C. uda* (4763 ед/г), *C. sp.* (2837 ед/г). Также была прослежена зависимость ферментативной активности от процентного содержания субстрата в среде.

ЭКСПРЕССИЯ ПЕПТИДА M2e ВИРУСА ГРИППА ПТИЦ H5N1 В РАСТЕНИЯХ ДЛЯ СОЗДАНИЯ УНИВЕРСАЛЬНОЙ СЪЕДОБНОЙ ВАКЦИНЫ

Тарасенко И.В., Таранов А.И., Фирсов А.П., Долгов С.В.

Филиал Института биоорганической химии им. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова
РАН; Пушкинский государственный университет, Пушкино (Россия)

E-mail: starassenko@rambler.ru

Целью данного исследования было клонирование и анализ экспрессии в растениях пептида M2e белка M2 вируса гриппа птиц H5N1. 5' концевой фрагмент гена M2, включающий пептид M2e был клонирован в растительный вектор pBI121 в трансляционном слиянии с N-концом β - глюкокоронидазы под контролем 35S промотора CaMV. Полученный вектор pBIM130GUS был использован для трансформации растений табака. Как гистохимический, так и вестерн- блот анализ трансгенных растений серии M130 показал стабильную экспрессию слитого гена в течение времени. Следующим этапом работы стало клонирование адьюванта. В последнее время широко обсуждается возможность использования субъединицы В рицина- лектина из клещевины (*Ricinus communis*) в качестве адьюванта при производстве «съедобных» вакцин растительной природы. На основе бинарного экспрессионного вектора pBI121 в трансляционном слиянии клонированы гены субъединицы В рицина и M130. Далее к слитому гену рибин В -M130 нами был добавлен сигнальный пептид PR1-белка табака, определяющий транспорт белков в апопласт. Также к 3' концу гена был добавлен фрагмент, кодирующий хитинсвязывающий домен из хитиназы А, что позволит в случае необходимости использовать хитин для оптимизации количества антигена в растительном экстракте. Плазмида, обозначенная как pBIsprBM130 была использована для трансформации растений табака. В настоящее время проводится анализ экспрессии целевого фрагмента в трансгенных растениях.

СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДРОЖЖЕВЫХ ОРГАНИЗМОВ

Юсупова А.И., Моргунов И.Г.

Учреждение российской академии наук Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пущино (Россия)

E-mail: alsyuy@rambler.ru

Янтарная кислота (ЯК) широко используется в химической промышленности в качестве исходного сырья для производства различных четырехуглеродных соединений; на её основе получают биodeградируемые полимеры, применяемые при производстве пищевых плёнок и упаковок, средств личной гигиены и одноразовой посуды; в пищевой промышленности в качестве пищевой добавки, подкислителя и консерванта. В последние годы ЯК стала применяться в здравоохранении. Производство ЯК ежегодно возрастает не менее, чем на 10%, и по оценке Министерства Сельского Хозяйства США потенциальный рынок для ЯК превысит 1 млрд. долл. к 2015 году.

ЯК получают методом химического синтеза из малеиновой кислоты или ее ангидрида, с использованием дорогостоящего катализатора ванадия. В последние годы перспективным рассматривается микробиологический синтез ЯК.

В данной работе впервые показаны потенциальные возможности дрожжевых организмов к синтезу ЯК. Среди изученных штаммов, *Candida zeylanoides* ВКМ Y-2324, *Candida catenulata* ВКМ Y-5 и *Yarrowia lipolytica* ВКМ Y-2412, отобраны в качестве продуцентов ЯК из этанола. Изучено влияние условий культивирования (рН среды, концентрации растворенного кислорода) и состава питательной среды (концентрации азота, этанола и микроэлементов) на рост продуцентов и процесс кислотообразования. Установлено, что от условий культивирования зависит качественный и количественный состав экскретируемых продуктов (ЯК, α -кетоглутаровая кислота, уксусная кислота, и др. интермедиаты метаболизма этанола). На основании изучения активности ферментов цитратного и глиоксилатного циклов создано представление о путях превращения этанола в ЯК.

Предложен способ получения ЯК, включающий микробиологический синтез α -кетоглутаровой кислоты и ее дальнейшее окисление до ЯК под воздействием перекиси водорода; достигнут синтез ЯК более 60 г/л с незначительным образованием побочных продуктов (менее 7%). Разработан способ выделения ЯК из культуральной жидкости и её очистка до фармакопейной чистоты.

ПОЛУЧЕНИЕ АНТИГЕННО АКТИВНЫХ КОМПЛЕКСОВ IN VITRO

Трифорова Е.А., Никитин Н.А.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва (Россия)

E-mail: katecat88@mail.ru

Ранее в нашей лаборатории был охарактеризован новый тип сферических наночастиц (СНЧ), полученных путем термической обработки вируса табачной мозаики. СНЧ являются биобезопасными, так как растения и животные не имеют общих патогенов. Была показана возможность получения СНЧ заданного размера. Простота и низкая себестоимость получения, биodeградируемость, высокая стабильность позволяют рассматривать СНЧ как перспективный носитель для целевых антигенов и эпитопов различных патогенов.

В данной работе на основе СНЧ в качестве носителя было получено *in vitro* несколько антигенно активных комплексов «СНЧ – чужеродный антиген». В качестве целевых антигенов были использованы следующие рекомбинантные белки: дегидрофолатредуктаза, содержащая на С-конце эпитоп мембранного белка М2 вируса гриппа; полиэпитоп гемагглютинирина вируса гриппа; тетраэпитоп гликопротеина Е1 вируса краснухи. Полученные композиции из СНЧ и целевых антигенов были охарактеризованы с помощью метода флуоресцентной микроскопии. Было продемонстрировано, что поверхность всех СНЧ полностью покрывалась молекулами чужеродного антигена. Важно отметить, что все антигены, в составе комплексов с СНЧ, сохраняли антигенную специфичность и реагировали с соответствующими антителами.

Полученные антигенно активные комплексы могут быть использованы для получения вакцинных препаратов для борьбы с вирусными заболеваниями и болезнями иной природы.

Авторы выражают благодарность Гасановой Т.В., Лещинер А.Д., Скурату Е.В. за предоставленные рекомбинантные белки.

ЭЛИМИНИРОВАНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЛИПОПОЛИСАХАРИДА С ПОМОЩЬЮ ЗАУГЛЕРОЖЕННОЙ РИСОВОЙ ШЕЛУХИ

Акимбеков Н.Ш., Жубанова А.А.

Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы (Казахстан)

E-mail: nur_akimbek@yahoo.com

В начале нового тысячелетия сепсис по-прежнему остается одной из самых актуальных проблем современной медицины. Отсутствие значительного успеха в борьбе с сепсисом требует поиска новых методов лечения. В настоящее время самое серьезное значение в лечении сепсиса имеет своевременное и правильное использование методов детоксикации. Только эффективные методы позволяют воздействовать на патогенетические механизмы развития септического шока и предупреждать возникновение тяжелых осложнений синдрома. В связи с этим, в литературе все больше упоминаются о создании новых технологий. Зауглероженный материал на основе рисовой шелухи (ЗРШ) является одной из перспективных материалов по удалению липополисахарида из биологических жидкостей благодаря своей высокой сорбционной поверхности и специфических сайтов связывания.

Эксперименты с использованием проточного процесса в колонке дают возможность проводить процесс очистки с наиболее высокой эффективностью и решают проблему практического применения зауглероженного сорбента. Адсорбционная колонка состоит из насоса, создающего необходимую разность давлений, системы подводящих и отводящих трубок и самой колонки с ЗРШ. В эксперименте по адсорбции липополисахарида (ЛПС) в колонке после удаления воздуха подается раствор фосфорного буфера со скоростью 1,7 мл/мин с помощью перистальтического насоса. Полученные данные показали что, эффективность удаления ЛПС через 10-20 минут составляет 97%, далее данный показатель достигает до 98,2-99%.

На поверхности зауглероженного сорбента имеются положительно заряженные группы, расположенные таким образом, чтобы оптимизировать взаимодействие между ними и отрицательно заряженными остатками фосфорной кислоты полярной части ЛПС.

Проведенные эксперименты по элиминации ЛПС в растворе показали, что эффективность адсорбции выше и при этом сорбционная емкость ЗРШ в отношении ЛПС составляет 98%.

Такаим образом, поскольку эффективность извлечения ЛПС колоночным методом достаточно высока, наноструктурированные сорбенты ЗРШ могут служить основой для разработки технологии детоксикации липополисахарида токсического шока.

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА БИОСИНТЕЗ АЛЬФА-КЕТОГЛУТАРОВОЙ КИСЛОТЫ У ДРОЖЖЕЙ *YARROWIA LIPOLYTICA*

Чиглинцева М.Н.^{1,2}, Юсупова А.И.¹, Моргунов И.Г.¹

¹Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушино (Россия)

²Башкирский государственный университет, Уфа (Россия)

E-mail: Chiglintsewa-maria@rambler.ru

α -Кетоглутаровая кислота (КГК) занимает ключевое положение в обмене веществ каждой живой клетки. Кетоглутарат является метаболитом ЦТК, а также основным метаболитом аминокислотного и белкового обмена. В химической промышленности КГК используется как исходное сырье для производства различных полимеров; в медицине - при лечении шизофрении, алкоголизма и других заболеваний. Имеются данные о потенциальной

возможности применения КГК в производстве косметических кремов и в качестве антидота при отравлении цианидами.

Во всем мире КГК производят путем химического синтеза. В последние годы перспективным рассматривается микробиологический синтез КГК. Ранее сотрудниками ИБФМ РАН показано, что основным условием сверхсинтеза КГК у дрожжей является дефицит тиамин при избытке всех остальных компонентов.

Целью данной работы было подбор различных условий культивирования на биосинтез КГК у дрожжей *Yarrowia lipolytica* 212 при лимитировании роста культуры тиаминном. В качестве источника углерода был выбран этиловый спирт, который обеспечивает образование продукта для пищевой и медицинской промышленности.

Показано, что при всех значения рН среды (от 3,0 до 8,0) *Y. lipolytica* хорошо росли и синтезировали КГК, интенсивное кислотообразование наблюдалось в интервале рН=3,5–6,0. Рост и биосинтез КГК зависит от уровня насыщения среды кислородом. Максимальный синтез КГК происходил только в условиях интенсивной аэрации среды. Биосинтез КГК не зависит от содержания азота в среде, и искусственно добавленная КГК (в концентрации до 60 г/л) не ингибирует рост продуцента и не подавляет синтез.

Процесс получения КГК проведен в оптимизированных условиях в ферментере. На 192 ч *Y. lipolytica* 212 синтезировали 60,8 г/л КГК с выходом 45%.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОТЕКТИВНОГО АНТИГЕНА *BACILLUS ANTHRACIS* В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

Видягина Е.О.^{1,2}, Руденко Н.В.², Аббасова С.Г.²

¹Пушкинский государственный университет; ²Филиал Учреждения Российской академии наук Института биоорганической химии им. акад. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Пушкино (Россия)

E-mail: vidjagina@mail.ru

Ежегодно в мире регистрируют тысячи случаев заражения *сибирской язвой*, в том числе и в России, о чем свидетельствуют данные Государственного санэпиднадзора, так, в 2010 г. вспышки сибирской язвы произошли в Омской области и Краснодарском крае. Существует постоянная опасность применения спор *Bacillus anthracis* в качестве биологического оружия, что подтверждает факт «почтового терроризма» в США в 2001 году. Тогда по вине злоумышленников десятки человек были инфицированы бактериями этого опаснейшего заболевания, 5 человек умерли. Причем у некоторых из них диагноз не был установлен, вплоть до летального исхода. Традиционные микробиологические исследования эффективны только на поздних стадиях заболевания. Учитывая, существование потенциальных очагов заражения в скотомогильниках и террористическую опасность, разработка простых и надежных экспресс-методов детекции данного патогена имеет жизненно важное значение.

Bacillus anthracis секретируют экзотоксины, представляющие собой белковые комплексы, состоящие из двух белков: отежного или летального фактора и протективного антигена (РА). В данной работе получена представительная панель из 20 высоко аффинных моноклональных антител против протективного антигена, на основе которых разработаны тест-системы (6 «пар» моноклональных антител) для детекции РА в формате «сэндвич»-иммуоферментного анализа. Каждая из разработанных тест-систем была проверена на пригодность применения в сыворотке крови. В сыворотки бычьей и человеческой крови вносили РА, далее образцы скринировали с помощью разработанных тест-систем. Минимальная концентрация определения составила 1 нг/мл. Данные тест-системы пригодны для обнаружения и количественного определения патогена *Bacillus anthracis* в ветеринарной и медицинской практике.

ВЛИЯНИЕ БИОФУНГИЦИДА «ЕЛЕНА» НА СОСТАВ МИКРОФЛОРЫ РАЗЛИЧНЫХ АГРОЭКОСИСТЕМ (ПОЧВА, ЗАЩИЩЕННЫЙ ГРУНТ)

Леонтьева Т.Н., Исхакова К.Р., Кузина Е.В., Силищев Н.Н.

Учреждение Российской академии наук Институт биологии Уфимского научного центра РАН, Уфа (Россия)

E-mail: *misshalen@mail.ru*

К числу важных характеристик биопрепаратов сельскохозяйственного назначения относится не только влияние, которое они оказывают на растение, но также и их воздействие на почвенную микробиоту.

Целью нашего исследования являлось изучение влияния биопрепарата «Елена» (*Pseudomonas aureofaciens* ИБ 51) на микрофлору ризосферы пшеницы озимой, а также на микрофлору торфяной смеси при выращивании на ней семян томата.

Схема опыта на пшенице озимой включала в себя предпосевную обработку семян (1,0 л/т) и опрыскивание посевов в фазе кущения (1,5 л/га). Почва – типичный чернозем. Метеорологические данные – засушливое лето и осень. Предшественник – ячмень. Микробиологический анализ ризосферы растений озимой пшеницы проводили в период осеннего кущения через две недели после опрыскивания.

Использование биопрепарата «Елена» на томатах закрытого грунта заключалось в проливе горшочков с торфяной смесью 1%-ным р-ром биофунгицида. Торф не стерильный. Микробиологический анализ торфа проводили через две недели после внесения биопрепарата.

Исследование состава микробного комплекса ризосферы озимой пшеницы выявило, что биопрепарат по-разному влияет на основные эколого-трофические группы микроорганизмов. Установлено, что через две недели после опрыскивания численность микромицетов в ризосфере озимой пшеницы в варианте с биопрепаратом была на порядок ниже, чем в контрольном варианте. Изучение численности аммонификаторов, олигонитрофилов, спорообразующих микроорганизмов не выявило достоверных отличий между контролем и опытным вариантом.

По истечении двух недель после применения биопрепарата «Елена» для напки торфяного грунта отмечено влияние со стороны интродуцированного штамма ИБ 51 на численность бактерий р. *Bacillus* и аммонификаторов (численность обеих групп выросла более чем на порядок по сравнению с контролем); при этом биопрепарат не оказал заметного влияния на количество и состав микромицетов.

ВЛИЯНИЕ ИНОКУЛЯЦИИ ЭКСТРАКТОВ ПЫЛЬЦЫ НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *GOSSYPIUM*

Абдуллаева Д.А.

Научно-производственный центр «Ботаника» Академии наук Республики Узбекистан,
Ташкент (Узбекистан)

E-mail: *a-dil78@mail.ru*

С целью поиска решения проблемы нескрещиваемости между представителями семейства *Malvaceae*, в частности рода *Gossypium* и *Hibiscus*, был применен метод инокуляции. Экстракт прорастающих пыльцевых трубок *H. syriacus* (донор) вводился в основание пестика однодневных завязей цветков *G. hirsutum* и *G. barbadense* (реципиенты). Сформировавшиеся коробочки имели неправильную форму. Семена были мелкими по сравнению с семенами материнского растения. Среди выращенного в полевых условиях инокулированного поколения были выявлены 29 растения с отличающимися от родительских форм морфологическими признаками. У трех растений была измененная форма листа (очень толстые и крупные), окраска листа, края листовой пластинки в виде «бахромы» и гофрированные, изменение формы зубцов прицветничков. Семена этих растений были высеяны на следующий год. Проведен их морфологический анализ.

В следующем поколении также получено большое разнообразие по числу моноподиальных ветвей. У некоторых растений образовалось от 1 до 4 моноподиальных ветвей.

Трансформированные растения, где реципиентом служили *G. hirsutum* имели высоту главного стебля от 65 до 130 см. В варианте, где реципиентом был *G. barbadense* от 65 до 140 см. Встречались растения как с низким габитусом, так и с относительно высоким. Количество плодоземелетов у растений первого варианта варьировало в значительном интервале от 3 до 35 штук, а во втором варианте от 4 до 51. Широкий спектр изменчивости морфологических признаков, возможно, обусловлен мутагенным действием экстрактов пыльцы.

В настоящее время проводятся изучение влияния инокуляции экстрактов пыльцы на электрофоретический состав белков и активность маркерных ферментов у трансформированных растений Tm1 - Tm3 хлопчатника.

ОЦЕНКА АНТИДОТНЫХ СВОЙСТВ РЕГУЛЯТОРА РОСТА АЛЬБИТ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ С ГЕРБИЦИДАМИ

Злотников А.К., Злотников К.М., Подварко А.Т., Рябчинская Т.А., Казаков А.В., Казакова М.Л.

Учреждение Российской Академии наук Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина; ООО НПФ «Альбит», Пушкино (Россия)

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений,
пос. Рамонь (Россия)

Всероссийский научно-исследовательский институт биологической защиты растений
РАСХН, Краснодар (Россия)

E-mail: albit@albit.ru

Гербициды, применяемые для защиты от сорняков, зачастую оказывают токсическое действие и на сами культурные растения, в результате недобор урожая может достигать 50%. Для снижения данного побочного эффекта гербициды применяются в комплексе со специфическими антистрессантами – антидотами, которые в настоящее время представляют собой почти исключительно продукты химического синтеза и в полной мере не решают проблему гербицидного стресса. Целью нашей работы было изучение антидотных свойств регулятора роста Альбит бактериального происхождения.

Паттерны действия Альбита как регулятора роста и антидота заметно различались. Если Альбит применялся в качестве отдельного препарата на сахарной свёкле, максимальная прибавка урожая достигалась при внесении в стадии 5-6 настоящих листьев, а в качестве антидота при сочетании с бетанальными гербицидами – в стадии смыкания ботвы в рядках. Антидотный эффект зависел также от гербицида. В полевом опыте на сое, при сочетании со среднестрессовым гербицидом (д.в. имазамокс) максимум антидотной активности Альбита наблюдался при дозировке препарата 50 мл/га и составил 17,0%, а при сочетании с высокострессовым гербицидом на основе имазетапира – при дозировке 40 мл/га (величина эффекта 25,5%).

В полевых опытах на кукурузе, льне, просе, пшенице яровой и озимой, рапсе, сахарной свёкле, ячмене яровом и озимом, сое, гречихе антидотная активность Альбита была отмечена при сочетании с препаратами на основе 2,4-дихлорфенокиуксусной кислоты, амидсульфурана, галоксифоп-р-метила, дикамбы, десмедифама, имазамокса, имазетапира, клопиралида, квазилофоп-П-тефурила, метсульфурон-метила, тралкоксидима, триасульфурона, трибенурон-метила, тефурила, трифлуралина, трифлусульфурон-метила, флорасулама, фенмедифама, феноксапроп-П-этила, флуазифоп-П-бутила, хизаловоп-П-этила, хлорсульфурана, этофумезата, эпоксилата и изодецилового спирта. Максимальная активность Альбита отмечена в баковых смесях с гербицидами 2 и 3 поколений, а также смесевыми препаратами, содержащими сульфонилмочевину. Наименее выраженный антидотный эффект Альбита был отмечен на рапсе и подсолнечнике (5-6%), наиболее высокий – на гречихе (около 80%).

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ НАТУРАЛЬНОГО ЭФИРНОГО МАСЛА С АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Сивцева С.В.

Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова,
Биолого-географический факультет, Якутск (Россия)

E-mail: *Lilya_Sivtseva@mail.ru*

Поиск и скрининг биологической активности натуральных эфирных масел, извлекаемых из свежего экологически чистого растительного сырья, представляет инновационные исследования возможного их применения в качестве профилактических средств заболеваний человека, характеризующихся общим понижением иммунного статуса организма.

Целью работы является скрининг на антибактериальную активность эфирных масел, выделяемых из дикорастущих видов растений Якутии. Задачи: 1) сбор, фиксация и обеспечение транспортировки растительного сырья; 2) выделение эфирных масел на основе парофазной перегонки и обеспечение хранения; 3) масс-спектрометрический анализ эфирных масел объектов исследования; 4) оценка антибактериальной активности эфирных масел на основе серийных разведений.

На основе маршрутно-стационарных исследований в 2008-2010гг. на территории Центральной и Северо-Восточной Якутии были произведены геоботанические описания фитоценозов с оценкой ресурсов эфиромасличных видов растений. В качестве объектов исследования были выбраны представители семейств *Asteracea* и *Labiatae*, произведен сбор фитомассы. Эфирные масла этих растений получали методом парофазной перегонки, хранили в темных флаконах в холодильнике при температуре не более 4-5°C. Определение антибактериальной активности проводили методом серийных разведений агаровой культуры. В качестве тест-культур были использованы *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*.

Данные эксперимента свидетельствуют, что изученные эфирные масла обладают различной бактериальной активностью. По отношению к *Staphylococcus aureus* активность проявило воздействие эфирным маслом *Полыни якутской*: по сравнению с контрольной линией наблюдается 33-35%-ное подавление роста колоний. Эфирное масло *Thymus bituminosus* отличается высокой активностью по отношению к росту *Escherichia coli* и *Proteus vulgaris*: по всей видимой зоне задерживался рост колоний. Таким образом, эфирное масло представителя семейства *Asteracea* проявляет физиологическую активность против грамположительных стафилококков. Эфирное масло представителя семейства *Labiatae* проявляет физиологическую активность против роста и развития грамотрицательных бацилл. Полученные данные могут составить основу для разработки альтернативных средств профилактики определенных заболеваний человека на основе биологически активных веществ как эфирные масла.

ПЕРСПЕКТИВЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЭПИФИТНЫХ ДРОЖЖЕЙ НА ПИВНОЙ БАРДЕ

Храпова А.В., Сопрунова О.Б.

ГОУ ВПО «Астраханский государственный университет», Астрахань (Россия)

E-mail: *ahrapova@yandex.ru*

Со второй половины XX в. кормовые дрожжи начали широко применяться в качестве кормовой добавки в животноводстве, существенно повышая биологическую ценность кормов, прежде всего за счет содержащихся в них незаменимых аминокислот и витаминов.

Целью настоящих исследований является получение дрожжевой биомассы на пивной барде и определение показателей ее качества. Объектами исследования являлись новые культуры дрожжей (3 штамма) выделенных из эпифитной микрофлоры высших грибов, произрастающих на территории Астраханской области: фолиота (*Pholiota abstrouse*), шампиньон (*Agaricus sp.*), рядовка (*Tricholoma sp.*), навозник мерцающий (*Coprinus micaceus*). В качестве контроля использовали промышленный штамм *Candida tropicalis* CK – 4-1. Определение показателей качества биомассы дрожжей, полученной в лабораторных условиях, позволило условно отнести

исследуемые штаммы дрожжей к группам кормовых дрожжей в соответствии ГОСТ 20083-74. При этом культивируемый в лабораторных условиях производственный штамм *Candida tropicalis* СК-4-1 соответствует второй группе кормовых дрожжей; штамм См III – третьей группе; штамм См V по содержанию сырого протеина не соответствует ГОСТ 20083-74, но по другим показателям (массовая доля золы и содержание белка по Барнштейну) условно отнесен ко второй группе кормовых дрожжей, штамм См VIII по содержанию сырого протеина не соответствует ГОСТ 20083-74, но по другим показателям (массовая доля золы и содержание белка по Барнштейну) условно отнесен к третьей группе кормовых дрожжей.

Таким образом, полученные результаты исследований свидетельствуют о необходимости дальнейшего изучения полезных свойств исследуемых культур дрожжей как перспективных объектов биотехнологии.

ПОЛУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОНСТРУКЦИИ ДЛЯ ГЕТЕРОЛОГИЧНОЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА ДНК-МЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ РАСТЕНИЙ В ЖИВОТНЫХ КЛЕТКАХ

Череватенко А.М., Попов А.В., Тарлачков С.В., Дьяченко О.В., Шевчук Т.В.

Пензенский государственный педагогический университет, Пенза (Россия)
Пуцинский государственный университет; Филиал Учреждения Российской академии наук Института биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Пушино (Россия)

E-mail: cannabisindian@gmail.com

В эукариотических организмах метилирование и деметилирование ДНК играют ключевую роль в процессах регуляции экспрессии генов и ремоделирования структуры хроматина. При этом картина сложной сети реакций модификации структуры хроматина только устанавливается, и мы лишь приступаем к анализу механизмов эпигенетических процессов. У эукариот обнаружено три типа метилирования генома: CpG, CpH и CpHpG (H - A, T или C). Однако, в данной области существуют пробелы, связанные с изучением преимущественно CpG-типа метилирования. В клетках растений присутствует семейство ДНК-метилтрансфераз, содержащих в своей молекуле хромодомен, через который осуществляется ее взаимодействие с белками хроматина и с ядерной мембраной. Принадлежащая к этому семейству метилаза СМТ3 участвует в поддерживающем гиперметилировании CpHpG- и CpH-последовательностей генома.

Для анализа влияния CpHpG-специфичного гиперметилирования на морфолого-биохимические особенности животных клеток была создана генетическая конструкция, содержащая ген СМТ3 под контролем промотора цитомегаловируса. Для этого ПЦР-продукт гена СМТ3 был клонирован в полилинкер вектора pEGFP-N3 по сайтам NheI и EcoRI. Получены устойчивые трансформанты. Правильность вставки подтверждена секвенированием. Полученную конструкцию предполагается экспрессировать в клетках млекопитающих.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (09-04-00889).

ВЛИЯНИЕ ЗАМЕН A182T И N191F НА ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТЬ АМИЛАЗЫ ШТАММА *BACILLUS* SP. 406

Качан А.В., Евтушенков А.Н.

Белорусский государственный университет, Минск (Беларусь)

E-mail: av.kachan@mail.ru

α -Амилазы (ЕС 3.2.1.1) – это ферменты, катализирующие гидролиз внутренних α -1,4-гликозидных связей. Они широко используются в промышленных процессах обработки крахмала (получение спирта и глюкозных сиропов, хлебопечение, производство бумаги, тканей, как добавки к моющим средствам). Многие α -амилазы, выделенные из бактерий рода *Bacillus*, характеризуются высокой термостабильностью, что позволяет эффективно применять их в биотехнологических процессах, и делает их важными модельными объектами для

выявления теоретических основ температурной устойчивости ферментов. α -Амилаза, синтезируемая бактериями штамма *Bacillus sp.* 406, выделенного из образца почвы, характеризуется температурным оптимумом активности, равным 60 °С, и температурой полуинактивации около 52 °С. Используя методы рациональной инженерии и сравнение с высокотермостабильной α -амилазой *Bacillus licheniformis*, нами было выявлено несколько точек для введения замен в аминокислотную последовательность исследуемого фермента путём сайт-специфического мутагенеза. В результате были получены два варианта амилазы штамма *Bacillus sp.* 406 с достоверно изменённой термостабильностью.

Для фермента дикого типа и мутантных форм проведено изменение и сравнение кинетических и термодинамических параметров температурной инактивации. Оказалось, что один из мутантных ферментов, содержащий аминокислотную замену Asn191Phe, имеет температуру полуинактивации около 59 °С. Энергия активации денатурации (E_a) этого варианта возросла до 160,75 кДж/моль по сравнению с энергией активации денатурации фермента дикого типа, равной 137,61 кДж/моль. Также выявлено, что замена Ala182Thr оказывает дестабилизирующий эффект на термостабильность α -амилазы штамма *Bacillus sp.* 406, что выражается в понижении температуры полуинактивации и энергии активации денатурации до 48 °С и 129,26 кДж/моль соответственно. Данный эффект, предположительно, может быть объяснён особенностями третичной структуры фермента в области введённого остатка треонина.

ИЗУЧЕНИЕ БИОКИНЕТИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *VIBRIO CHOLERAЕ* М41 ОГАВА В СКОНСТРУИРОВАННОМ БИОРЕАКТОРЕ

Ульянов А.Ю., Никифоров А.К., Еремин С.А., Комиссаров А.В., Белякова Н.И.,
Васин Ю.Г., Волох О.А.

Федеральное государственное учреждение здравоохранения Российской научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов (Россия)

E-mail: Ylianov-9@yandex.ru

Для модернизации производственных мощностей приготовления холерной бивалентной химической вакцины коллективом авторов [Патент России № 86184] был сконструирован реактор-ферментер. С целью осуществления масштабирования процесса культивирования были определены его массообменные характеристики.

На следующем этапе исследований была изучены биокинетические особенности культивирования *Vibrio cholerae* М41 Огава. Оценку биокинетических показателей роста проводили с использованием морфометрических и биокинетических методов анализа. Физиологическое состояние популяции оценивали по следующим показателям:

$$\text{выход биомассы } \Sigma = V_{жф} (X/V_{тф}) + V_{тф},$$

где $V_{жф}$ – объем жидкой фазы; $V_{тф}$ – объем твердой фазы, X – концентрация биомассы;

$$\text{удельная скорость роста клеток } \mu = 2,3(\log X - \log X_0 / t - t_0),$$

где X_0 и X – начальная и конечная концентрации; t_0 и t – начальный и конечный момент времени;

$$\text{удельная скорость образования продукта (О-антигена) } qp = (P - P_0) / X(t - t_0),$$

где P_0 и P – начальная и конечная концентрации антигена; X – концентрация биомассы; t_0 и t – начальный и конечный момент времени.

Проведенные исследования показали, что определенные показатели значимо не отличаются от аналогичных показателей в существующих производственных реакторах.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНОЙ СТЕПЕНИ КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ ПРОТЕКТИВНЫХ АНТИГЕНОВ ХОЛЕРНЫХ ВИБРИОНОВ В ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА ХОЛЕРНОЙ БИВАЛЕНТНОЙ ХИМИЧЕСКОЙ ВАКЦИНЫ

Алешина Ю.А., Крайнова А.Г., Еремин С.А., Комиссаров А.В., Громова О.В.,
Белякова Н.И., Клокова О.Д., Васин Ю.Г.

Федеральное государственное учреждение здравоохранения Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов (Россия)

E-mail: *Komissarov-9@yandex.ru*

Ранее авторами (Алешина Ю.А., 2009) была показана возможность использования метода тангенциальной ультрафильтрации для концентрирования холерогена-анатоксина и О-антигена *Vibrio cholerae* 569В Инаба и О-антигена *V. cholerae* М41 Огава из безмикробного детоксицированного центрифугата. Было показано, что при концентрировании данных протективных антигенов в 10 раз количество сульфата аммония, используемого в дальнейшем для их осаждения, уменьшается прямо пропорционально кратности концентрирования, при этом практически не происходит потерь препаратов.

С целью оценки возможности большего уменьшения количества сульфата аммония, затрачиваемого на осаждение протективных антигенов холерных вибрионов, были проведены исследования по увеличению степени их концентрирования из безмикробного центрифугата в 15 и 20 раз.

Проведенные исследования показали, что при коэффициенте концентрирования, равными 15 и 20, технологические потери продуктов увеличиваются на 15 и 40% соответственно, что отсутствовало при степени концентрирования в 10 раз.

Таким образом, нами установлено, что оптимальная степень концентрирования холерогена-анатоксина и О-антигена *V. cholerae* 569В Инаба и О-антигена *V. cholerae* М41 Огава из безмикробного детоксицированного центрифугата методом тангенциальной ультрафильтрации составляет 10 раз.

УДАЛЕНИЕ ИНГИБИТОРА ПРОТЕАЗ ИЗ ЯИЧНОГО БЕЛКА ДЛЯ МИКРОБИОЛОГИИ И ФАМАКОЛОГИИ

Шулюпин М.О., Шулюпин О.К.

ООО «Проинтех-Био», Пушкино (Россия)

E-mail: *olkoshu@rambler.ru*

Известно, что яичный белок - эталон по пищевой ценности. На рынке присутствует большое количество фирм, поставляющих высушенный белок по доступным ценам и в большом количестве. Широкому использованию названного сырья мешает наличие кислотоустойчивого термостабильного ингибитора протеаз, по мнению некоторых отвечающего за аллергенное действие белка. Поскольку панкреатин содержит типсин и хемотрипсин, которые преимущественно гидролизуют связи аргинин - аргинин и аргинин - лизин, а кроме белка ничего более нет, возникло предположение, что ингибитор - аргинин-лизин богатый пептид и действует по механизму конкурентного ингибирования. В составе гипотетического ингибитора мы увидели аналогию с гистонами.

Была проведена обработка яичного белка 10% водного раствора смесью для экстракции гистонов – 70% этанол, 0,2 н соляная кислота, 1:1. В экстрагент ушло около 20% общего белка. Остаточный белок хорошо гидролизовался панкреатином и получался раствор с аминным азотом 500 – 800 мг%. Гидролизат был испытан в средах Гисса в качестве замены пептона. Поскольку гидролизат не содержит фосфатов и имеет низкую буферную емкость, кислотообразование проявлялось лучше, чем на средах с классическим пептоном. Поскольку яичный белок весьма стандартен по составу, то в перспективе пептон из него может быть использован как высокостандартная от партии к партии замена классического пептона при производстве бактериальных вакцин и ферментов.

При дополнительной очистке панкреатин от пигментов активированным углем, бентонитом и кизельгуром получается гидролизат со спектральными характеристиками смеси

чистых аниокослот, который не пирогенен и не токсичен. Был испытан как парентеральное питание для животных после хирургического вмешательства и показал свою эффективность. Гидролизат имеет слабый мясной солоноватый вкус в отличие от гидролизата казеина, горького на вкус. В перспективе - лечебное питание для детей с непереносимостью молока.

МИКРОЧЕРЕНКОВАНИЕ *IN VITRO* ЦВЕТОЧНЫХ РАСТЕНИЙ КОММЕРЧЕСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ

Корня Т.М., Лобанова К.И., Замбриборщ И.С.

Южный биотехнологический центр в растениеводстве НААН Украины,
Одесса (Украина)

E-mail: odonata@mail.ru

Микрочеренкование растений в условиях *in vitro* в настоящее время является одним из способов массового размножения многих цветочных культур коммерческого назначения в случае, когда соматический эмбриогенез приводит к нежелательным фенотипическим изменениям или является неэффективным. Для обеспечения размножения растений микрочеренкованием *in vitro* необходимым этапом является исследование влияния различных факторов на выращивание культур. При условии оптимально подобранном балансе макроэлементов в питательной среде (N : K : Ca : P : Mg : S) для культивирования растений, актуальным является определение фитогормональной регуляции морфогенеза.

В работе исследовано микрочеренкование *in vitro* цветочных культур на питательных средах с различным составом макроэлементов, а также под влиянием гиббереллинов, цитокининов и ауксинов. Для культивирования растений *Kalanchoe blossfeldiana* Poelln., *Eustoma grandiflorum* Shinn., *Saintpaulia ionantha* L., *Sinningia speciosa* индивидуально был подобран оптимальный состав макроэлементов в питательной среде. В последующем этапе работы изучено фитогормональную регуляцию морфогенеза в культуре *in vitro* с целью повышения коэффициента размножения растений путем микрочеренкования. Показано, что стимулирование гибберелловой кислотой микрочеренкования является эффективным для культур *Kalanchoe blossfeldiana* Poelln., *Eustoma grandiflorum* Shinn. В культуре *in vitro* фиалки (*Saintpaulia ionantha* L.) эффективным для микрочеренкования является использование цитокининов с последующей индукцией ризогенеза и адаптации посадочного материала к почве гиббереллином. Для глоксинии (*Sinningia speciosa*) эффективность микрочеренкования возрастает при использовании цитокининов, корнеобразование происходит лучше при воздействии ауксинов.

В целом показано, что состав питательной среды по макроэлементам, а также присутствие фитогормонов в культуре *in vitro* является индивидуальным для каждого вида растений. Рассчитан коэффициент размножения микрочеренкованием для исследуемых культур и определены элементы, повышающие эффективность размножения растений в условиях *in vitro*. Рассчитана себестоимость одного растения, полученного микрочеренкованием. Данные будут представлены в докладе.

ПОЛУЧЕНИЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ТАБАКА, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ГЕН PNHXPA1 ТОПОЛЯ ЧЕРНОГО

Кулуев Б.Р., Лебедев Я.П., Князев А.В.

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и генетики
Уфимского научного центра РАН, Уфа (Россия)

E-mail: kuluev@bk.ru

В растениях растяжимость тканей регулируется путем подкисления клеточных стенок и увеличения экспрессии особых неферментативных белков экспансинов. Предполагается, что экспансины участвуют в разрыве нековалентных связей между целлюлозными микрофибриллами и гликановыми поперечными мостиками, способствуя, тем, самым, деформации клеточной стенки. С целью исследования влияния сверхэкспрессии одного из

экспансинов тополя черного (*Populus nigra*), а именно PnEXPA1 на рост и развитие трансгенных растений табака, нами была амплифицирована ДНК копия его гена размером около 1500 п.н. Этот ампликон был клонирован в T-векторе pAL-TA, а затем было проведено его секвенирование. Анализ нуклеотидной последовательности выделенной нами копии гена *PnEXPA1* показал отсутствие мутационных изменений. Далее этот ген был клонирован в бинарном векторе pCambia 1301. В ходе экспериментальной работы по агробактериальной трансформации листовых дисков табака целевой генно-инженерной конструкцией с геном *PnEXPA1* было отобрано 63 растения. Из них укоренились на агаризованной среде МС 19 растений. Из этих растений 6 были успешно акклиматизированы на почве и отобраны для дальнейшей работы. Семена трансгенных растений были посеяны на селективной среде и 5 линий показали классическое расщепление признаков 3:1. Через 15 дней проростки трансгенных растений табака этих 5-ти линий были акклиматизированы на почве и выращивались в условиях открытой светоплощадки до периода цветения. В результате проведенной работы было показано увеличение размеров органов трансгенных растений, по сравнению с контрольными: по сырой массе на 29%, по площади листьев на 31%, по длине стебля на 19%, по длине цветков на 8% и по длине листьев на 23%. Трансгенные растения также характеризовались заметным увеличением размеров клеток эпидермиса листа, чем очевидно и объясняется увеличение конечных размеров их органов.

Секция «Социокультурная ниша биологии»

ПРОБЛЕМЫ СЕЛЕКЦИИ КУЛЬТУРНОЙ ПШЕНИЦЫ

Буцанец П.А., Королькова Д.В.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва (Россия)

E-mail: *p.corbeau@list.ru*

Целью современных научных изысканий является познание, преобразование и подчинение естественных процессов биологических систем потребностям человека. Одним из наиболее популярных объектов является культурная пшеница - главная злаковая культура многих стран мира, и выбор этот не случаен. Это наиболее простая и удачная система по целому ряду показателей. Но, к сожалению, большинство физиологов, генетиков и селекционеров сталкиваются с трудностями в её изучении. Во-первых, многие выведенные сорта, попадая в естественные условия, оказываются менее жизнеспособными, чем их родительские формы и нуждаются в постоянном уходе со стороны человека. В итоге, цели и результаты селекции пшеницы теряют всякий вложенный в них смысл. Во-вторых, вследствие того, что из всего многообразия генов отбирается лишь малая, однородная часть популяции, удовлетворяющая целям селекционеров, генофонд новых выведенных форм становится всё более обеднённым. Результатом является необходимость притока «диких генов», для того чтобы избежать «генетического тупика» искусственного отбора – гомозиготности. В-третьих, новые селекционные сорта более восприимчивы к новым «природным» фитопатогенам и меняющимся природным условиям. Наконец, большинство сортов, полученных методами биотехнологии, практически изолированы от своих родственных форм, полученных традиционными методами селекции. В особенности, это характерно для полиплоидов, скрещивание которых возможно только между собой. Таким образом, пшеница – это удобный, но вместе с тем, довольно сложный объект. Представляется целесообразнее вести селекцию новых сортов пшеницы, опираясь на экспериментальные данные физиологов. Результаты совместной работы должны сводить на нет негативные стороны селекции, которые не будут сильно снижать продуктивность пшеницы при переносе из лабораторно-полевых в естественные условия.

ЧАРЛЬЗ ДАРВИН КАК ПРИМЕР НЕОРДИНАРНОГО ИССЛЕДОВАТЕЛЯ

Буцанец П.А., Королькова Д.В.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва (Россия)

E-mail: *p.corbeau@list.ru*

Чарльз Дарвин являет собой пример естествоиспытателя с неординарными способностями и разносторонними интересами, сделавшего важные открытия во многих областях научного знания. Прежде всего, его имя связывают с теорией эволюционного учения, получившего название дарвинизм, являющийся основой современной синтетической теории эволюции. Он обосновал механизмы эволюции и доказал, что мельчайшие изменения, накапливающиеся в организме, со временем, приводят к появлению нового организма.

Но, помимо эволюционных идей, актуальными остаются факты его ботанических трудов: «Опыление у орхидных», «Действие перекрёстного опыления и самоопыления в растительном мире», «Различные формы цветов у растений одного и того же вида». Он проводил исследования по вьющимся и насекомоядным растениям, результаты которых также опубликовал, указывая, что растения приспосабливаются к окружающей среде не менее удивительным образом, чем животные. Подобные тезисы можно найти в его книге «Способность к движению растений». Кроме того, Дарвину принадлежит авторство наименований ряда ботанических и некоторых зоологических таксонов. Пример – описание мелкорослого страуса – «нанду Дарвина».

Параллельно учёный занимался исследованием усконогих раков, создав капитальный труд по систематике современных и вымерших форм этой группы животных. Интересным представляется тот факт, что за 100 лет до Вавилова Дарвин уже пытался выделить центры происхождения организмов. Важный вклад учёный внес в зарождающуюся науку – селекцию,

начав опыты по скрещиванию видов. Также, интересными представляются его исследования по геологии и палеонтологии. Он исследовал ископаемые останки нескольких групп вымерших гигантских животных.

Таким образом, Чарльз Дарвин, известный как основоположник теории эволюции, представляет собой пример исследователя, чьи научные изыскания представляют интерес по сей день.

НАУЧНЫЙ ВКЛАД А.С.ФАМИНЦЫНА КАК ПРИМЕР ДЛЯ СОВРЕМЕННЫХ ИССЛЕДОВАТЕЛЕЙ В ОБЛАСТИ ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ

Королькова Д.В., Сошинкова Т.Н.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва (Россия)

E-mail: *korolkova_d_v@mail.ru*

Люди, которые на протяжении всего жизненного пути связаны с наукой являют собой особый тип исследователя, эксперименты которого превращаются в поистине творческий процесс, подкреплённый огромным научным опытом и разносторонними знаниями.

Ярким примером такого естествоиспытателя в отечественной физиологии растений является А.С.Фаминцын. Ему принадлежат открытия и труды в области анатомии, эволюции, морфологии и эмбриологии растений, которые носят не только теоретический, но и прикладной характер, особенно для агрономии. Кроме цветковых растений он изучал мхи, водоросли а также уникальные организмы – лишайники. Его химико-физиологические исследования послужили основой для появления новой отрасли науки – биохимии.

Фаминцын пытался установить связь естествознания и психологии, обращал внимание на учебное дело в России. Он является автором первого учебника по физиологии растений. Помимо самостоятельных исследований, Андрей Сергеевич вёл самостоятельный курс в Санкт-Петербургском университете, неоднократно выступал в защиту демократических прав студентов и улучшение их быта. Исследуя главную задачу своих трудов – поиск единообразия живого, он высказывал самые смелые идеи, часто не встречавшие поддержку у современников. Его потребность расширить рамки своих изысканий выразилась в изобретении прибора для изучения влияния искусственного света на растения.

Именно по инициативе Фаминцына и при его участии был основан первый в России научно-исследовательский центр по физиологии растений – Лаборатория в Санкт-Петербурге. Позднее, она была переведена в Москву и стала Институтом физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН. Жизненный путь Фаминцына, названный им самим «напряжённым и непрерывным», является поистине интересным примером пути исследователя для современных естествоиспытателей в области физиологии растений.

СМУИС ПНЦ РАН – ОБЩЕСТВЕННАЯ ИНИЦИАТИВА ИЛИ НЕОБХОДИМЫЙ ПОСРЕДНИК МЕЖДУ АДМИНИСТРАЦИЕЙ, ПРОФСОЮЗОМ И НАУЧНОЙ МОЛОДЁЖЬЮ

Хохлова Т.И.

Институт биологического приборостроения РАН; СМУИС ПНЦ РАН, Пущино (Россия)

E-mail: *agutty@rambler.ru*

По меркам городов Пущино – очень молодой город, ему всего 45 лет. Но он ещё молод и своими жителями. Находящиеся в городе 9 научно-исследовательских институтов РАН биологического профиля, каждый из которых имеет аспирантуру и образовательные центры, Пущинская радиоастрономическая обсерватория ФИАН, а также Пущинский государственный университет и филиал МГУ обеспечивают постоянный приток научной молодёжи. Эта молодёжь активна, полна амбициозных планов и требовательна к себе и окружающим условиям. Поэтому молодые исследователи закономерно объединяются в сообщества, пытаются совместными усилиями решать возникающие проблемы.

Существующий в настоящее время общий для Пушкинского научного центра Совет молодых учёных, исследователей и специалистов является уже третьим в Пушкинском научном центре РАН. С начала 90-х последовательно были созданы для решения различных задач два совета: один в форме самостоятельной общественной организации, второй также в виде общественной организации, но при Пушкинском научном центре. Кроме того, некоторое время функционировал профсоюз магистрантов и аспирантов ПушГУ. Постоянно в том или ином виде работают советы молодых учёных отдельных институтов. Проблемы, подвигающие молодых учёных к активности, всегда одинаковы: отсутствие жилья, низкие зарплаты, недостаточное финансирование научных проектов.

К сожалению, оба предшествующих центральных совета по разным причинам прекратили своё существование, в основном, как кажется, не найдя долговременной цели и не сумев организовать постоянный приток активной молодёжи по мере ухода старых лидеров. В любом случае, нельзя отрицать, что Советы молодых учёных, объединяющие активную молодёжь, являются реальной политической силой не только в масштабе такого небольшого наукограда, но и гораздо шире. Именно поэтому создание общероссийской сети Советов молодых учёных и специалистов при условии их тесного взаимодействия и обмена информацией способно привести к созданию и распространению другого, интеллектуального и рационального мировоззрения, основанного на других моральных ценностях, нежели жажда сиюминутной наживы и нежелание смотреть хотя бы на шаг вперёд.

В Пушкино впервые грамотно использовать эту политическую силу смог нынешний глава города в ходе предвыборной борьбы. Активная научная молодёжь, которой жить в городе и которая смотрит вперёд гораздо дальше остальных, смогла убедить остальных жителей в правильности выбора. Однако удастся ли новому мэру удержать правильное направление, минуя подводные камни бюрократизма и ловушки коррупции, покажет время. Видится, что большую помощь в этом может оказать всё та же активная научная молодёжь. Вопрос лишь в том, захочет ли он использовать и дальше эту поддержку.

Существующий в настоящее время Совет молодых учёных, исследователей и специалистов Пушкинского научного центра РАН старается учесть ошибки предшествующих советов и видит своей основной целью сплочение молодёжи города, независимо от учёной степени, должности и стажа работы, а также координацию молодёжного движения с деятельностью других общественных сил города, а также различными уровнями власти. В частности, сейчас в Совет входят представители всех институтов РАН, в свою очередь сам Совет через своих членов и других молодых учёных имеет представительство в объединённом профкоме ПНЦ РАН, депутатских комиссиях Совета депутатов г. Пушкино, Общественной палате г. Пушкино, Совете молодых учёных и специалистов Московской области, Совете молодых учёных РАН, планируется участие в Совете молодых учёных и специалистов Союза наукоградов России.

Помимо базовых вопросов (жильё, питание, обеспечение социального обслуживания), Совет проводит активную информационную политику, предоставляя молодым учёным информацию по грантам и конкурсам, образовательным ресурсам, привлекая к участию в образовательных мероприятиях для школьников. Немаловажной сферой деятельности являются образовательные мероприятия для самих молодых учёных: организация языковых клубов, предметных семинаров по смежным областям наук и др.

Отдельным вопросом является повышение юридической грамотности молодых учёных в различных областях, в том числе в области трудового права. В этом отношении большие перспективы имеет сотрудничество с профсоюзными организациями на местах и объединённым профсоюзом ПНЦ РАН. Привлечение молодёжи в профсоюзную работу позволяет активизировать деятельность профсоюзов, наладить работу профсоюза с применением современных технических средств, организовывать совместные мероприятия и акции.

Несмотря на все преимущества привлечения молодёжи к решению различных управленческих и организационных вопросов, власть настороженно относится к взаимодействию с молодёжным научным сообществом. Отчасти это связано с отсутствием навыка взаимодействия и совместного решения задач, что при систематичном подходе вполне разрешимо. Несмотря ни на что, формирование активной гражданской позиции молодых учёных, стимулирование их к творческой работе над совершенствованием окружающих условий, проектирование своей жизни и организованное выражение своих предложений по

улучшению всех сфер их жизни, особенно работы, очень важно для них самих в первую очередь и повышает их ответственность не только за научные результаты, но и за свою жизнь.

ВОЗМОЖНОСТЬ ПРОВЕДЕНИЯ КАЧЕСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПО БИОЛОГИИ В ТЕЧЕНИЕ СРОКА АСПИРАНТУРЫ

Королькова Д.В., Сошинкова Т.Н.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва (Россия)

E-mail: *korolkova_d_v@mail.ru*

В современном обществе одно из лидирующих научных направлений занимает биология. Перед аспирантом, выбравшим эту область, ставятся задачи: получить, уточнить и применить значимые, обоснованные, грамотно изложенные знания в течение трёх лет. Мы считаем, что эти сроки могли бы быть достаточными для человека, пришедшего в науку с хотя бы минимальным набором теоретических и практических знаний и умений, если бы можно было избежать некоторых проблем.

Первый год обучения уходит на подготовку к сдаче кандидатского минимума, поэтому, проблематично провести качественные исследования. Также, особого внимания заслуживает научный руководитель. Он может либо помогать аспиранту от плана работы до правки статей, либо давать ему полную свободу. В первом случае мы получим сотрудника, практически лишённого собственных идей и творчества в исследованиях. Во втором случае аспиранту будет очень трудно, но в дальнейшем он сможет продолжить изыскания в любой области, так как будет обладать огромным научным опытом.

Немаловажным является и личность самого аспиранта, его готовность к тщательному изучению проблемы. На выходе из аспирантуры мы имеем несколько типов сотрудников. Первый - подобие робота, лишённого творчества, но готового под строгим руководством продолжать исследования. Второй – предприимчивый человек, получивший от аспирантуры личную выгоду (отсрочка от армии, повышение по службе) и идущий далее своей дорогой, не связанной с наукой. Третий – это творчески одарённый, полный идей и трудоспособный человек.

Таким образом, сроки аспирантуры из-за вышеуказанных обстоятельств практически всегда не достаточны для подготовки по-настоящему значимой научной работы.

МЕТОДЫ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО ПРОСВЕЩЕНИЯ СЕЛЬСКИХ И ГОРОДСКИХ ШКОЛЬНИКОВ

Иванова Н.В.

НИЛ устойчивости лесных экосистем Костромского государственного
университета им. Н.А. Некрасова, Кострома (Россия)

E-mail: *Natalya.dryomys@gmail.com*

Исследования проводились в лицее №34 города Костромы и шарьинской (сельской) школе №6. Среди учащихся восьмых и десятых классов проведено анкетирование, в ходе которого школьникам предлагалось перечислить экологические проблемы, актуальные для Костромской области. Всего было опрошено по 50 человек в каждой школе.

Результаты опроса показали, что городские и сельские дети по-разному осведомлены в данном вопросе.

Городские школьники считают экологическими проблемами только те, с которыми они сталкиваются в повседневной жизни. Большинство учащихся (63%) указали на захламленность и недостаточное озеленение города Костромы. Только 4% опрошенных упоминали чрезмерную вырубку лесов в области и вымирание редких видов. 33% городских школьников, принимавших участие в опросе, вообще ничего не знают об экологических проблемах области.

Анкетирование, проведенное в шарьинской школе, показало, что сельские школьники шире осведомлены об экологических проблемах области.

На проблему чрезмерной вырубке лесов указали 63% опрошенных школьников, 7% - на загрязнение лесов бытовым мусором, 8% обеспокоены проблемой исчезновения редких видов. 4% школьников считают экологической проблемой недостаточную информированность населения о проблемах экологии, на безответственное отношение людей к природе указали 5% учащихся. Загрязнение Шарьи мусором считают экологической проблемой 10% опрошенных. Только 3% сельских школьников не осведомлены о состоянии окружающей среды в области.

Таким образом, содержание экологического просвещения в сельской и городской школе должно отличаться. В городской школе необходимо больше внимания уделять методам «полевой экологии»: проведению экскурсий в природу и организации экологических троп. Сельским школьникам не хватает теоретических знаний. Поэтому экологическое просвещение должно включать в себя теоретические вопросы экологии. Реализация данного подхода возможна через проведение викторин, интеллектуальных игр и конференций.

ОТВЕТСТВЕННОЕ ОТНОШЕНИЕ К ПРИРОДЕ – СЛОЖНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛИЧНОСТИ

Каюмходжаева Ё.М.

Ташкентский государственный институт культуры, Ташкент (Узбекистан)

E-mail: *shersan1983@mail.ru*

Экология как наука включает в себя весь комплекс взаимодействия факторов - как природных и технологических, так и социальных, моральных, нравственных. Более того, социальные факторы в настоящее время становятся ведущими и представляют собой сознательную деятельность людей, активно отстаивающих свои цели, интересы, часто далеки от интересов общества и человечества в целом, идущие иногда в разрез с этими интересами.

На природу нельзя смотреть только как на материал и сырье труда и «окружающую среду», то есть утилитарно-эгоистически, как подходят к ней производство, техника и точные науки - как к объекту. Природу надо воспринимать как самоценность и понимать как субъект и к природе необходимо подходить именно как к «миру природы».

Все вышеизложенное позволяет заключить, что решение экологических проблем в огромной степени зависит от постановки экологического образования и воспитания подрастающих поколений. Вступающие в трудовую жизнь люди должны хорошо знать законы природы, понимать взаимосвязь природных явлений, уметь предвидеть и оценивать последствия вмешательства в естественное течение различных процессов.

Ответственное отношение к природе означает понимание законов природы, определяющих жизнь человека, проявляется в соблюдении нравственных и правовых принципов природопользования. Как известно, образование в широком смысле слова - это процесс и результат развития личности под воздействием целенаправленного обучения и воспитания. Обучение же - это процесс взаимодействия преподавателя и студента, в ходе которого осуществляется воспитание человека.

В науке существует представление, что образование призвано проявить настойчивость в воспитании нового поколения, которому присуще особое видение мира как объекта его постоянной заботы. Формирование экологического образования - важнейшая задача учреждений образования в настоящее время. Экологическое образование может помочь в усвоении таких экологических, этических ценностей и отношений профессиональных навыков и образа жизни, которые требуются для устойчивого развития личности.

СЕКЦИЯ «Биология и экология микроорганизмов»**ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРЫ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ВДОЛЬ ГРАДИЕНТА ЗАСОЛЕНИЯ В РАЙОНЕ СОЛОНЧАКОВ КАЗАХСТАНА**Андронов Е.Е.¹, Кимеклис А.К.¹, Пинаев А.Г.¹, Першина Е.В.¹, Петрова С.Н.², Рахимгалиева С.Ж.³, Сергалиев Н.Х.³, Ахмеденов К.М.³, Горобец А.В.⁴¹ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Пушкин (Россия)²Орловский государственный аграрный университет, Орел (Россия)³РГКП «Западно-Казахстанский аграрно-технический университет им. Жангир хана» МОН РК, Уральск (Казахстан)⁴ГНУ Почвенный институт им. В.В. Докучаева РАСХН, Москва (Россия)E-mail: *pershina.elizaveta@yandex.ru*

Исследована динамика трех компонентов почвенного микробного сообщества (бактерий, архей и грибов) в образцах почвы, отобранных вдоль градиента засоленности в окрестностях озера Акколь Чингирлауского района Казахстана. Из почвенных образцов проводилось выделение ДНК. Структура и численность микробного сообщества определялась с использованием метода T-RFLP и ПЦР с детекцией в реальном времени. В качестве контрольных образцов использовались образцы почвы, отобранные в 195 км от солончака. Было показано, что основным экологическим фактором, определяющей структуру почвенного сообщества является засоленность. Средние значения численности микроорганизмов (без учета образца с максимальным уровнем засоления) оценивались в количестве рибосомальных оперонов на грамм почвы: для бактерий - $3.5 \cdot 10^9 \pm 4.2 \cdot 10^8$; для архей - $3.0 \cdot 10^8 \pm 5.0 \cdot 10^7$, для грибов - $1.3 \cdot 10^7 \pm 2.7 \cdot 10^6$. В наиболее засоленном образце численность архей была максимальной $6.9 \cdot 10^9$, и, по мере снижения степени засоленности, постепенно снижалась на фоне увеличивающейся численности бактериального и грибного сообществ. Для сопоставления T-RFLP-профилей был проведен их кластерный анализ и построены дендрограммы, отражающие сходство структур бактериальных, археотных и грибных сообществ в различных образцах почв. На них сообщество наиболее засоленного образца занимает обособленное положение. При анализе оставшихся образцов оказалось, что образец, отобранный в 350 метрах от максимально засоленного участка кластеризуется вместе с образцами контрольной почвы. Аналогичные тенденции ясно видны и в археотном, и в грибном сообществах. С использованием коэффициента Симпсона была оценена генетическая гетерогенность микробных сообществ показано, что степень засоления, место выделения и другие характеристики не сильно влияют на уровень гетерогенности микробных популяций. Настоящее исследование демонстрирует, что структура почвенного сообщества микроорганизмов отражает особенности почвы и может быть использована как индикатор экологического состояния. Работа поддержана ФЦП ГК №16.512.11.2132.

АССИМИЛЯЦИОННЫЕ СПОСОБНОСТИ ЭПИФИТНЫХ ДРОЖЖЕЙ ХЛОПЧАТНИКА**Бабажанова В.А**Институт биоэкологии ККО Академии наук Республики Узбекистан,
Нукус (Узбекистан)E-mail: *venus82@inbox.ru*

Как известно, поверхность растений является местом обитания разнообразных микроорганизмов, которые определяют как эпифитные. На их состав сильно влияют как природные факторы, так и некоторые обитающие на растениях насекомые. Многие эпифитные дрожжи образуют полисахаридные капсулы, защищающие их от частых периодов высушивания в филлосфере и способствующие механическому перемещению скоплений капсулированных клеток по поверхности листа, тем самым, повышая вероятность их попадания в локусы экссудации. Не все исследователи однозначно относятся к полисахаридной капсуле

как приспособительному признаку эпифитных микроорганизмов. Большая часть эпифитных дрожжей характеризуется широкими ассимиляционными возможностями. Список усваиваемых ими соединений включает полный набор простых сахаров, некоторые полимеры, сахароспирты, органические кислоты, аминокислоты и нуклеиновые кислоты.

Нами изучено дрожжевое сообщество эпифитных организмов, обитающих на растениях хлопчатника, пораженных тлей и без неё.

Численность дрожжевых микроорганизмов колеблется в пределах 10^4 , 10^5 с тлей, без тли на один порядок ниже. Видовое наполнение бедное 2-12 видов, от начала до конца вегетации – 5 видов дрожжей. С помощью углеводных бумажных дисков определен набор простых и сложных сахаров, усваиваемых ими. В результате подробного изучения их морфолого-культуральных и физиолого-биохимических признаков установлен таксономический состав дрожжей. Получено 17 чистых культур дрожжей, из них 3 культуры осуществляли деструкцию сахаров. Другие частично трансформировали глюкозу, сахарозу, лактозу, маннит.

Таким образом, эпифитное сообщество дрожжей предпочитает специфические локусы, богатые углеводами, органическими кислотами и т.п. Поскольку дрожжи – сахаролитики, они охотно формируются на поверхностях растений, пораженных тлями, развитие которых вызывает накопление сахаристых выделений.

Литература

1. Бабьева И.П., Чернов И.Ю. Биология дрожжей. КМК. М. 2004, с. 92-97
2. Гулямова Н.Х., Ирисбекова Н.А., Сайдходжаева М.А. Дрожжи плодово-ягодных растений центральной Азии. «Янги аср авлоди» Т. 2004, с. 12

БИОРЕМЕДИАЦИЯ ПОЧВЕННОГО ПОКРОВА ЮЖНОГО ПРИАРАЛЬЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИКРОБНЫХ БИОТЕХНОЛОГИЙ

Атамуратов А.С.

Институт биоэкологии ККО Академии наук Республики Узбекистан,
Нукус (Узбекистан)

E-mail: anvarsan@rambler.ru

Пути решения экологических проблем – это знание механизмов внедрения антропогенного потока веществ в естественные биогеохимические циклы.

Анализ состояния окружающей среды в Южном Приаралье убедительно свидетельствует о глубоких и широкомасштабных трансформациях естественных экосистем. К числу наиболее острых проблем приходится с неизбежностью отнести деградацию почв и разрушение почвенного покрова. Другой проблемой в сельском хозяйстве является засоление почв. Все орошаемые земли региона в той или иной степени засолены.

Одним из эффективных методов оздоровления загрязненных зон является биоремедиация основанная на современных микробных биотехнологиях. Современные достижения в биотехнологии способствовали тому, что биоремедиация стала одним из наиболее быстро развивающихся направлений в восстановлении экологии с использованием микроорганизмов для снижения концентраций и токсичности различных химических загрязнителей.

Наши многолетние исследования показали, что микробиологические сообщества Южного Приаралья как аридной зоны, характеризуются большой активностью (велика скорость размножения, короткое время генерации, значительна деструктивная активность, интенсивность дыхания). Учитывая разнородность природной среды Южного Приаралья, характера антропогенного воздействия на природную среду, нами изучена ризосфера некоторых ведущих пустынных растений, широко распространенных в осушенном дне Арала, часто очень сильно засоленных. Нами выделено около 70 активных культур перспективных для биоремедиации.

Как показывают результаты исследований, в ризосфере находится намного больше микроорганизмов, чем рядом в почве и видовое наполнение значительно выше. Поэтому, для выделения микроорганизмов из почвенных субстратов целесообразнее использовать ризосферную микрофлору.

ПЕРЕКРЕСТНЫЙ АНТАГОНИЗМ МУТАНТНЫХ БАКТЕРИЙ *PSEUDOMONAS PUTIDA* КМБУ4308

Кулешова Ю.М., Скакун Т.Л.

Белорусский государственный университет, Минск (Беларусь)

E-mail: Yuliakuleshova@yahoo.co.uk

Наиболее востребованным свойством бактерий PGRP-группы является их антимикробная активность. Установлено, что одним из ее механизмов является конкуренция за биодоступные ионы железа и их комплексы с сидерофорами. Доминантными сидерофорами бактерий рода *Pseudomonas* являются флуоресцирующие пигменты пиовердины. Благодаря видоспецифичности и прочности комплекса пиовердина-Fe³⁺ (константа связывания Fe³⁺-ионов достигает 10²⁵-10³²), связанный ион железа доступен лишь тем бактериям, которые имеют рецептор клеточной мембраны, строго специфичный для данного комплекса. Другие микроорганизмы не способны поглощать такой комплекс, в результате чего достигается дефицит ионов железа, достаточный для подавления их роста и развития.

При помощи химического мутагенеза бактерий *P. putida* КМБУ4308 нами были получены мутантные штаммы, характеризующиеся повышенным уровнем продукции пиовердинов с измененным аминокислотным составом пептидной части молекулы. С помощью теста «отсроченного антагонизма» установлено, что бактерии мутантных штаммов и исходного *P. putida* КМБУ4308 проявляют перекрестную антагонистическую активность по отношению друг к другу. Полученные результаты указывают на то, что бактерии способны поглощать лишь собственный пиовердин, но не пиовердины мутантных штаммов, отличающиеся по аминокислотному составу пептидной цепи. Также в эксперименте использовались транспозонные мутанты *P. putida* с блоком синтеза пиовердина, в результате чего показано, что отсутствие способности к продукции пигмента приводит к полному исчезновению антимикробной активности изучаемых бактерий.

Таким образом, антагонистическая активность бактерий *P. putida* КМБУ4308 определяется уникальностью строения синтезируемых ими пиовердинов. Вместе с тем, варьируя состав и композицию аминокислот пептидной части молекулы данных сидерофоров можно получать мутантные штаммы *P. putida* с измененным спектром антибактериальной активности.

ПРИМЕНЕНИЕ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДСТВ ЗАЩИТЫ В БОРЬБЕ С КОРНЕВЫМИ ГНИЛЯМИ ОГУРЦА

Опрышко Н.А., Чабанюк Я.В.

Институт агроэкологии и экономики природопользования НААН, Киев (Украина)

E-mail: evg.ted@rambler.ru

Огурец является незаменимым продуктом рационального питания человека и продуктом массового потребления. По площади посевов среди овощей открытого грунта огурец занимает четвертое место после томатов, капусты и лука. На данный момент существует проблема низкой полевой всхожести семян огурца. Это связано с распространением болезней на ранних этапах органогенеза данной культуры. Так корневые гнили распространяются под действием экстремальных значений температур почвы (ниже 16°C и выше 28°C), которые в последние годы на территории Украины случаются чаще. Одним из путей решения проблемы низкой полевой всхожести семян является специальная подготовка семян, которая способствует повышению их всхожести, энергии прорастания и обеззараживанию.

В лаборатории экологии микроорганизмов Института агроэкологии и экономики природопользования НААН Украины проводятся исследования влияния химических и биологических методов защиты растений на микробоценоз почвы ризосферы, полевую всхожесть и урожайность огурца.

В полевом опыте на базе Сквирской опытной станции микробиологические исследования почвы ризосферы огурца показали, что предпосевная обработка семян повлияла на численность микромицетов. Наблюдали снижение их численности при использовании препаратов Апрон, Экотон, Биополицыд и комплекса биопрепаратов. В 2010 году на полевую всхожесть положительно повлияли как препараты ростостимулирующего (Эмистим, Экотон,

Фосфоэнттерин) так и защитного действия (Биополицыд и комплекс биопрепаратов). На ранних этапах органогенеза была проведена фитопатологическая оценка растений, которая показала, что препараты защитного действия, как химические (Апрон, Экотон), так и биологические (Биополицыд и комплекс биопрепаратов) понижают распространение и развитие болезни. Биологическая эффективность средств борьбы с корневыми гнилями всех препаратов составила более 50%.

МИКРОБНОЕ СООБЩЕСТВО РИЗОСФЕРЫ РАПСА

Бунас А.А., Чабанюк Я.В.

Институт агроэкологии и экономики природопользования НААН, Киев (Украина)

E-mail: evg.ted@rambler.ru

В корневой зоне растений, как естественных ценозов, так и агроэкосистем, происходит адаптация почвенной микрофлоры к количеству и составу экссудатов выделяемых высшими растениями. Характер интеграционных процессов микроорганизмов ризосферы является показателем степени и направленности изменений в эдафосфере.

Естественные ассоциации микроорганизмов ризосферы растений, являются не случайными скоплениями микроорганизмов, а объединены в организованные популяции, где активно происходит обмен веществом и энергией. Основным свойством таких ассоциаций, есть способность к авторегуляции состава и деятельности.

Мы исследовали микробоценоз ризосферы растений рапса в полевом опыте Института кормов НААН в зависимости от различных доз минеральных удобрений.

В варианте без внесения удобрений так и в варианте с внесением 180кг/га азотных удобрений, сохранялась общая тенденция увеличения численности основных эколого-трофических и таксономических групп микроорганизмов. Так, численность эвтрофной микрофлоры опытных вариантов на момент исследования превышала показатель педотрофной в 1,8раз для варианта без внесения удобрения и в 2,5 раза в варианте с внесением удобрения. Коэффициент олиготрофности фиксированный на уровне 0,8 и 0,6, соответственно, свидетельствует, что оба агроценоза обеспечены питательными веществами, что и объясняет доминирование зимогенной микрофлоры.

Исследование интенсивности деструкции целлюлозы показало, что разрушения органичного субстрата колеблется в пределах 30-70% (в зависимости от варианта опыта) и коррелирует с численностью азотфиксаторов. Это свидетельствует о том, что фиксированный азот утилизируется целлюлозоразлагающей микрофлорой и стимулировал ее развитие.

Таким образом, в агроценозе рапса, микробное сообщество обладает высокой стабильностью и существует, главным образом, на принципах трофических взаимосвязей.

КАРБОНОВЫЕ КИСЛОТЫ И АМИНОКИСЛОТЫ КАК АВТОРЕГУЛЯТОРЫ РОСТА *ESCHERICHIA COLI*

Полевая Е.В., Вахитов Т.Я.

ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» ФМБА, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: lenna_22@mail.ru

Бактериальные экзометаболические продукты - карбоновые кислоты и аминокислоты, являются не только конечными продуктами обмена бактерий, но и выполняют важные регуляторные функции в их жизнедеятельности: стимулируют (ингибируют) рост, влияют на экспрессию генов, в том числе и генов вирулентности, отвечающих за колонизацию кишечника и синтез токсинов.

В работе изучались регуляторные функции внеклеточных карбоновых кислот и аминокислот *Escherichia coli* M-17; VL 613 (продуцент лизина); BL 21(DE3), BL 21(DE3) [pAУС-ЕТ-(hIFN- α 2b)-lacI], №14 Нly+ и O75 №5557 Нly+.

Все штаммы различались по составу экзометаболических продуктов. *E.coli* M-17 выделял преимущественно лактат, аланин, фенилаланин, метионин и треонин, №14 – ацетат и глицин,

O75 №5557 – сукцинат и пролин, *E.coli* BL 21 – лейцин, лизин, аргинин, цистеин и серин. Штамм BL 21(DE3), несущий плазмиду человеческого рекомбинантного интерферона, суммарно выделял в 2 раза меньше аминокислот, чем BL 21(DE3) (реципиент). Еще меньше аминокислот выделяли штаммы патогенных микроорганизмов – №14 и O75 №5557. Принципиальные различия наблюдались в динамике выделения метаболитов и в чувствительности к ним различных штаммов. Серин ингибировал рост всех штаммов, формиат не влиял на рост, а метионин стимулировал рост M-17 и VL 613, но ингибировал O75 и №14, цистеин стимулировал рост только BL 21(DE3) и BL 21(DE3) [pAYC-ET-(hIFN- α 2b)-lacI] и т.д. На основе экзометаболитов были составлены различные композиции, исследовано их биологическое действие в отношении *E.coli*, получены композиции, избирательно стимулирующие или ингибирующие выбранные штаммы *E.coli*.

РОЛЬ ИУК, СИНТЕЗИРУЕМОЙ *P. FLUORESCENS* S-32, В РАЗВИТИИ КОРНЕВОЙ СИСТЕМЫ РАПСА

Феклистова И.Н., Можарова И.В.

Белорусский государственный университет, Минск (Беларусь)

E-mail: feklitova_iren@rambler.ru

Усиление роста корней является одним из основных маркеров, по которым судят об эффективности применения бактерий PGPR-группы. Быстрое образование корневой системы путем удлинения первичных корней или пролиферации боковых и придаточных корней выгодно для молодых растений т.к. способствует их закреплению в почве и увеличению потребления воды с растворенными питательными веществами. Большинство ризосферных бактерий синтезируют ИУК, что приводит к стимуляции роста корней.

Целью работы явилось исследование влияния ИУК, синтезируемой *Pseudomonas fluorescens* S-32, на развитие корневой системы рапса.

Количество ИУК в культуральной жидкости *P. fluorescens* S-32 было определено спектрофотометрически и составило $7,31 \pm 0,27$ мкг/мл; при внесении в ростовую среду 50 мкг/мл триптофана (предшественника ИУК) концентрация гормона увеличивалась в 2,3 раза и достигала $16,8 \pm 0,31$ мкг/мл.

Исследования показали, что обработка семян рапса бактериями *P. fluorescens* S-32 привела к увеличению длины корней по сравнению с контрольным вариантом (без обработки) в 1,28 раза (с 49,77 мм до 63,71 мм). Кроме того, наблюдалось увеличение числа придаточных корней в 1,31 раза. Следует отметить, что сходный эффект наблюдался при обработке семян раствором ИУК (10 мкг/мл).

Таким образом, установлено, что обработка семян рапса суспензией бактерий *P. fluorescens* S-32 привела к увеличению как длины корней растений, так и числа придаточных корней, что делает штамм *P. fluorescens* S-32 перспективным для использования в сельскохозяйственной биотехнологии.

СИНТЕЗ ГИББЕРЕЛЛИНОВ БАКТЕРИЯМИ *P. FLUORESCENS* S-32

Феклистова И.Н., Маслак Д.В.

Белорусский государственный университет, Минск (Беларусь)

E-mail: feklitova_iren@rambler.ru

В русле современных тенденций по созданию биологических средств стимуляции роста и развития растений лежит создание нового биопрепарата Стимул (ГУ ВУ 700068910.020-2010), разработанного в Белорусском государственном университете. Основой биопрепарата Стимул являются клетки ризосферных бактерий *Pseudomonas fluorescens* S-32. Лабораторные и производственные испытания показали высокую эффективность препарата: наблюдалось увеличение массы корней на 49-54%, а массы надземной части – на 40-55%. Кроме того, наблюдалась прибавка урожайности овощных культур от 16 до 27%.

Известно, что стимуляция роста растений ризосферными бактериями обусловлена синтезом ИУК, гиббереллинов, цитокининов, витаминов; улучшением фосфорного питания

растений; фиксацией атмосферного азота; деструкцией растительного гормона старения – этилена и индукцией устойчивости растений к абиотическим факторам. Целью настоящей работы явилась идентификация гиббереллинов, синтезируемых бактериями *P. fluorescens* S-32.

Концентрацию гиббереллинов, синтезируемых бактериями, определяли флуориметрически (испускание 464 нм и возбуждение 406 нм). Установлено, что уровень синтеза гиббереллинов бактериями *P. fluorescens* S-32 соответствует 15.23 ± 0.41 мг/л.

Выделение гиббереллинов было проведено с помощью ТСХ. Путем сопоставления значения *R_f* компонентов, а также их окраски с данными, представленными в литературных источниках, установлено, что бактерии *P. fluorescens* S-32 синтезируют следующие гиббереллины: А6, А5, А4 и комплекс А1/А3.

Помимо биохимической идентификации гиббереллинов был проведен биотест с использованием семян латука *Lattuca sativa*. Установлено, что все компоненты, идентифицированные нами, как гиббереллины, способны стимулировать рост гипокотилей латука: длина подсемядольного колена в контрольном варианте составила 3.4 мм, а у растений, обработанных А4, А5 и А6 – 9.2, 8.7 и 10.3 мм соответственно. Наибольшая длина гипокоты (11.3 мм) наблюдалась у растений, семена которых были обработаны комплексом гиббереллинов А1/А3.

РАЗРАБОТКА ПЦР-ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ОДНОВРЕМЕННОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ МИКРООРГАНИЗМОВ РОДА *ENTEROBACTERIACEA*

Евстратова Е.С.

Обнинский институт атомной энергетики (ИАТЭ) Национального исследовательского
ядерного университета (НИЯУ) «МИФИ», Обнинск (Россия)

E-mail: ekvs7240@mail.ru

Хорошо известно, что некоторые виды и биовары эшерихии, сальмонелл, клебсиелл, протеев и иерсиний вызывают внутрибольничные инфекции, а также инфекционные заболевания людей. Поэтому, несомненно, представляет интерес разработать высоко чувствительную и специфичную ПЦР-тест-систему для одновременной идентификации различных видов микроорганизмов рода *Enterobacteriaceae*. Для исследования были выбраны геномы 5 наиболее широко распространенных родов кишечных бактерий (*E. coli*, *S. enterica*, *Pr. mirabilis*, *Pr. vulgaris*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter sp. chitinase*, *Shigella dysenteriae*). Учитывая требования для создания тест-систем, в качестве ДНК-мишени нами была выбрана рибосомальная ДНК (16S) изучаемых микроорганизмов. Последовательности гена 16S размером 1560 п.н. были всесторонне проанализированы при помощи компьютерной программы «Oligo 6». По результатам анализа в качестве прямого «Forward» праймера был выбран неселективный (общий для анализируемых видов микроорганизмов) праймер длиной 23 п.н. (ATCCSTTTCCSTACTTCACTATCT). В качестве обратного «Reverse» праймера – 23 п.н. (AAGGGGGTTAGTATGATTGTTAG).

ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ УРАЛА И СИБИРИ НА УСТОЙЧИВОСТЬ БАКТЕРИЙ К АНТИБИОТИКАМ

Лепехина Е.В.¹, Октябрьский О.Н.², Смирнова Г.В.²

¹Пермский государственный технический университет; ²Институт экологии и генетики
микроорганизмов УрО РАН, Пермь (Россия)

E-mail: alenshick@mail.ru

В настоящее время все большее внимание уделяется исследованию природных и синтетических соединений, модифицирующих действие антибиотиков. Одним из перспективных направлений является изучение действия экстрактов растений.

Целью работы явилось исследование действия ципрофлоксацина и ампициллина на бактерии *Escherichia coli*, растущие в среде, содержащей растительные экстракты. В качестве

параметров, характеризующих действие антибиотиков, использовали минимальные ингибирующие концентрации (МИК), влияние антибиотика на скорость роста бактериальной культуры и выживаемость клеток. В качестве микробной тест-системы использовался штамм бактерий *E. coli* QC771.

В исследованиях все испытуемые экстракты проявляли выраженное защитное действие против ципрофлоксацина, увеличивая его МИК. Однако, присутствие в среде культивирования экстрактов не вызывало изменения значения МИК ампициллина, кроме экстракта яблони.

В тесте на выживаемость почти все экстракты показали увеличение бактерицидной способности антибиотика. Эти различия связаны с тем, что в тесте на МИК исследуется бактериостатическое действие антибиотика при его длительном воздействии, а в опытах на выживаемость мы исследовали бактерицидное действие при кратковременном воздействии. Следует учитывать, что в реальных условиях антибиотик находится в организме в течение длительного времени.

Таким образом, в нашей работе показана модификация действия антибиотиков в присутствии экстрактов растений. В зависимости от условий опыта и экспозиции экстракты оказывали как защитный эффект, так и усиливали бактерицидное действие антибиотиков. Известно, что активность растительных экстрактов связана, с полифенолами, которые могут проявлять как про-, так и антиоксидантное действие. В последнее время показано, что ряд антибиотиков могут оказывать бактерицидное действие не только путем ингибирования специфических функций клеток, но и неспецифически, индуцируя окислительный стресс. Эти данные могут объяснить выявленные в этой работе эффекты. Полученные результаты должны учитываться при совместном применении антибиотиков и субстратов, содержащих полифенолы.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ СКОРОСТИ РОСТА ФИТОПЛАНКТОНА ЧЕРЕЗ МИТОТИЧЕСКИЙ ИНДЕКС

Соломонова Е.С.

Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского, Севастополь (Украина)

E-mail: solomonov83@mail.ru

Достоверность расчета удельной скорости роста имеет важное значение для оценки роли фитопланктона в потоках энергии и вещества. Исследование интенсивности развития микроводорослей, является ключевым для понимания функционирования морских экосистем. Основным критерием расчета потенциальной скорости роста фитопланктона с использованием митотического индекса является достоверность оценки самого M . Применение витальных красителей и проточной цитометрии для определения клеток с двойным набором ДНК (митотического индекса) позволяет получить данные с высокой производительностью, достоверностью. Цель работы: определение митотического индекса методом окрашивания флуорохромом SYBR Green для культур при различных световых условиях; сопоставление результатов расчета удельной скорости роста через митотический индекс и по приросту численности. Объектами исследования служили культуры водорослей *Phaeodactylum tricornutum*, *Nitzschia specia*, *Prorocentrum pusillum*, *Prorocentrum cordatum*, *Isochrysis galbana*. Неокрашенные и окрашенные пробы культур исследовали с помощью проточного цитометра CytomicsTM FC 500. При цикле «свет-темнота» наблюдали разный процент клеток с двойным набором ДНК. Он варьировал от минимального 6 (*Prorocentrum cordatum*) до максимального 23% (*Phaeodactylum tricornutum*). При постоянном, низком свете наибольший процент клеток с двойным набором ДНК наблюдали для *Nitzschia specia*, для остальных культур он не превышал 20% и был приблизительно одинаков. На высокой освещенности процент клеток, в фазе G_2 был выше, чем на низкой и варьировал от 20 до 30%, за исключением *Nitzschia specia* (38%). Таким образом, в ответ на увеличение интенсивности света происходит увеличение процента клеток, находящихся в стадии G_2 , деление является синхронным, в отличие от цикла «свет-темнота». Скорость роста, определенная через митотический индекс достоверно согласуется с полученными данными по удельной скорости роста, рассчитанной через прирост численности.

ВЛИЯНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ПРОБИОТИКА ЦЕЛЛОБАКТЕРИНА НА МИКРОФЛОРУ КУР-НЕСУШЕК И БРОЙЛЕРОВ

Никонов И.Н.¹, Курманаева В.В.², Лаптев Г.Ю.¹

¹ООО «БИОТРОФ», Санкт-Петербург (Россия)

²Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия, Ульяновск (Россия)

E-mail: *ilnikonov@yandex.ru*

Рационы питания в современном промышленном птицеводстве разработаны с целью обеспечения максимально быстрого роста птицы за минимально возможный промежуток времени. Однако повышенная концентрация питательных веществ в рационе часто приводит к нарушениям микрофлоры кишечника, снижению продуктивности и сохранности птицы. Поэтому изучение влияния рационов питания на микрофлору желудочно-кишечного тракта птицы является актуальным. Целью работы являлось исследование действия ферментативного пробиотика целлобактерина на микрофлору тонкого кишечника кур-несушек и цыплят-бройлеров.

Влияние ферментативного пробиотика на изучали методом балансового опыта. Опыт проводили на цыплятах-бройлерах и курах-несушках в условиях вивария. Рационы питания бройлеров и кур-несушек включали комбикорма с питательностью согласно рекомендациям ВНИТИП и были сбалансированы как по валовому содержанию аминокислот, так и с учетом их доступности. В рационы опытных вариантов добавляли ферментативный пробиотик. Оценивали зоотехнические показатели выращивания, переваримость. Бактериальное сообщество кишечника изучали методом оптимизированного для птицы T-RFLP-анализа. Обработку результатов проводили с применением дисперсионного и корреляционного анализов.

В результате исследований получены профили бактериальных сообществ. Обнаружено, что структура бактериальных сообществ стабильна и существенно не различается по доминирующим видам внутри варианта. Выявлены существенные различия по составу и по структуре бактериальных сообществ между вариантами опыта.

Результаты исследований показали, что видовое богатство микроорганизмов падает как при балансировании рациона с учетом усвояемости аминокислот, так и при добавлении в рацион ферментативного пробиотика. До 50% выявленных видов бактерий в тонком кишечнике является некультивируемыми. Применение ферментативного пробиотика приводит к изменению таксономического состава прокариот и смене доминирующих в микробном сообществе видов по сравнению с контрольными вариантами.

Таким образом, состав рационов кур-несушек и бройлеров оказывает существенное влияние на микрофлору тонкого кишечника.

Работа поддержана грантом РФФИ №09-04-13768-офи_ц.

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЯЕМЫХ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ БИОТОПОВ

Колмогорова С.В., Обухова Н.А., Скобликов Н.Э.

Краснодарский муниципальный медицинский институт высшего сестринского образования; ООО «CityLab», Краснодар (Россия)

E-mail: *kosheleva@yandex.ru*

Целью работы было исследование спектра антибиотикорезистентности условно-патогенных микроорганизмов, выделяемых у пациентов, обратившихся за обследованием в лабораторию «CityLab» г.Краснодара.

Объектом исследования послужил биоматериал (отделяемое верхних дыхательных путей и органов мочеполовой системы) от 283 пациентов (доля женщин составила 68,55%, мужчин – 31,45%). В отношении выделенных бактерий проводилось определение антибиотикорезистентности диско-диффузным методом по отношению к набору из 15 антибиотиков различных групп.

Доля пациентов, обратившихся за исследованием органов мочеполовой системы, составила 68,46%. Среди возрастных групп максимальное количество пациентов (27,27%) пришлось на

группу возраста от 25 до 30 лет. Всего было выделено 448 изолятов условно-патогенных бактерий, среди которых наиболее часто встречались: *Enterococcus faecalis* (17,95%), *Escherichia coli* (10,00%), *Staphylococcus haemolyticus* (6,14%), *Staphylococcus aureus* (5,91%), *Streptococcus pneumoniae* (4,09%), *Staphylococcus capitis* (3,64%), *Staphylococcus hominis* (3,64%), *Klebsiella pneumoniae* (2,95%), *Streptococcus bovis* (2,95%). Антибиотики, резистентность к которым продемонстрировали значительное количество изолятов: азитромицин (58,28%), кларитромицин (46,97%), гентамицин (34,21%), тобрацин (24,15%), доксициклин (23,32%). В отношении остальных антибиотиков резистентность проявлялась у менее чем 11% изолятов: ципрофлоксацин (10,16%), цефтриаксон (9,42%), цефтазидим (8,98%), цефазолин (7,55%), левофлоксацин (7,37%), цефотаксим (5,19%), цефуроксим (5,01%), амоксицилин (3,79%), цефаклор (2,67%).

Выводы. Для эмпирической антибактериальной химиотерапии следует признать малоэффективным применение азитромицина, кларитромицина, гентамицина; высокоэффективным – цефаклора, амоксицилина, цефуроксима.

Работа выполнялась в рамках проекта РФФИ № 11-04-96612-р_юг_ц.

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ФИЗИОЛОГИИ СТРЕПТОМИЦЕТОВ В ОТНОШЕНИИ УГЛЕВОДОРОДНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

Девятияров Р.М., Закирова Я.Н., Лайков А.В.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань (Россия)

E-mail: Alexander.laikov@yandex.ru

Одним из важнейших компонентов автохтонной почвенной микробиоты являются представители порядка *Actinomycetales*, составляющего основу класса *Actinobacteria*. Многие представители данного порядка способны продуцировать различные внеклеточные ферменты, обеспечивая деградацию сложных органических соединений как природного, так и антропогенного происхождения. Широко известна роль нестрептомицетных актиномицетов в биоремедиации нефтезагрязненных почв. Однако известно немного данных о способности стрептомицетов к деградации нефтяных загрязнений. Учитывая сложный жизненный цикл и облигатную потребность в кислороде можно предположить угнетение стрептомицетов в присутствии углеводородного загрязнения. Цель работы – оценить влияние нефтяного загрязнения на физиологическое состояние стрептомицетов и сообщество в целом. Микробиологический посев почвы с промышленной площадки в районе нефтедобычи выявил высокую численность (до 10^6 КОЕ/г) и разнообразие (до 25 морфотипов) стрептомицетов, которые были собраны в коллекцию. Большинство исследуемых изолятов (около 90%) оказались способны расти с формированием воздушного мицелия на среде с нанесенной на поверхность нефтью. До 60% изолятов использовали ароматические углеводороды (нафталин) в качестве единственного источника углерода и энергии. Для изучения изменений в сообществе почвенных стрептомицетов был поставлен модельный эксперимент по загрязнению почвы нефтью. После инкубации в течение 1 месяца в сообществах стрептомицетов контрольной и загрязненной почв достоверных различий обнаружено не было. При более длительной инкубации (в течение 6 месяцев) при концентрациях нефти в почве до 200 г/кг количество стрептомицетов снижалось незначительно, при концентрации 500 г/кг исследуемая группа не высевалась. Результаты исследований позволяют рассматривать стрептомицеты по отношению к нефти, с одной стороны, как мощный деструкторский комплекс, с другой стороны, как хрупкое звено, необратимо выпадающее из почвенного ценоза при длительном воздействии высокого углеводородного загрязнения.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ЭШЕРИХИОЗНЫХ БАКТЕРИОФАГОВ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ПОСТ-ОТЪЁМНОГО СИНДРОМА ПОРОСЯТ

Скобляков Н.Э., Забашта Н.Н., Васильева Е.А., Москаленко Е.А., Зимин А.А.

Северо-Кавказский НИИ животноводства, Краснодар (Россия)

Учреждение Российской Академии наук Институт биохимии и физиологии
микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина, Пушкино (Россия)

E-mail: *skoblikow@yandex.ru*

Актуальной проблемой животноводства являются эшерихиозы – инфекции, вызываемые патогенными штаммами кишечной палочки (*E. coli*), чей патогенный потенциал максимально реализуется у молодняка животных в определённые («критические») периоды онтогенеза, в первую очередь – в пост-отъёмный период. К числу перспективных средств профилактики и терапии данной патологии относятся препараты на основе бактериофагов.

Для изучения эффективности применения экспериментального препарата на основе эшерихиозного бактериофага для профилактики пост-отъёмного синдрома поросят нами был проведён опыт на базе свинофермы опытно-производственного хозяйства «Рассвет» СКНИИЖ. Были сформированы 7 групп животных (по 26-30 голов в каждой группе), отличающиеся по возрасту первого приёма экспериментального фагового препарата: группы №№ 1-2 – на 28-й день, группы №№ 3-4 – на 19-й день, группы №№ 5-6 – на 10-й день. В состав группы № 7 (контрольной) входили гнёзда с поросятами всех возрастов. Животным групп №№ 1-6 фаговый препарат вводился *per os*, по 5мл раствора с концентрацией фага $1,0 \times 10^{10}$ PFU/ml (группы №1, №3, №5) и $1,0 \times 10^9$ PFU/ml (группы №2, №4, №6) на голову с периодичностью 1 раз в трое суток в течение 10 дней (всего 4 введения).

Наилучшую сохранность поголовья и клиническое состояние (коррелирующие с титром энтеробактерий) показали животные 2-й группы. Таким образом, оптимальной схемой применения фагового препарата является его применение в дозировке $1,0 \times 10^{10}$ PFU/ml животным 28-дневного возраста.

Работа поддержана грантами РФФИ: № 08-04-99111-р_офи, № 09-04-90824-моб_ст, № 10-04-90823-моб_ст.

ОСМОАККЛИМАЦИЯ ОДНОКЛЕТОЧНОЙ ЗЕЛЕННОЙ ВОДОРОСЛИ *CHLAMYDOMONAS REINHARDTII*

Аникина А.В.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: *aav87@mail.ru*

Проблема биологии, связанная с выяснением путей акклимации микроорганизмов к изменению осмотического давления внешней среды (осмоакклимации), анализируется на разных по уровню организации объектах. Изучение систем, вовлеченных в процессы осмоакклимации одноклеточной зеленой водоросли *Chlamydomonas reinhardtii*, для которой секвенирован геном и разработаны методы генетического и молекулярно-биологического анализа, открывает дополнительные возможности для решения этой проблемы у фотосинтезирующих организмов на молекулярном уровне.

Изучение механизмов осмоакклимации *Chlamydomonas* показывает, что единственным осмолитиком гамет, как и вегетативных клеток, в условиях гиперосмотического стресса является глицерин. Анализ синтеза глицерина клетками, находящимися на разных этапах гаметогенеза, показал, что этот процесс происходит в средах, осмолярность которых увеличена как за счет сахаров (лактоза, сорбит), так и за счет хлорида натрия. Уникальность механизма осмоакклимации *C. reinhardtii* состоит в регулируемой секреции части синтезируемого глицерина в окружающую среду, способность к секреции глицерина демонстрируют также гаметы.

В геноме *C. reinhardtii* выявлено наличие нуклеотидной последовательности (NW_001843643) из 1654 п.о., содержащей 6 экзонов и 5 интронов. Предполагаемый белок (XP_001694120), состоящий из 300 аминокислотных остатков, имеет 5 потенциальных трансмембранных доменов и, по-видимому, относится к семейству основных внутренних белков (major intrinsic proteins, MIP), т.к. консервативный домен с мотивом Asn-Pro-Ala обнаруживает идентичность аквапоринам растений из семейства TIP: *Triticum aestivum* (Wheat) (A7J2I5_WHEAT, 41%), *Vitis vinifera* (Grape) (Q0MX09_VITVI, 40%), *Brassica napus* (Rape) (Q9XHG8_BRANA, 40%), *Arabidopsis thaliana* (TIP12_ARATH, 38%). Нами подобраны

праймеры для анализа экспрессии гена CgMIP1. Сравнительный анализ экспрессии CgMIP1 на разных этапах гаметогенеза в норме и условиях осмотического стресса методом ПЦР в реальном времени предполагает, что регуляция указанного белка осуществляется главным образом на посттранскрипционном уровне.

ВЫБОР ЛАБОРАТОРНОГО ХОЗЯИНА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ СПОР МИКРОСПОРИДИИ

Ахмедова З.Ю., Нуржанов А.А., Хашимова М.Х.

Институт зоологии Академии наук Республики Узбекистан, Ташкент (Узбекистан)

E-mail: nurjanov@rambler.ru

Микроспоридиями поражаются более 300 видов насекомых. Среди них есть опасные вредители - саранчовые, совки, плодоярки, белянки, шелкопряды и др. Получены первичные экспериментальные данные о патогенности выявленных микроспоридии в отношении вредителей хлопчатника. Для наработки достаточного количества биоматериала необходимо выбирать подходящего лабораторного хозяина микроорганизма. При заражении гусениц хлопковой, озимой совок, мельничной огневки, вошинной моли спорами микроспоридий выделенной из хлопковой совки с целью выбора хозяина установлена, что только гусеницы природного хозяина данного вида могут быть и лабораторным хозяином пригодным для наработки биомассы – спор микроспоридий. Для получения гусениц хлопковой совки в массовом количестве необходимо разработать методы содержания их в лабораторных условиях. Результаты экспериментов по заражению гусениц разных возрастов хлопковой совки спорами микроспоридий, для получения биомассы показали, что микроспоридий могут спровоцировать латентных вирусов у гусениц и таким образом вызывает массовую гибель лабораторного биоматериала. Так, при заражении средних возрастов гусениц спорами микроспоридий наблюдалась гибель гусениц совки через 12-15 дней. Смертность насекомых от вируса хлопковой совки доходило до 65-75%. В некоторых случаях также отмечены до 30% гибель гусениц от вирусов и в контрольном варианте. Причинами массовой гибели лабораторной популяции хлопковой совки могут быть условия содержания их, дозы спор микроспоридий для заражений. Проведены несколько лабораторных опытов по выявлению причины гибели популяции хлопковой совки. Установлено что существование латентной, т.е. скрытой вирусной инфекции в лабораторной популяции хлопковой совки является основной причиной массовой гибели гусениц. Таким образом, для наработки биомассы – спор микроспоридий, необходимо получить лабораторную без вирусную популяцию хлопковой совки.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВИРУСНОГО ПРЕПАРАТА ПРОТИВ *HELICOVERPA ARMIGERA* Hbn.

Ахмедова З.Ю., Хашимова М.Х., Хамраев А.Ш., Нуржанов А.А., Колосов А.В.

Институт зоологии Академии наук Республики Узбекистан, Ташкент (Узбекистан)

E-mail: nurjanov@rambler.ru

В Узбекистане основной сельскохозяйственной культурой является хлопчатник и для получения максимального урожая большое значение, имеет защита его от вредителей.

Хлопковая совка, в больших количествах развивающаяся на хлопковых полях в период вегетации растений, наносит серьезный ущерб урожаю хлопчатника, снижает технологические параметры хлопкового волокна и ухудшает качество семенного материала. В борьбе с этим вредителем повсеместно продолжают применяться интенсивные обработки посевов хлопчатника различными инсектицидами, которые токсичны для человека, животных и полезных насекомых.

Бакуловирусы насекомых безвредны для человека и животных, специфичны и не поражают паразитов и хищников вредных насекомых. Важным свойством вирусов, как агентов биологической борьбы, является их способность вызывать эпизоотии среди вредных насекомых, приводящих к снижению их численности. После окончания эпизоотии вирус

остается естественным членом биоценоза, находясь в латентном или хроническом состоянии, и при стечении благоприятных условий в природе активизируется и снова приводит к эпизоотиям.

Нами изучено биологическая эффективность препарата ВИРИН ХСК производства ЗАО «Алтайвитамины», созданного на основе вируса ядерного полиэдроза хлопковой совки. Препарат испытывали в трех концентрациях: 0,004; 0,016 и 0,04%.

При использовании 0,004% концентрации среднее значение биологической эффективности по дням учета составило 42.0, 67.0, 70.3 и 73.6%.

При увеличении концентрации до 0,016% исследуемый показатель по дням учета составил соответственно 52.6, 68.8, 78.0 и 80.0%.

При повышении концентрации препарата 0,04% исследуемый показатель по дням учета составил соответственно 60.6; 80.0; 90.2 и 93.3%.

Биологическая эффективность эталона по дням учета составила соответственно 69.3; 87.0; 86.5 и 85.2%.

Таким образом, биологическая эффективность препарата ВИРИН ХСК - при концентрациях препарата 0,004; 0,016 и 0,04% к четырнадцатому дню после обработки достигает 73.6; 80.0 и 93.3%.

ОСОБЕННОСТИ ПЕРЕДАЧИ ИНФЕКЦИИ ВЫЗЫВАЕМОЙ ГРИБОМ *BEAUVERIA TENELLA* У ТЕРМИТА (*ANACANTHOTERMES JACOBS*)

Ганиева З.А., Нуржанов А.А., Хашимова М.Х.

Институт зоологии Академии наук Республики Узбекистан, Ташкент (Узбекистан)

E-mail: nurjanov@rambler.ru

Термиты – как все общественные насекомые, поддерживают гнездо в стерильном состоянии для защиты от микроорганизмов вызывающих у них эпизоотии. Только искусственное заражение термитов, путем внесения в их гнездо патогенных микроорганизмов, могут быть причиной их массовой гибели. Однако, пути передачи инфекций и её распространение в колонии термитов не изучены. Одой из биологических особенностей в питании и кормлении термитов является существование у них трофолаксиса – передача корма другим особям и кормление рабочими других каст. При трофолаксисе рабочие особи с кормом могут передавать и инфекционный материал – споры грибов. Перед нами стояли задачи определить условия и пути передачи инфекции у термитов разных каст. Лабораторные опыты по определению значение разных каст термита в передачи инфекции проведено путем заражения рабочих особей спорами гриба, и дальнейшем выпуском их к здоровым особям. Патогенез и симптоматики микоза у термитов, вызванной *Beauveria tenella* (штамм BD-85) изучали путем микроскопирования зараженных насекомых. Результаты опытов показали, что при температуре воздуха 20-240°С в течение 7- 10 дней наблюдались полная гибель первоначально зараженных грибом насекомых, гибель остальных термитов продолжались в течение 58-60 дней в результате передачи инфекции. Кастовые различие и возрастные разнообразие при этом не имели существенного значение. Гриб *Beauveria tenella* (штамм BD-85) вызывает заболевание рабочих особей термита уже на 2-3 сутки. На третьи сутки в гемолимфе больных особей появляются бластоспоры и начинает вырастать мицелий гриба. Больные особи теряют координации движений и падают вверх ногами. Таким образом происходит гибель насекомых.

ХОЛОДОВАЯ АККЛИМАЦИЯ ЗЕЛЕНОЙ ОДНОКЛЕТОЧНОЙ ВОДОРОСЛИ *CHLAMYDOMONAS REINHARDTII*

Аникина А.В.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: aav87@mail.ru

Холодовой стресс отрицательно сказывается на росте и развитии растений, однако, большинство растений способны выдерживать воздействие пониженных температур благодаря явлению так называемой холодной акклимации.

Зеленая одноклеточная водоросль *Chlamydomonas reinhardtii* широко используется как модельный объект для анализа и исследования физиологических, биохимических и молекулярных аспектов жизнедеятельности фотосинтезирующих эукариотных организмов. Геном *C. reinhardtii* полностью секвенирован, широко изучена биология объекта. Тем не менее, многие аспекты действия пониженных температур на *Chlamydomonas* остаются не изученными.

Анализа сиквенса генома *C. reinhardtii* показал наличие последовательностей, кодирующих ферменты синтеза трегалозы и глицерина - протекторных молекул широко представленных в растительном и животном мире.

Нами был проведен ферментативный анализ накопления трегалозы в вегетативных клетках в результате воздействия пониженных температур, который показал увеличение внутриклеточной концентрации данного вещества в ходе акклимации. Причем увеличение уровня внутриклеточной трегалозы регистрируется уже после 4 часов воздействия пониженных температур, и к 72 часам возрастает более чем в 10 раз.

Ферментативный анализ накопления глицерина в вегетативных клетках, так же выявил увеличение внутриклеточной концентрации этого протектора в ходе холодной акклимации, к 72 часам происходит четырехкратное увеличение нормального уровня глицерина внутри клетки.

Кроме того, анализ генома *C. reinhardtii* позволил выявить наличие последовательности высоко гомологичной *csp*-генам бактерий. С использованием методов *real-time PCR* было показано четырехкратное увеличение уровня экспрессии *csp*-гомолога в условиях холодного шока уже после 4 часов действия стрессора. По-видимому, продукт указанного гена может выступать в качестве РНК-шаперона, как и гомологичные гены бактерий.

Таким образом, у *C. reinhardtii* в процессах холодной акклимации выявлено накопление как минимум двух молекул-протекторов, трегалозы и глицерина, причем накопление трегалозы для *C. reinhardtii* показано впервые.

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ЦИАНОБАКТЕРИЙ И АКТИНОМИЦЕТОВ В СОСТАВЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ АССОЦИАЦИЙ

Иванова Е.А.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва (Россия)

E-mail: katriell@mail.ru

Сообщества цианобактерий и актиномицетов широко распространены в природе – это цианобактериальные сообщества в пятнах «цветения» почвы, цианобактериальные маты гидротерм, лагун. Повсеместно распространены как симбиозы азотфиксирующих цианобактерий с эукариотными организмами (синцианозы), так и симбиозы актиномицетов с растениями, почвенными животными. Вследствие того, что изучение микроорганизмов в природных сообществах затруднено, возможным представляется исследование взаимодействия цианобактерий и актиномицетов в модельных ассоциациях.

В экспериментальных ассоциациях, сформированных из цианобактерии *Anabaena variabilis* ATCC 29413 Kutz. и стрептомицетов *Streptomyces pluricolorescens* шт. 1 и *Streptomyces cyaneofuscatus* шт.1. наблюдается 6-ти кратное увеличение биомассы цианобактерии по сравнению с монокультурой, обнаружены формы несбалансированного роста цианобактерии в виде гигантских, изогнутых и клеток, отсутствующие в монокультуре. Развитие цианобактерии в ассоциации стимулировало ее азотфиксирующую активность, которая в талломе оказалась в десятки раз выше азотфиксирующей активности монокультуры цианобактерии. Отмечено расширение антимикробного спектра и усиление антагонистической активности цианобактерии и актиномицета в талломе по сравнению с монокультурами. Методом ядерного магнитного резонанса показано, что в лиофильно высушенных образцах ассоциации присутствует фракция подвижных протонов (2,7% от веса образца), отсутствующая в монокультурах ее компонентов. С помощью метода электронного парамагнитного резонанса обнаружено изменение кинетики фотосинтеза – нарушение электронного транспорта от ФС II к ФС I в ассоциациях, о чем свидетельствует медленное по сравнению с монокультурой цианобактерии снижение ЭПР-сигнала исследуемого образца. Под влиянием экспериментальных ассоциаций и монокультур цианобактерии и актиномицетов зафиксировано изменение кристаллохимического состояния

слоистых силикатов (каолинита, монтмориллонита, вермикулита, биотита и мусковита), причем характер трансформационного преобразования обусловлен как типом биоты (компонентным составом ассоциации), так и кристаллохимией минерала. Наибольшие изменения установлены в зоне контакта минералов с ассоциативными сообществами микроорганизмов.

ПЕРВЫЙ ЛИТОТРОФНЫЙ СЕРООКИСЛЯЮЩИЙ ПРЕДСТАВИТЕЛЬ РОДА *AZOSPIRILLUM* - *A. THIOPHILUM*

Фролов Е.Н., Лавриненко К.В., Данг Тху Тхюи

Воронежский государственный университет, Воронеж (Россия)

E-mail: evgenii_frolov_89@mail.ru

Бактерии рода *Azospirillum* распространены по всему миру и встречаются в почве, в ассоциации с корнями растений. И хотя представители рода в большинстве случаев локализованы в ризосфере, был обнаружен штамм *BV-S^T*, в дальнейшем отнесенный к новому виду *A. thiophilum*, обитающий в сероводородных источниках. Целью данной работы было исследование способности к литотрофному росту у представителя рода *Azospirillum* - *Azospirillum thiophilum BV-S^T* и изучение механизмов окисления восстановленных соединений серы.

Объектами исследования служил штамм *Azospirillum thiophilum BV-S^T* выделенный из серного мата умеренно-термального сульфидного источника, расположенного в северных отрогах Главного Кавказского хребта.

В результате проделанной работы была показана способность представителя рода *Azospirillum-A.thiophilum BV-S^T* к окислению тиосульфата до тетраионата и сульфата. Установлена способность *Azospirillum thiophilum BV-S^T* к литотрофному росту в микроаэробных условиях, о чём свидетельствует обнаружение активности тиосульфатдегидрогеназы и функциональных генов серного метаболизма, таких как *soxB*, *sqr*, кодирующие тиосульфатрасщепляющий комплекс и сульфид-хинонредуктазу, соответственно. Было показано сопряжение окисления тиосульфата с функционированием ЭТЦ. Электроны поступают в ЭТЦ на уровне убихинон – цит *b* – цит *c* участок. Установлено, что индукция литотрофного роста обусловлена созданием микроаэробных условий культивирования, о чем свидетельствует увеличение скорости окисления восстановленных соединений серы и усиление экспрессии генов *soxB* более чем в шесть раз. Нуклеотидная последовательность гена *soxB* и *sqr* имеет высокий уровень гомологии с такими же генами, найденными у других микроорганизмов. На молекулярном уровне показано отсутствие других ферментов серного метаболизма диссимиляционного типа – сульфитоксидоредуктазы, АФС – редуктазы.

Таким образом впервые был описан литотрофный представитель рода *Azospirillum* – *Azospirillum thiophilum BV-S^T*, который в отличии от других представителей данного рода способен окислять восстановленные соединения серы.

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ КОЭВОЛЮЦИИ ФАГА 8573М И ЕГО ХОЗЯИНА *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* В МОДЕЛЬНОЙ СИСТЕМЕ

Бурхан А.Н., Семчук Л.И., Ромашев С.А.

Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко, Киев (Украина)

E-mail: frisee@i.ua

Фитопатогенные бактерии распространены в природе повсеместно. Их численность в значительной мере, регулируется фагами. При инфицировании вирулентными фагами бактерий возникают селекционные условия, в которых, после лизиса популяции выживают не чувствительные к фагу клоны хозяина. Параллельно, в популяции фагов возникают спонтанные мутанты по кругу хозяев, способные преодолеть барьер, образованный нечувствительной бактерией. Изучение совместной коэволюции антагонистов представляет значительный научный интерес.

В работе использован фаг 8573m, выделенный нами из растительных образцов, и фитопатогенный штамм бактерии *Pseudomonas fluorescens* IMV 8573, полученный из коллекции музея Института микробиологии и вирусологии НАН Украины.

Среди клонов, выросших после посева хозяина с фагом были отобраны десять клонов, получивших лабораторные названия: от 8573 Fmk 1 до 8573 Fmk 10. Методом электрофореза в ПААГ проведено сравнение их белкового состава. Было установлено, что по характеру распределения полипептидов все бактерии являются идентичными. Это свидетельствовало об отсутствии в их составе контаминантной микрофлоры и общем происхождении.

При инфицировании резистентных клонов, были выявлены важные особенности. На каждом из клонов фаги образовывали бляшки, отличающиеся по морфологии (мелкие прозрачные, средние прозрачные и мутные колонии) и титру. Фаги, выявленные на каждом из клонов, были изолированы и получены их чистые линии. Сравнение особенностей ДНК мутантных фагов в рестрикционном анализе с ферментами *Eco* 321, *Bgl* II позволил выявить в профилях разделения дополнительные фрагменты. Это свидетельствовало о том, что процесс коэволюции антагонистов в системе «фаг-бактерия» может иметь специфические особенности для каждого случая.

Полученные данные представляют интерес для понимания существующих в природе процессов, обеспечивающих ограничение численности патогенных бактерий в растительных биоценозах.

АНАЛИЗ СОСТАВА ГЕНОМА ШТАММОВ ЖИВОЙ ГРИППОЗНОЙ ВАКЦИНЫ ПЦР-МЕТОДОМ

Баженова Е.А., Дубровина И.А., Бердыгулова Ж.А., Киселева И.В.
НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: sonya.01.08@mail.ru

Грипп и ОРЗ занимают лидирующее место среди всех заболеваний. Ежегодно вирус гриппа вызывает эпидемии, а раз в 10–40 лет – пандемии. В связи с этим возникает необходимость вакцинации все слоев населения. Существуют 2 вида гриппозных вакцин: живые (ЖГВ) и инактивированные. Для подготовки реассортантных вакцинных штаммов, входящих в состав отечественной ЖГВ используют холодоадаптированные, температурочувствительные, аттенуированные для человека доноры аттенуации А/Ленинград/134/17/57 (22) и В/СССР/60/69. Вакцинные штаммы представляют собой 6:2 реассортанты, полученные в результате скрещивания донора аттенуации и «дикого» вируса и унаследовавшие от «дикого» родителя гемагглютинин и нейраминидазу, а 6 генов, кодирующих внутренние белки – от донора аттенуации. При реассортации двух вирусов гриппа теоретически может образоваться до 256 комбинаций с различным набором генов от каждого родителя. Изолировать единственную интересующую нас комбинацию 6:2 и таким образом быстро подготовить актуальный вакцинный штамм, очень важно иметь адекватный экспресс-метод оценки состава генома реассортантных вакцинных штаммов. Нами был разработан метод ПЦР-анализа, который в кратчайшие сроки позволяет определить происхождение всех восьми генов гриппа. Были сконструированы пары праймеров, специфически работающих только с одним из двух родительских вирусов, что позволяет быстро и бесперебойно оценивать состав генома и отбирать 6:2 реассортантные вакцинные штаммы для их включения в состав как сезонной, так и пандемической ЖГВ.

АДАПТИВНЫЕ СТРАТЕГИИ ФИТОПАТОГЕННОЙ БАКТЕРИИ *ERWINIA CAROTOVORA* В УСЛОВИЯХ ГОЛОДАНИЯ

**Шлыкова Л.В.¹, Хусаинов И.Ш.¹, Даминова А.Г.², Петрова О.Е.², Агеева М.В.²,
Горшков В.Ю.², Гоголева Н.Е.², Гоголев Ю.В.²**

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет им. Ульянова-Ленина;

²Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН,
Казань (Россия)

E-mail: *persent_89@mail.ru*

Хорошо известно, что адаптивный потенциал неспорообразующих микроорганизмов во многом связан с их способностью трансформироваться в покоящиеся морфотипы. Учитывая разнообразие стрессовых воздействий, которым подвержены микроорганизмы в естественных условиях, а также неодинаковое физиологическое состояние микроорганизмов в момент стрессового воздействия, логично предположить существование множества адаптивных программ в популяции бактерий. Это предположение мы решили проверить на примере фитопатогенной бактерии *Erwinia carotovora* SCRI1043. В план наших исследований входило оценить особенности адаптивных реакций бактерий в логарифмической и стационарной фазах роста.

Клетки *Erwinia* на разных фазах роста культуры переносили в минеральную среду без источника углерода и проводили статическую инкубацию в течение нескольких месяцев. Титр КОЕ в таких культурах снижался, однако титр геномных копий в большинстве случаев был значительно выше, что свидетельствует в пользу активного образования покоящихся клеток. Соотношение между показателями титра КОЕ и геномных копий было выше в культурах, инокулированных стационарными клетками. В противоположность этому индекс ингибирования амплификации, определенный с помощью ПЦР анализа, был выше в культурах клеток логарифмической фазы роста. С помощью метода электронной микроскопии были обнаружены ультраструктурные особенности клеток голодающих культур логарифмической и стационарной фаз роста.

Полученные нами данные, позволяют заключить, что выбор адаптивной программы в популяции микроорганизмов зависит от исходного физиологического состояния клеток, подвергаемых стрессовому воздействию, что дает возможность бактериям гибко реагировать на изменение внешних условий.

ВЫДЕЛЕНИЯ АКТИНОМИЦЕТОВ ИЗ ПОЧВ АЗЕРБАЙДЖАНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ УЛЬТРАЗВУКА

Мусаев Е.М., Наджафова С.Г., Гасанова С.А.

Бакинский государственный университет, Баку (Азербайджан)

E-mail: *sevda-gasanova66@mail.ru*

Одной из проблем для выделения и определения является невозможность культивирования некоторых микроорганизмов, используя традиционные методы. Поэтому для селективного выделения микроорганизмов, в том числе актиномицетов из естественных мест обитания используют разнообразные приемы, в том числе методы предварительной обработки образцов взятые для анализа.

В связи с этой целью настоящей работы явилось оценка возможности использования ультразвука для выделения актиномицетов из почвенных образцов на основе таксономической принадлежности выделенных культур.

Объектом исследования в настоящей работе послужили образцы почвы двух (Шамахинский и Ленкоранский) районов Азербайджанской Республики. Исследовались нефтезагрязненные, пустынные и горные почвенные образцы. Почвенные образцы перед посевом подвергались обработке ультразвуком длительностью 15, 30 и 60 минут.

Результаты сравнительного изучения таксономические принадлежности культур выделенных из обработанных и контрольных образцов почв, показали, что воздействие УЗ на таксономический состав актиномицетов носит относительно селективный характер и позволяет выявлять существенно большее количество актиномицетов, в том числе представителей редких родов. Так, число выделенных штаммов редко встречаемых родов на нефтезагрязненных почвах составляют 46%, а 30 минутная обработка почвенных образцов приводит увеличению таких актиномицетов на 1,07 раза. Такая тенденция прослеживается во всех образцах почв взятых для анализа.

Надо отметить, что в результате применения УЗ для изучения актиномицетного разнообразия почв Азербайджана выделены такие виды, как *Chainia fumigata*, *Streptomyces citreus*, *S.sulphureus*, *S.massosporeus* *S.oligocarophilus* и др. которые являются новыми для почв

Азербайджана, что также свидетельствует о целесообразности использования УЗ для выделения актиномицетов из почв.

Таким образом, проведенные исследования показали, что использование УЗ для обработки почвенных образцов до посева является целесообразным, так как позволяет выявлять более широкий спектр разнообразия актиномицетов как в численном, так и видовом составе по сравнению с данными полученных классическими методами выделения.

ОЦЕНКА БИОСТОЙКОСТИ СТАЛЕЙ К ВОЗДЕЙСТВИЮ СУЛЬФАТВОССТАНАВЛИВАЮЩИХ БАКТЕРИЙ КАЛЬЧИНСКОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ

Шаркова Т.В., Остапенко А.В.

ОАО «Гипротюменнефтегаз», ГОУ ВПО «Тюменский государственный университет»,
Тюмень (Россия)

E-mail: *Sharkovatyana@yandex.ru*

В настоящее время проблема коррозии нефтепромыслового оборудования является одним из важнейших вопросов топливно-энергетического комплекса. По оценкам специалистов нефтегазовой промышленности, биокоррозия является причиной от 20 до 80% аварийных случаев в нефтегазовом комплексе, которые приводят к экономическим потерям и ухудшению экологической обстановки. В связи с этим определен интерес, наряду с подбором эффективных бактерицидов для подавления активности сульфатвосстанавливающих бактерий (СВБ), представляет оценка биостойкости сталей, рекомендуемых при проектировании трубопроводов и емкостного оборудования на нефтяных месторождениях.

Цель данного исследования – оценка биостойкости некоторых марок сталей по отношению к СВБ, выделенным из системы поддержания пластового давления Кальчинского месторождения.

Наряду с определением биостойкости сталей способом, основанным на гравиметрии, было оценено влияние химического состава сталей на важнейшие метаболические показатели микроорганизмов – количество белка, дегидрогеназную активность на 7, 15, 21 и 30 сутки инкубации стальных образцов в культуре СВБ.

Показано, что наиболее стойкими к воздействию СВБ являются стали, легированные марганцем, а также хромом, молибденом и редкоземельными металлами (09ГСФ, 09Г2С и 08ХМФБЧА; скорость коррозии после 7 суток инкубации – 0,068; 0,078 и 0,077 мм/год, соответственно). Наименее стойкими к микробиологической коррозии оказались так называемые высококачественные стали – с ограниченным содержанием серы и фосфора, однако с наибольшим содержанием углерода из представленных (13ХФА, 20А, 20ФА; скорость коррозии после 7 суток инкубации – 0,1; 0,098 и 0,088 мм/год, соответственно). Данные, полученные в результате измерения скорости коррозии по потере массы стали, подтверждаются данными по содержанию белка и дегидрогеназной активности СВБ.

СЕКРЕТИРУЕМЫЕ РИБОНУКЛЕАЗЫ *BACILLUS LICHENIFORMIS*

Техтелева И.С., Ульянова В.В., Вершинина В.И.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, биолого-почвенный факультет,
Казань (Россия)

E-mail: *tehteleva_ira@mail.ru*

К настоящему времени у представителей рода *Bacillus* описаны два типа секретлируемых рибонуклеаз: высокомолекулярные и низкомолекулярные гуанилспецифичные, которые гидролизуют РНК до олигонуклеозид-3'- и 5'-фосфатов, соответственно. Считается, что оба типа РНКаз выполняют «пищеварительную» функцию. Есть данные об участии внеклеточных РНКаз и в других стресс-ассоциированных процессах. Гуанилспецифичные РНКазы благодаря своим свойствам имеют большой потенциал применения в биотехнологии и медицине. *Bacillus licheniformis* является промышленным продуцентом многих внеклеточных ферментов, однако

внеклеточные рибонуклеазы у этого вида не изучены. Цель данной работы заключалась в идентификации секретируемых рибонуклеаз у *B. licheniformis* и исследовании их биосинтеза.

С использованием алгоритма Blast в геноме *B. licheniformis* были обнаружены последовательности, подобные генам высокомолекулярной РНКазы Vsn и низкомолекулярной барназы. Их генетические контексты сильно отличаются от таковых у близкородственных видов бацилл, при чем ген низкомолекулярной РНКазы *B. licheniformis* образует оперон с геном внутриклеточного ингибитора YrdF, который у других бацилл, предположительно, ингибирует высокомолекулярную РНКазу. Ген барстара - ингибитора низкомолекулярных РНКаз - обнаружен не был. РНКазы, кодируемые обнаруженными генами, идентичны известным рибонуклеазам на 85%-90%.

Был исследован биосинтез внеклеточных РНКаз у двух диких штаммов *B. licheniformis* 14580 и 9945А. Бактерии выращивали на двух средах: полноценной и обедненной по фосфору синтетической. Оба штамма одинаково эффективно синтезировали рибонуклеазу на бедной среде, в то время как на богатой среде специфическая рибонуклеазная активность у *B. licheniformis* 9945А была в 3 раза выше. Уровень активности РНКаз штаммов 14580 и 9945А в условиях недостатка фосфора был повышен в 2 и 5 раз соответственно.

Таким образом, можно заключить, что *B. licheniformis* образует две внеклеточные рибонуклеазы, биосинтез которых активируется в условиях фосфатного голодания.

КОЛЛЕКЦИЯ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ КАК ИСТОЧНИК ИНФОРМАЦИИ ПО ПОЛУЧЕНИЮ И СОХРАНЕНИЮ ВИДОВОГО И ШТАММОВОГО РАЗНООБРАЗИЯ

Митрошина Ю. С.

ГОУ ВПО «Тюменский государственный университет», Тюмень (Россия)

E-mail: Aska-x@yandex.ru

Микологические коллекции находятся сейчас в эпицентре научных исследований, предоставляя не только чистые культуры для проведения работ, но и значительные объемы информации. Штаммы грибов могут служить источником продуцентов биологически активных веществ, генофондом редких и исчезающих видов и базой для создания инфекционного фона, который используется как метод диагностики заболеваний растения, а также для выявления устойчивых к болезням форм.

Коллекция фитопатогенных грибов кафедры ботаники и биотехнологии растений биологического факультета Тюменского государственного университета насчитывает порядка 150 штаммов, относящихся к родам *Alternaria* Nees, *Botrytis* Mich, *Helminthosporium* Lk et Fr, *Fusarium* Lk, *Monilia* Pers, *Phytophthora* dBy, *Sclerotinia* Fuck, *Trichothecium* Lk. и отражающих генетическое разнообразие популяций эколого-географических регионов Тюменской области.

На основании детального изучения культуральных, морфологических, фитопатогенных свойств штаммов фитопатогенных грибов создана электронная версия каталога коллекции чистых культур. Данная коллекция является единственной в Тюменском регионе и постоянно пополняется новыми штаммами фитопатогенов, выделяемых из различных органов пораженных растений.

Нами проводятся работы по поддержанию активности культур с использованием различных методов долгосрочного хранения, в том числе низкотемпературная консервация. Периодически проводится определение жизнеспособности культур и выживаемости исследуемых штаммов фитопатогенных грибов.

СОСТАВ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ В РАЗНЫХ ЭКОЛОГО- ТЕХНОГЕННЫХ ЗОНАХ

Абдулина Д.Р., Асауленко Л.Г., Пуриш Л.М.

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного, Киев (Украина)

E-mail: adara@ukr.net

В разных эколого-техногенных зонах состав микробных сообществ относительно стабилен и способен к саморегуляции. Техногенная нагрузка на экосистему вызывает изменения биоразнообразия микробных сообществ. Изучение состава микробных сообществ позволяет оценить и прогнозировать изменения состояния окружающей среды под влиянием техногенеза.

Целью нашей работы было выделение и изучение состава микробных сообществ в разных эколого-техногенных зонах.

Образцы почв, биообрастаний, воды и ила отбирали в эконишах с разной техногенной нагрузкой: техногенные промышленные, природные специфические и чистые природные. Выделение сульфатредуцирующих, железовосстанавливающих, денитрифицирующих, тионовых и аммонифицирующих бактерий проводили, высевая их на соответствующие селективные среды.

Установлено, что в разных зонах отбора микробные сообщества отличались по количественному составу коррозионно-агрессивных бактерий. В техногенных промышленных эконишах было наибольшее количество сульфатредуцирующих (10^4 - 10^8 кл/мл) и железовосстанавливающих (10^6 - 10^8 кл/мл) бактерий. В природных специфических нишах количество коррозионно-агрессивных бактерий на 2-3 порядка меньше, а численность денитрифицирующих и тионовых бактерий была на 1-3 порядка выше, чем в техногенных. Наименьшую численность бактерий мы обнаружили в микробных сообществах, выделенных из чистых природных зон. Количество сульфатредуцирующих бактерий было 10^3 кл/мл, железовосстанавливающих - 10^3 - 10^5 кл/мл, денитрифицирующих – 10^2 - 10^3 кл/мл. Тионовые бактерии были представлены единичными клетками.

Следовательно, при техногенной нагрузке в микробном сообществе происходит изменение соотношения физиологических групп бактерий. В техногенных зонах доминировали коррозионно-агрессивные сульфатредуцирующие и железовосстанавливающие бактерии. В природных зонах увеличилось количество тионовых и денитрифицирующих бактерий. Численность аммонифицирующих бактерий не зависела от зоны отбора.

Исследование микробного биоразнообразия является важной составной частью мониторинга и может быть одним из критериев оценки коррозионной агрессивности грунтов в условиях техногенной нагрузки.

ПЕРВЫЙ ПРЕДСТАВИТЕЛЬ РОДА *THIOTHRIX*, СПОСОБНЫЙ К ДИССИМИЛЯЦИОННОЙ НИТРАТРЕДУКЦИИ

Андреевских Ж.Г., Трубицын И.В., Тутукина М.А., Баркалова Е.В.

Воронежский государственный университет, Воронеж (Россия)

E-mail: tru.ivan@mail.ru

Новый изолят *Thiothrix sp.* штамм AS выделен из пресноводного ручья литорали Белого моря. Местообитание, откуда выделен штамм AS, характеризуется регулярным суточным ритмом смены аэробно-анаэробного режима в приливно-отливной зоне литорали. Впервые у представителя рода *Thiothrix* - штамм AS обнаружена способность к диссимиляционной нитратредукции. В процессе анаэробного дыхания в присутствии нитратов в качестве терминального акцептора электронов последний восстанавливается через нитриты до аммония. Определена ферментативная активность нитратредуктазы, которая составила 5,01 мкмоль(мин·мг белка).

Для данного штамма нами было выявлено наличие двух генов диссимиляционной нитратредукции: *nirS*, кодирующего периплазматическую нитритредуктазу, и *narG*, кодирующего альфа-субъединицу периплазматической нитратредуктазы. Оба гена были секвенированы.

У нового изолята при анаэробном культивировании была показана экспрессия генов *nirS* и *narG*. При росте в аэробных условиях экспрессии генов *narG* и *nirS* не выявлено.

Таким образом на молекулярно-генетическом уровне была доказана способность *Thiothrix sp.* штамм AS к анаэробному дыханию в присутствии нитратов в качестве терминального акцептора электронов. Выявленная способность нового изолята *Thiothrix sp.* штамм AS к смене типа дыхательного метаболизма (переход от аэробного дыхания к анаэробному), по-видимому,

отражает адаптационные механизмы существования бактерии в условиях переменного кислородного режима приливно-отливной зоны литорали Белого моря.

ВЛИЯНИЕ ОДНОУГЛЕРОДНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ НА РОСТ *HALOTHIOBACILLUS HALOPHILUS*

Быков А.Г.

Пушкинский государственный университет; Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино (Россия)

E-mail: agbykov@rambler.ru

Промышленное выщелачивание металлов из минерального сырья ориентировано на дополнительное внесение серной кислоты, что увеличивает себестоимость из-за стоимости самого реагента и необходимой последующей ремедиации закисленной территории. Существует бактериальное промышленное выщелачивание или биовыщелачивание металлов. Его проводят также с добавлением серной кислоты для стимуляции суперацидофилов или в ряде случаев с добавлением других стимулирующих бактерий субстратов.

Нами исследовано влияние добавок формиата и метанола на рост культуры *Halothiobacillus halophilus* 6132 – умеренного ацидофила, способного к выщелачиванию никеля из бедной руды с его содержанием менее 1%.

Выявлено, что концентрации в 0,3% могли увеличивать оптическую плотность суспензии клеток и прирост биомассу по белку. Концентрации в 0,6% уже оказывали подавляющее воздействие по сравнению с контрольным вариантом.

Обнаруженное увеличение прироста биомассы еще не означает стимуляции выщелачивания при внесении добавок в раствор с рудой. Вместе с этим обнаруженная стимуляция позволяет проводить подбор условий, при которых увеличение прироста позволит увеличить выход металла в раствор.

РОЛЬ МИКРООРГАНИЗМОВ БИОХИМИЧЕСКИХ ЦИКЛОВ ЖЕЛЕЗА И МАРГАНЦА В ОЧИСТКЕ ПИТЬЕВОЙ ВОДЫ

Букреева В.Ю.

ГОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Воронеж (Россия)

E-mail: bukreeva-31@yandex.ru

Формирование качества воды в системе водоснабжения определяется активностью микроорганизмов в поверхностных и подземных водах водозаборных зон и осуществляется путем перевода растворенных восстановленных форм железа и марганца в нерастворимые формы.

Для проведения лабораторных исследований по выявлению роли железобактерий в процессах трансформации растворимых форм тяжелых металлов была создана модельная установка песчаных фильтров очистных сооружений водоподъемных станций (ВПС) г. Воронежа. Использовали песчаную загрузку, применяемую при промышленной очистке питьевой воды. Проведены исследования микробиологического состава песчаной загрузки с помощью стёкол обрастаний погруженных на разные глубины биореактора. В результате анализа полученных данных обнаружили несколько морфотипов железобактерий родов *Leptothrix*, «*Siderocapsa*», реже - *Gallionella*. Выявлено, что интенсивное осаждение железа идет в верхнем слое песчаной загрузки.

В лаборатории электрофизических методов измерений с использованием сканирующего электронного микроскопа с инертно-дисперсионной приставкой для элементного анализа (JEOL JSM-6380LV Scanning Electron Microscope; INCA Energy-250) проводили исследования поверхности стёкол обрастаний с определением элементного состава. Данные о наличии элементов Fe и Mn на исследуемых стеклах обрастаний и фотографии поверхности стекол позволили сделать выводы, об активном участии железо- и марганецокисляющих микроорганизмов в работе песчаного фильтра модельной установки.

Учитывая микробиологический компонент фильтрующей установки можно добиться большей эффективности процесса фильтрации и улучшения качества питьевой воды.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ БАКТЕРИЙ РОДА *PSEUDOMONAS* В БИОТОПАХ КЫРГЫЗСТАНА

Конурбаева М.У.

Кыргызско-Турецкий университет «Манас», Бишкек (Кыргызстан)

E-mail: *mahabatka@mail.ru*

Преобладание бактерий среди других микроорганизмов можно объяснить их высокой биологической активностью. Обладая, мощным ферментативным аппаратом, они способны вытеснять другие виды микробов. Однако количественное содержание бактерий подвержено значительным колебаниям, что связано с условиями их обитания.

Аэробные бактерии рода *Pseudomonas* – гетерогенная группа микроорганизмов, широко населяющих биосферу и принимающих активное участие в процессах минерализации органических соединений, очистке окружающей среды от загрязнений, а также как продуценты биологических препаратов.

До настоящего времени в литературе очень мало сведений о биологии распространения и значения бактерий рода *Pseudomonas* в экосистеме Кыргызстана. Немногочисленные данные по микробной флоре имели отрывочный характер, что является недостаточным материалом для изучения их экологии.

Целью настоящей работы было изучение распространения бактерий рода *Pseudomonas* в различных экосистемах Кыргызстана. Так, нами были исследованы: почвенные образцы, отобранные из различных типов почв Кыргызстана; водная микрофлора реки Аламедин и Ала-Арча, в черте города; ризосфера сельскохозяйственных растений.

Источником распространения бактерий рода *Pseudomonas* могут служить разные объекты. Так, по нашим исследованиям псевдомонады присутствуют в большом количестве в ризосфере растений, но только в молодом растении, в особенности во всходах, они составляют до 60%, от общего числа микроорганизмов. Бактерии рода *Pseudomonas* обладают способностью активно колонизировать корни растений и стимулируют рост и развитие растений.

В почвенных образцах, присутствие псевдомонад зависит от типа почв, самое большое количество их, встречается в черноземных типах почв. В почвенных образцах, отобранных под еловым пологом Семеновского ущелья, они составили до 40%, в остальных же типах почв, в процентном соотношении, составляют незначительную часть (от 2-7%).

В водной микрофлоре, в реках Аламедин и Ала-Арча бактерии рода *Pseudomonas*, обнаруживаются довольно быстро, надо отметить, и то что, пигмент образование проявляется ярче, чем в почвенных образцах.

Так, по данным наших исследований, бактерии из рода *Pseudomonas* встречаются повсеместно, но в нашем засушливом регионе, их больше накапливаются в водной среде, в почвах богатых органическими веществами, непосредственно в корневой системе (во всходах), ранней весной.

ЭКОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ МЕСТ ЗАЛЕГАНИЯ УГЛЕВОДОРОДОВ В ОЗЕРЕ БАЙКАЛ

Кадников В.В., Марданов А.В.

Учреждение Российской академии наук Центр «Биоинженерия» РАН, Москва (Россия)

E-mail: *vkadnikov@bk.ru*

В последние годы на дне озера Байкал были найдены участки выходов углеводородов в виде гидратов метана, ранее описанных только в морских осадках, и битумных построек, образующихся при просачивании нефти. Известно, что микроорганизмы играют ключевую роль в образовании и разложении газовых гидратов, а также в деградации углеводородов. Целью данной работы является молекулярный анализ состава микробных сообществ мест выхода углеводородов. Для идентификации микроорганизмов был использован метод

параллельного пиросеквенирования фрагментов генов 16S рРНК, позволяющий проводить одновременный анализ десятков-сотен тысяч независимых последовательностей и получать количественные данные о составе сообщества.

Образцы метагеномной ДНК из гидрат-содержащих донных осадков и битумных построек были выделены в ЛИН СО РАН (г. Иркутск) и предоставлены нам для анализа. Было определено более 100 тысяч независимых последовательностей района варибельного района V3 гена 16S рРНК, представляющие несколько тысяч различных филотипов бактерий и архей.

В осадках, прилегающих к газовым гидратам, были обнаружены метаногенные археи и различные группы анаэробных гетеротрофных бактерий, образующих субстраты для метаногенов. Таким образом, полученные данные согласуются с предположением о микробиологическом происхождении гидратов. В районах выходов нефти были обнаружены альфа-, бета- и гаммапротеобактерии, представители которых играют важную роль в биодegradации нефти, а также метаногенные археи. Детальный анализ состава микробных сообществ будет представлен в докладе.

БИОРАЗНООБРАЗИЕ ПЛЕСНЕВЫХ ГРИБОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ В АКУШЕРСКИХ СТАЦИОНАРАХ

Кирьянова И.Н., Брессен А.П., Александрова Г.А., Крылова И.О., Четина О.А.
ГОУ ВПО «Пермский государственный университет», Естественнонаучный институт,
Пермь (Россия)

E-mail: *bactericid@ya.ru*

В течение последних лет в лицензированной научно-исследовательской лаборатории «Бактерицид» ЕНИ ПГУ проведены исследования воздушной среды помещений акушерских стационаров г. Перми различных категорий чистоты. В ходе исследования выявлен широкий диапазон представителей плесневой микрофлоры. Всего было выделено больничных изолятов из акушерского стационара №1 – 20 родов, 33 вида, из акушерского стационара №2 – 22 рода, 42 вида. По частоте и количеству встречаемости доминировали 3 основных рода грибов: *Aspergillus* (5,3-22,6%), *Penicillium* (8,0-39,4%) и *Cladosporium* (14,8-76,8%). Биоразнообразие грибов рода *Aspergillus*, выделенных из акушерского стационара №1, представлено следующими видами: *A. candidus*, *A. flavus*, *A. glaucus*, *A. ochraceus*, *A. restrictus*, *A. terreus*, *A. wentii*, *A. spp.*, которые составляют от 19,9% до 23,5% в помещениях разных классов чистоты; рода *Penicillium* (*P. brevicompactum*, *P. glabrum*, *P. funiculosum*, *P. griseofulvum*, *P. variabile*, *P. spp.*) от 32,8% до 41,6%; рода *Cladosporium* во всех помещениях 14,8%. Контаминация воздуха помещений акушерского стационара №2 спорами плесневых грибов рода *Aspergillus* (*A. candidus*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. glaucus*, *A. ochraceus*, *A. roseovelutinus*, *A. terreus*) составило от 4,0% до 6,3%; рода *Penicillium* (*P. aurantiogriseum*, *P. brevicompactum*, *P. citrinum*, *P. fellutanum*, *P. funiculosum*, *P. glabrum*, *P. pulvillorum*, *P. purpurogenum (rubrum)*, *P. steckii*, *P. solitum*, *P. tardum*, *P. spp.*) – от 6,9% до 9,0%; рода *Cladosporium* – от 74,6% до 79,3%. У выделенных плесневых микромицетов проводили оценку степени патогенности и способность к токсинообразованию модифицированным методом Фогеля с помощью системы BioDocAnalyze (BiometraAG, Германия). Для исследования отобраны только представители рода *Aspergillus*, которые представляли наибольшую эпидемическую значимость. Исследования показали, что к токсинообразованию способны следующие виды: *A. terreus*, *A. restrictus*, *A. glaucus*, *A. ochraceus*. Таким образом, выявлена существенная заселенность плесневыми грибами акушерских стационаров с признаками внутрибольничного характера.

ИЗУЧЕНИЕ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ, ПРЕОБРАЗУЮЩИХ ПОЛИВАЛЕНТНЫЕ МЕТАЛЛЫ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ

Шелепаев О.А.¹, Ковалевская Н.П.²

¹Пермский государственный университет; ²Учреждение Российской академии наук институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь (Россия)

E-mail: *shelapaev-oleg@yandex.ru*

Спустя десятилетие после закрытия шахт Кизеловского угольного бассейна, в зоне загрязнения продолжает увеличиваться уровень накопления тяжелых металлов в донных отложениях рек. В паводковый период содержание ионов Mn^{2+} и Fe^{2+} в воде рек С. Вильва и Кизел превышает в сотни раз предельно допустимые концентрации (ПДК). Целью настоящего исследования явилось изучение влияния повышенных концентраций ионов Mn^{2+} и Fe^{2+} на биоразнообразие микробных сообществ донных отложений рек Кизеловского угольного бассейна. При оценке сорбционных свойств микробных сообществ рек было отмечено, что полное поглощение повышенных концентраций металлов (до 10 ПДК) происходит в аэробных и анаэробных условиях в течение 5 суток. Установлено, что при инкубации накопительных культур азотфиксирующих микроорганизмов в присутствии металлов происходило защелачивание среды за счет повышения концентрации аммонийного азота. Показано, что при pH выше 6.0 уже на первые сутки накопительные культуры сорбировали от 40 до 60% ионов Fe^{2+} . Во время сорбции ионов Mn^{2+} и Fe^{2+} было отмечено, что уровень содержания растворенного кислорода в среде сильно снижался. Увеличение концентрации кислорода при культивировании накопительных культур происходило после полной биосорбции металлов. При анализе численности и биоразнообразия микроорганизмов из накопительных культур через 7 дней инкубации илов методом ПЦР было установлено, что в микробном сообществе доминируют фототрофные пурпурные несерные бактерии.

БАКТЕРИИ *PAENIBACILLUS EHIMENSIS* – НОВЫЕ ЦИКЛОДЕКСТРИНОГЕННЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ

Федорова П.Ю., Усанов Н.Г., Гильванова Е.А.

Учреждение Российской академии наук Институт биологии
Уфимского научного центра РАН, Уфа (Россия)

E-mail: *millinariya@yandex.ru*

Циклодекстрины (ЦД) относятся к макроциклическим соединениям углеводной природы, в основе технологии которых лежит энзиматическая трансформация крахмала микробным ферментом циклодекстринглюканотрансферазой (ЦГТазой, К.Ф.2.4.1.19). Источниками ферментов являются исключительно прокариоты, при этом обнаружение новых генетических разновидностей ферментов является важной и актуальной задачей, так как открывает возможности получения различных гомологов ЦД и повышения эффективности существующих технологий.

Впервые нами обнаружена способность продукции ЦД бактериями *Paenibacillus ehimensis* (Kuroshima et al. 1996) Lee et al. 2004 в группе из трех культур, включая типовую DSM 11029^T, депонированную в немецкой коллекции микроорганизмов, а также двух собственных изолятов: ИВ-739 и ИВ-G2P.

Для получения активной культуральной жидкости бактерии культивировали при 37°C в 250 мл качалочных колбах в течение 68÷72 ч на питательной среде, содержащей крахмал, пептон, дрожжевой экстракт, буферные компоненты (pH=7,2). Биомассу отделяли центрифугированием, фильтрат КЖ концентрировали методом ультрафильтрации на полых волокнах ВПУ–50. ЦГТазную активность определяли модифицированным фенолфталеиновым методом. Количественное определение ЦД выполняли методом ВЭЖХ.

Все три культуры *P. ehimensis*, использованные в экспериментах продемонстрировали хорошо детектируемый уровень внеклеточной ЦГТазной активности (2÷3 ед/мл) в КЖ. Было показано, что оптимальный температурный режим циклизации наблюдается при pH=6,0 и 50°C, при этом добавление катионов двухвалентного кальция (5÷15 мМ) стабилизирует фермент. Характерной особенностью ЦГТаз изученной выборки штаммов *P. ehimensis* являлся необычный характер специфичности, не наблюдаемый с циклизующими ферментами бактерий других видов. Во всех случаях результатом увеличения удельной дозировки фермента по отношению к субстрату, являлось смещение равновесие реакции в сторону образования гамма-ЦД, что предпочтительно для технологии производства данного гомолога ЦД.

ВЛИЯНИЕ БИОФУНГИЦИДОВ НА МИКОТРОФНОСТЬ РАСТЕНИЙ**Курамшина З.М.¹, Андреева И.Г.¹, Хайруллин Р.М.²**¹Стерлитамакская государственная педагогическая академия им. Зайнаб Бишевой,
Стерлитамак (Россия)²Институт биологии и генетики Уфимского научного центра
Российской академии наук, Уфа (Россия)

E-mail: kuramshina_zilya@mail.ru

Наличие везикулярно-арбускулярной микоризы (ВАМ) установлено для многих растений. ВАМ положительно влияет на рост и развитие растений, увеличивает обеспечение их фосфором и другими элементами минерального питания. Изучение микоризообразования у культурных растений представляет большой интерес и имеет важное прикладное значение. В настоящее время все более актуальным становится разработка систем интегрированной биологической защиты и стимуляции роста растений, не нарушающих экологического равновесия в почве и не загрязняющих окружающую среду. Эффективные компоненты этих систем – микробиологические препараты на основе живых клеток бактерий, грибов, актиномицетов и бактериофагов. Несмотря на большой накопленный материал по изучению микоризных грибов, взаимоотношения микоризы и растений до конца не исследованы. Не изучено влияние биопрепаратов, в частности биофунгицидов, на микоризные грибы.

Проведена сравнительная оценка влияния биофунгицидов (фитоспорин, аллирин) на образование ВАМ у растений пшеницы, ячменя, гороха и подсолнечника. Растения опрыскивали биофунгицидами два раза: в период кушения (ветвления у гороха) и фазу цветения. Окрашивание корней и оценку колонизации ВАМ проводили по методу Trouvelot et al. (1986). При микроскопическом анализе установлена высокая частота встречаемости микоризы в корневой системе контрольных растений (89-100%). Обработка растений фитоспорином или аллирином снижала показатели микотрофности корней у растений пшеницы на 6,1% и 3,7%, ячменя – на 25% и 23%, гороха – на 27% и 19%, подсолнечника – на 25% и 18%, соответственно. Интенсивность колонизации микоризы в корневой системе растений падала до предельно низких величин 1-3%. Биомасса вегетативной части (сырой вес) и масса корней растений (за исключением гороха) увеличивались.

ВЛИЯНИЕ *BACILLUS SUBTILIS* НА ЧИСЛЕННОСТЬ ПОЧВЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ**Курамшина З.М.¹, Гареева Л.Ф.¹, Михайлова Л.Ю.¹, Сальтяшева А.Х.¹,
Хайруллин Р.М.²**¹Стерлитамакская государственная педагогическая академия им. Зайнаб Бишевой,
Стерлитамак (Россия)²Институт биологии и генетики Уфимского научного центра
Российской академии наук, Уфа (Россия)

E-mail: kuramshina_zilya@mail.ru

Эндوفитные бактерии *Bacillus subtilis* являются основой биопрепаратов, используемых в сельском хозяйстве в качестве эффективных средств и способов снижения развития болезней растений. В литературе имеются данные о способности продуцировать этими бактериями антибиотики, гидролитические ферменты, ауксины, цитокинины, гиббереллины и другие БАВ. *B. subtilis* улучшают минеральное питание растений, влияют на фитогормональный статус растений, стимулируют их рост, обеспечивают устойчивость к высоким концентрациям тяжелых металлов и другим стрессовым факторам. Однако, недостаточно исследованным является проявления антагонистических свойств эндوفитными бактериальными штаммами, в том числе изучение особенностей влияния метаболитов с антагонистическими свойствами на жизнедеятельность растений и почвенной микрофлоры.

Цель данной работы состояла в оценке влияния *B. subtilis* на общую численность почвенных микроорганизмов. Почвенные образцы (50 г) помещали в чашки Петри и обрабатывали суспензией бактериальных спор *B. subtilis* шт. 26Д и 11 ВМ в конечной

концентрации 10^5 и 10^6 КОЕ/г почвы и увлажняли стерильной дистиллированной водой (70%). Через 2-14 суток методом предельных разведений производили посев почвенной суспензии на поверхность среды (МПА) и определяли показатель КОЕ. Проведенные исследования показали, что численность микроорганизмов почвы под действием *B. subtilis* шт. 26Д и 11 ВМ в концентрации 10^5 КОЕ/г почвы снижалась на 47% и 17%, соответственно, а в концентрации 10^6 КОЕ/г почвы 59% и 33%, соответственно. Почвенные микроорганизмы оказались более чувствительными к действию *B. subtilis* шт. 26Д, чем к воздействию *B. subtilis* шт. 11 ВМ. Повышение концентрации бацилл в почве усиливало их токсический эффект на почвенные микроорганизмы.

МЕТАБОЛИТНАЯ И ЭКСПРЕССИОННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ДИССИМИЛЯЦИОННОГО СЕРНОГО МЕТАБОЛИЗМА БАКТЕРИЙ *S. NATANS* *SSP. SULFIDOVORANS*

Белоусова Е.В.¹, Тутукина М.Н.²

¹Воронежский государственный университет, Воронеж (Россия)

²Институт биофизики клетки РАН, Пущино (Россия)

E-mail: curly_999@mail.ru

Представители подвида *Sphaerotilus natans* ssp. *sulfidovorans* ssp. nov. (штаммы Д-501^T и Д-507) способны к окислению восстановленных соединений серы, который сопровождается внутриклеточным накоплением глобул элементарной серы, сульфатов. Однако механизм данного процесса ранее оставался невыясненным. При сравнительном изучении процесса окисления тиосульфата и состава конечных продуктов была выявлена физиологическая неоднородность штаммов. Гетерогенность выделенных штаммов определяется индуцибельной природой и различной устойчивостью ферментных систем серного метаболизма диссимиляционного типа к воздействию кислорода. У штамма Д-501 активность ключевых ферментов серного метаболизма: сульфитоксидоредуктазы и АФС-редуктазы, индуцируется в присутствии тиосульфата только при пониженном содержании кислорода в среде (5-10% O₂ в газовой фазе), что сопровождается увеличением клеточного урожая в полтора раза. У штамма Д-507 также обнаружена тенденция к увеличению активности указанных ферментов и клеточного урожая при понижении концентрации кислорода в среде, однако данный штамм способен к литотрофному росту и в аэробных условиях культивирования.

Было выявлено наличие двух генов серного метаболизма у штаммов Д-507 и Д-501^T: *aprAB* (кодирующего АФС-редуктазу) и *soxB* (кодирующего В-субъединицу SOX-комплекса). Получены нуклеотидные последовательности этих генов. Анализ нуклеотидной последовательности гена *soxB* показал высокий уровень гомологии с *Rhodospirillum* sp. (79,7%) и 70,1% - с *Thiothrix nivea*. Нуклеотидная последовательность гена *aprA* на 96% гомологична таковой из *Leptothrix cholodnii*. При помощи анализа экспрессии генов *soxB* и *aprAB* из штамма Д-501^T установлено увеличение уровня экспрессии данных генов в микроаэробных условиях по сравнению с аэробными в 7.23±1.27 и 3,78 ±0,64 раза, соответственно.

Таким образом, показано, что физиологическая гетерогенность данных штамма определяется индуцибельной природой ферментов окислительного серного метаболизма и степенью их устойчивости к кислородному режиму культивирования.

КОНСТРУИРОВАНИЕ ВЕКТОРА ИНТЕГРАЦИИ ДЛЯ КЛОНИРОВАНИЯ В КЛЕТКАХ БАКТЕРИЙ *B. SUBTILIS* НА ОСНОВЕ ПЛАЗМИДЫ PBR322

Чеписюк Н.В.

Белорусский государственный университет, Минск (Беларусь)

E-mail: fluke710@mail.ru

При работе с бактериями *B. Subtilis* для получения продуцентов биологически активных соединений широко используется практика введения генетических детерминант на векторных конструкциях. Основной характеристикой векторов интеграции является их встраивание в

хромосому бактерии-хозяина, что обеспечивает их стабильное наследование и отсутствие необходимости добавления в среду культивирования бактерий селективного агента. Основными требованиями по отношению к векторам интеграции является их неспособность к автономной репликации в клетках *B. Subtilis*, наличие маркера антибиотикорезистентности, множественного сайта для клонирования фрагментов ДНК, а также промотора для экспрессии генетических детерминант в клетках хозяина. При конструировании рекомбинантных штаммов на основе вида *B. subtilis* важным этапом является первоначальное клонирование генетического материала в клетках бактерий *E. coli*. В некоторых случаях могут возникать трудности при клонировании определенных генов в клетках данных бактерий в составе многокопийных векторов, что обусловлено токсическим эффектом продукта на клетки. Одним из путей решения данной проблемы является использование малокопийных для клеток *E. coli* векторов, таких как pBR322. Основной целью работы являлось конструирование вектора интеграции для клонирования в клетках бактерий *B. Subtilis* на основе плазмиды pBR322. В ходе работы в pBR322 была введена последовательность *spac*-промотора, для обеспечения экспрессии клонированного генетического материала в клетках *B. Subtilis*, последовательность множественного сайта для клонирования, а также маркера антибиотикорезистентности к хлорамфениколу для селективного отбора рекомбинантных штаммов. Данный вектор может быть использован для получения мутантов посредством инактивации генов, замены исходных промоторных областей в хромосоме бактерий на *spac*-промотор, а также для интеграции в хромосому гетерологичных последовательностей ДНК.

БИОСИНТЕЗ ПРИРОДНЫХ СТАТИНОВ ПЕНИЦИЛЛАМИ, ВЫДЕЛЕННЫМИ ИЗ ПОЧВ МАНГРОВЫХ ЛЕСОВ В МАЛАЙЗИИ

Сейдаметова Э.А.¹, Салихон Дж.², Зайнол Н.²

¹Институт микробиологии Академии наук Республики Узбекистан,
Ташкент (Узбекистан)

²University Malaysia Pahang, Kuantan (Malaysia)

E-mail: e_seydametova@yahoo.com

Вещества статиновой природы снижают уровень холестерина в крови путем ингибирования начального фермента его биосинтеза - 3-гидрокси-3-метилглутарил- коэнзим А-редуктазы. Природные статины (ловастатин, мевастатин, правастатин) относятся к вторичным метаболитам мицелиальных грибов. В последнее время широкое использование данной группы соединений в профилактике сердечно-сосудистых заболеваний способствовало активному поиску новых, промышленно-важных, микробных продуцентов статинов. Мангровые леса Малайзии представляют собой уникальную экосистему и отличаются чрезвычайно богатой микрофлорой, битотехнологический потенциал которой пока достаточно не изучен. Целью настоящего исследования было изучение статинообразующей способности мицелиальных грибов рода *Penicillium*, выделенных из почв мангровых лесов в Малайзии.

Первичный скрининг исследованных культур проводился спектрофотометрическим методом с использованием спектрофотометра U-1800 (Hitachi, Япония). Качественный и количественный анализ синтезируемых природных статинов был проведен методом ВЭЖХ в системе ацетонитрил:0,1% фосфорная кислота (60:40) на колонке Zorbax Eclipse Plus C-18 с использованием в качестве стандартов ловастатина (Merck, Германия), мевастатина и правастатина (Sigma, США).

В результате проведенных исследований было отобрано два потенциальных продуцента природных статинов. Так, выход правастатина у штамма *Penicillium* sp. FI19 составил около 20 мг на литр среды для скрининга. Вместе с тем, штамм *Penicillium* sp. FI2 синтезировал как правастатин, так и ловастатин в количестве 5.64 и 10.58 мг/л, соответственно.

Исследования проводились по гранту RDU 100319.

НОВЫЕ МЕТАЛЛОУСТОЙЧИВЫЕ ШТАММЫ БАЦИЛЛ**Маргарян А.А., Паносян О.А.**

Ереванский государственный университет, Ереван (Армения)

E-mail: *armine_margaryan@yahoo.com*

Металлоустойчивые микроорганизмы, способные выдерживать и детоксицировать высокие концентрации тяжелых металлов, являются группой экстремофилов, представляющих большой интерес для современной экологической микробиологии. Металлотолерантные микроорганизмы развили различные механизмы адаптации при высоких концентрациях токсичных металлов и играют важную роль в биогеохимической циркуляции тяжелых металлов. Они могут служить новыми ресурсами для получения активных биосорбентов тяжелых металлов и тем самым использоваться в биоремедиации загрязненных участков окружающей среды.

Целью представленной работы было выделение и изучение металлотолерантных термофильных бацилл из образцов воды и иловых отложений горячих минеральных источников Анкаван и Личк, загрязненных тяжелыми металлами Ереванского озера, а также из образцов почвы территории Зангезурского медно-молибденового комбината (Каджаран), золотодобывающего комбината (Сотк) и Алавердского медного завода. Выделено 25 металлоустойчивых термофильных и термотолерантных бациллярных культур, относящихся к родам *Bacillus* и *Geobacillus*. Для некоторых изолятов проведен анализ последовательности 16S рДНК. На основании фенотипических и генотипических свойств изоляты идентифицированы до вида: *Bacillus subtilis*, *B. megaterium*, *B. brevis*, *B. circulans*, *B. pumilus*, *B. licheniformis* и *Geobacillus stearothermophilus*.

Показана устойчивость изолированных культур к высоким концентрациям (10-200 мг/л) ионов Cd^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} и Mo^{2+} в питательной среде. Изучена способность изолятов аккумулировать ионы Cu^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} и Cd^{2+} . Штаммы *Bacillus subtilis* 1С and *B. megaterium* Met1 отобраны как перспективные биоаккумуляторы ионов Cd^{2+} .

Выделенные культуры металлоустойчивых бацилл сохраняются в коллекции культур микроорганизмов кафедры микробиологии, биотехнологии микроорганизмов и растений ЕГУ и служат объектом дальнейших исследований с целью изучения возможностей использования в биоремедиации и в биотехнологических производствах.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА И ФИЛОГЕНИЯ МИКРОСПОРИДИЙ ДОЛГОНОСИКОВ (*INSECTA: CURCULIONIDAE, RHYNCHITIDAE*) ФАУНЫ МОЛДОВЫ**Ситникова Н.В., Игнатъева А.Н., Грушецкая Т.А., Токарев Ю.С.**

Институт зоологии Академии наук Республики Молдова, Кишинев (Молдова)

Всероссийский Институт защиты растений РАСХН, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: *SitnicovaNatali@yahoo.com*

В ходе анализа природных популяций жестоккрылых надсемейства Curculionoidea фауны Молдова с помощью световой микроскопии на зараженность микроспоридиями были обследованы имаго *Phyllobius contemptus* (N=13), *Vyctiscus betulae* (N=14), *Sciaphobus squalidus* (N=22), *Tatianaerhynchites aequatus* (N=11). Верификация диагноза в образцах жуков, подозрительных на микроспоридиоз, выполнена с помощью ПЦР с праймерами 18f:530r, универсальными для микроспоридий. Зараженность микроспоридиями *P. contemptus* и *V. betulae* составила $23 \pm 11.7\%$ и $50 \pm 13.4\%$, соответственно. В большинстве положительных проб наблюдалось два продукта с молекулярным весом ок. 450 и 600 н.о., соответственно. Их секвенирование показало, что продукты первого типа соответствуют рДНК микроспоридий, а второго – рДНК жуков, что свидетельствует о неспецифическом отжиге праймеров на геномной ДНК насекомых-хозяев. Аналогичные данные получены нами и при работе с членистоногими других систематических групп, что свидетельствует о необходимости дальнейшего совершенствования молекулярной диагностики и аккуратной интерпретации ее результатов.

Таким образом, при использовании молекулярной диагностики нами получены сиквенсы рДНК как микроспоридий, так и их насекомых-хозяев. В частности, фрагмент гена, кодирующего рибосомальную субъединицу 18S, впервые получен для представителя рода *Vyctiscus*. Результаты BLAST-анализа сиквенса, полученного для *P. contemptus*, требуют дополнительных исследований по уточнения видового состава рода *Phyllobius*.

Микроспоридии, выявленные в *P. contemptus* и *V. betulae*, относятся к двум видам, принадлежащим филогенетической ветви класса Terresporidia. При этом первый филогенетически близок паразитам чешуекрылых *Nosema bombycis* из *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) и жесткокрылых *Nosema sp.* GKK-2009 из *Dendroctonus ponderosae* (Coleoptera: Scolytidae) и относится к роду *Nosema*. Второй вид имеет максимальное сходство на уровне 95% с неидентифицированным видом *Microsporidium sp.* BBRE2 из *Diplacanthus brevispinus* (Amphipoda: Acanthogammaridae), что свидетельствует о быстрой смене хозяев из разных экологических ниш в ходе эволюции микроспоридий.

НАКОПЛЕНИЕ АЛАНИНА В КЛЕТКАХ ЭНДОФИТА *KLEBSIELLA TERRIGENA* Е6 В УСЛОВИЯХ АЗОТФИКСАЦИИ

Казакова М.Л., Злотников К.М., Казаков А.В., Злотников А.К.

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.Скрябина РАН, Пущино (Россия)

E-mail: volosina@rambler.ru

Известно, что некоторые азотфиксирующие бактерии способны колонизировать ткани сельскохозяйственных растений, таких как сахарный тростник, рис, сорго, кукуруза. Также некоторые азотфиксирующие эндофиты могут снабжать растение-хозяина азотом из атмосферы, но конкретные механизмы снабжения растений фиксируемым азотом у них еще не изучены. Целью работы было изучение пула свободных аминокислот у азотфиксирующего эндофита небобовых растений *Klebsiella terrigena* Е6 для выявления возможных переносчиков фиксированного азота из клеток этих бактерий в клетки растения.

Установлено, что на безазотной среде Доберейнер азотфиксирующая активность *K. terrigena* Е6 составляла 11,52 нмоль C₂H₄/мг белка/час. При этом в пуле свободных аминокислот клеток *K. terrigena* Е6 количество аланина составляло 53,4% от суммы всех аминокислот, и превосходило количество глутамата почти в 5 раз. При добавлении в среду пирувата происходило накопление аланина и при концентрации пирувата 1 мг/л количество аланина было в 1,4 раза больше, чем в контроле. Также выросло и соотношение аланина к глутамату: с 2,56 в контроле до 3,5 раз в варианте с 1 мг/л пирувата. Было проверено содержание аминокислот в клетках *K. terrigena* Е6, выращенных в течение четырех суток в жидкой среде Доберейнер и в такой же среде с добавлением в нее культуральной жидкости бактерий *Bacillus firmus* Е3 (естественного ассоцианта штамма Е6). Обнаружено, что в клетках бактерий *K. terrigena* Е6 в присутствии культуральной жидкости *B. firmus* Е3, доминантной в пуле аминокислот становился аланин. Из этих данных можно заключить, что бактерия-ассоциант *B. firmus* Е3, усиливая посредством своих экзометаболитов азотфиксирующую активность бактерий *K. terrigena* Е6, также стимулирует и накопление в них аланина.

Полученные результаты позволяют предположить, что переносчиком фиксированного азота из клеток *K. terrigena* Е6 во вне является аланин.

РАЗРАБОТКА ПРАЙМЕРНЫХ СИСТЕМ ДЛЯ ОЦЕНКИ ВИДОВОГО РАЗНООБРАЗИЯ ЗЕЛЕННЫХ НЕСЕРНЫХ БАКТЕРИЙ В ПРИРОДНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ

Гайсин В.А., Сухачева М.В.

Тюменский государственный университет, Тюмень (Россия)

Центр «Биоинженерия» РАН, Москва (Россия)

E-mail: kojurin@gmail.com

Микробные маты термальных источников представляют значительный научный интерес как аналоги древних прокариотических экосистем.

Цель нашей работы заключалась в изучении разнообразия зеленых несерных бактерий (далее ЗНБ) в микробных матах щелочных гидротерм. В связи со сформулированной целью были поставлены следующие задачи: разработать праймерные системы на функциональный (*rufM/L*) и филогенетический (16S рРНК) маркеры, специфичные для данной физиологической группы микробов и позволяющие проводить определение ЗНБ в природных образцах и в бактериальных культурах; провести проверку эффективности разработанных праймерных систем на чистых культурах ЗНБ и на выделенных из термальных источников монокультурах ЗНБ. Последнее определено тем, что многие ЗНБ были выделены и описаны в монокультурах из-за сложности культивирования.

В ходе работы были сконструированы специфические для ЗНБ праймерные системы, позволяющие амплифицировать фрагменты оперона *rufM/L* и гена 16S рРНК. Оперон *rufM/L* кодирует M и L субъединицы реакционного центра фотосистемы ЗНБ и является удобным маркером для их выявления в природных образцах. Ген 16S рРНК широко используется при определении таксономического положения микроорганизмов. ПЦР и последующее секвенирование с разработанными праймерами показали, что выделенные культуры содержат только по одному представителю ЗНБ. Филогенетический анализ определенных последовательностей показал, что полученная нами монокультура ЗНБ имела высокий уровень гомологии с *Chloroflexus aurantiacus* (99-100%).

Таким образом, нами разработаны специфичные для ЗНБ праймерные системы, существенно ускоряющие идентификацию ЗНБ в природных образцах и в монокультурах. Применение филогенетических маркеров *rufM/L* и 16S рРНК позволило быстро и эффективно определить таксономическую принадлежность выделенных монокультур ЗНБ.

Работа выполнена в лаб.экологии и геохимической деятельности микроорганизмов ИНМИ РАН (зав. лаб. д.б.н., проф. Горленко В.М.) и ЦКП Центра «Биоинженерия» РАН (рук. к.б.н. Кузнецов Б.Б.)

УЧАСТИЕ ГЕНА *rpoS* В АДАПТИВНОМ МУТАГЕНЕЗЕ

Гимадеева Р.М., Фарид М.А., Бабынин Э.В., Барабанщиков Б.И.
Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань (Россия).

E-mail: frau.gimadeeva@yandex.ru

Адаптивный мутагенез – это комплекс феноменов, в который объединены такие формы мутагенеза, которые характеризуются тем, что мутации появляются в подвергшихся стрессу, голодающих, не делящихся клетках, и, по крайней мере, некоторые из этих мутаций ведут к восстановлению нормальной жизнедеятельности. К сожалению, вопрос о механизмах появления адаптивных мутаций до сих пор остается открытым.

В данной работе мы показали участие *rpoS* гена в адаптивном мутагенезе. Используя методику флуктуационного теста, мы установили, что характер возникновения His⁺ ревертантов у штаммов SF553 и JF2794 *Salmonella typhimurium*, различающихся по *rpoS*-статусу, носит вид Пуассоновского распределения. Это свидетельствует о том, что His⁺ реверсии у обоих штаммов носят адаптивный характер. В тоже время частота мутаций у штамма SF553 (RpoS⁺) была выше в 2-8 раз, чем у штамма JF2794 (RpoS⁻).

Различие в частоте мутаций у штаммов SF553 и JF2794 могут быть результатом как прямого участия *rpoS* в мутагенезе, так и косвенного, через повышенную чувствительность штамма JF2794 к стрессовым факторам. Определение скорости отмирания культуры в условиях голодания показало, что устойчивость штамма SF553, действительно, была выше по сравнению с JF2794. Однако разница в жизнеспособности культур была не более 30% на вторые сутки голодания. Полученные результаты свидетельствуют о том, что различия в частоте мутаций этих двух штаммов связаны с тем, что *rpoS* напрямую участвует в адаптивном мутагенезе.

Мы предполагаем, что RpoS белок играет регуляторную роль и участвует в системе запуска индуцированного стрессом мутагенеза у бактерий.

СПОСОБНОСТЬ ШТАММОВ *ASPERGILLUS TERREUS* К БИОСИНТЕЗУ ЛОВАСТАТИНА

Сейдаметова Э.А., Гулямова Т.Г., Рузиева Д.М., Абдульмянова Л.И.,
Насметова С.М., Расулова Г.А., Лобанова К.В.

Институт микробиологии Академии наук Республики Узбекистан,
Ташкент (Узбекистан)

E-mail: e_seydametova@yahoo.com

Ловастатин - природный статин, обладающий гипохолестеримическим действием. К биосинтезу данного соединения способны различные мицелиальные грибы. В настоящее время значительно возрос интерес к штаммам *Asp. terreus* как к потенциальным продуцентам ловастатина. В Институте микробиологии АН РУз была собрана коллекция аспергилл, включающая 30 галотолерантных штаммов *Asp. terreus*, ловастатинообразующая способность которых была до сих пор не изучена. В этой связи, целью данной работы был скрининг местных штаммов аспергилл как возможных продуцентов ловастатина.

Первичный скрининг исследуемых культур проводили модифицированным методом агаровых блоков (Kumar *et.al*, 2000), основанным на фунгицидных свойствах ловастатина по отношению к тест-культуре *Neurospora crassa* (ВКМ-875). Экстракцию ловастатина из мицелия отобранных в результате первичного скрининга штаммов проводили по методу Манзони с соавт. (Manzoni *et al*, 1998). Идентификацию и количество продуцируемого ловастатина определяли методом ВЭЖХ на колонке Zorbax Eclipse XDB C-18.

В результате скрининга методом агаровых блоков нами было установлено, что из 30 испытуемых галотолерантных штаммов аспергилл способностью подавлять рост тестовой культуры *N. crassa* (ВКМ-875) обладают экстракты 10 культур. В ходе ВЭЖХ-анализа этих экстрактов ловастатин был выявлен только у четырех штаммов. При этом количественное содержание данного статина составило 22, 36, 80 и 106 мг/л среды в штаммах *Asp.terreus* 6, 2, 4 и 20, соответственно. В целом, полученные данные свидетельствуют о том, что отобранные штаммы аспергилл могут рассматриваться в качестве потенциальных продуцентов ловастатина.

Исследования проводились по гранту АН РУз ФА-А11-Т129.

ПСИХРОФИЛЬНО-ГАЛОФИЛЬНОЕ СООБЩЕСТВО АЭРОБНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ КРИОПЭГОВ В ТОЛЩЕ ВЕЧНОЙ МЕРЗЛОТЫ

Хохлова Г.В., Спирина Е.В., Гиличинский Д.А., Петровская Л.Е.

Филиал Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова в г. Пущино; Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, лаборатория криологии почв, Пущино (Россия)
Институт биоорганической химии РАН, Москва (Россия)

E-mail: Galka889@gmail.com

Микроорганизмы способны сохранять жизнеспособность от десятков до миллионов лет в многолетнемерзлых породах, льдах и таких геологических структурах, как криопэги – древние замкнутые водные экосистемы, представляющие собой линзы низкотемпературных рассолов, находящиеся в толще вечной мерзлоты.

Для изучения биоразнообразия аэробных галофильных микроорганизмов и поиска древних низкотемпературных деструкторов ароматических углеводов нами были изучены криопэги полуострова Ямал и Аляски голоценового и плейстоценового возраста, не замерзающие при температурах (-3) – (-5)°С. Пробы воды из криопэгов и Карского моря отбирали летом 2005 года. Для выделения аэробных галофильных микроорганизмов использовали метод накопительного культивирования при 4 и 20°С на стандартных питательных средах ½ TSB и R2A с концентрацией NaCl 100г/л. Морфологию клеток изучали методами световой и флуоресцентной микроскопии. Окраска по Граму, тесты на оксидазу, каталазу, нитратредуктазу, липазу, лецитиназу и другие биохимические тесты выполняли согласно стандартным методикам (Методы общей бактериологии, 1983).

Впервые дана микробиологическая характеристика переохлажденных высокоминерализованных вод в толще вечной мерзлоты и создана первая коллекция из 72 чистых культур древних аэробных галофильных бактерий. Согласно предварительным данным филогенетического анализа последовательностей 16S рРНК генов, большинство выделенных аэробных галофильных бактерий относятся к классам *Bacilli*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*. Обнаруженная липазная активность у многих штаммов делает их привлекательным объектом для получения ферментов, расщепляющих жир в холодной воде.

ПРОДУКЦИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ *PENICILLIUM CITRINUM* НА ЦИНК- И МЕДЬ-СОДЕРЖАЩИХ СРЕДАХ

Барина К.В.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: *barinova-kv@mail.ru*

Известно, что металлы существенно влияют на многие процессы жизнедеятельности микроорганизмов. Одной из адаптивных реакций грибов на содержание в среде высоких концентраций металлов является продуцирование ими органических кислот, участвующих в процессах детоксикации.

Цель настоящей работы состояла в исследовании влияния цинка и меди на образование органических кислот микромицетом *Penicillium citrinum*.

Культуру *P. citrinum* выращивали на агаризованных питательных средах Чапека-Докса и Роллена, различающиеся по источнику азота и по количеству сахарозы (NaNO_3 и 3% сахарозы в среде Чапека-Докса; NH_4NO_3 и 5% сахарозы в среде Роллена). Zn и Cu вносили в среду в форме сульфатов, в концентрациях 25 мкмоль и 500 мкмоль. Кислоты анализировали методом хромато-масс-спектрометрии на приборе Agilent с масс-селективным детектором MSD 5975 на 7-е, 17-е и 30-е сутки роста в обеих средах, а в среде Роллена также на 3-е сутки.

В составе экзометаболитов *P. citrinum* обнаружены щавелевая, фосфорная, янтарная, фумаровая, яблочная, глюконовая и малоновая кислоты. На среде Чапека-Докса цинк в обеих концентрациях, а медь преимущественно в низкой концентрации способствовали выделению щавелевой, янтарной и яблочной кислот. Максимальные количества оксалата отмечались у 17-суточных культур. Остальные кислоты присутствовали в относительно небольших количествах только на 30-е сутки. На среде Роллена количества этих кислот уменьшались под воздействием металлов. При этом наибольшие количества малата, фумарата и сукцината обнаружены на 17-е, а оксалата на 30-е сутки роста. На обеих средах количество глюконата увеличивалось под воздействием меди, а на среде Роллена также и под действием Zn в концентрации 500 мкмоль.

Полученные результаты свидетельствуют о зависимости ацидофицирующей активности *P. citrinum* от содержания цинка и меди в средах различного состава.

ХАРАКТЕРИСТИКА 1-АМИНОЦИКЛОПРОПАН-1-КАРБОКСИЛАТДЕЗАМИАЗ У АЭРОБНЫХ МЕТИЛОБАКТЕРИЙ

Екимова Г.А., Федоров Д.Н.

Пушкинский Государственный университет; Учреждение Российской академии наук
Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН,
Пушино (Россия)

E-mail: *ekimova_g@mail.ru*

1-аминоциклопропан-1-карбоксилат (АЦК) – предшественник в биосинтезе фитогормона этилена, являющегося стрессовым гормоном, а также участвующего в старении растений и созревании плодов. Ассоциированные с растениями бактерии и сами растения обладают ферментом АЦК-дезаминазой, который деградирует АЦК до 2-кетобутирата и аммония, таким образом, снижая концентрацию этилена в тканях растения. В последние годы большое внимание уделяли изучению АЦК-дезаминаз из-за положительного влияния инокуляции бактериями, содержащими этот фермент, на рост и развитие растений. Однако изучение этих

ферментов было ограничено родом *Pseudomonas*. Наша работа направлена на исследование распространение генов АЦК-дезаминаз (*acdS*) у аэробных метиловых бактерий и биохимических свойств этих ферментов, выделенных из типовых штаммов *Methylobacterium radiotolerans* JCM2831 и *Methylobacterium nodulans* ORS2060.

При помощи нуклеотидных последовательностей *acdS* генов, кодирующих АЦК-дезаминазы различных видов бактерий, представленных в GenBank, разработан набор вырожденных олигонуклеотидных праймеров. ПЦР-скрининг среди 40 видов метилотрофных бактерий с использованием разработанных праймеров впервые показал, что *Methylobacterium mesophilicum*, а также *Methylobacillus pratensis* и *Methylophilus luteus* обладают *acdS* генами.

Гены *acdS* *Methylobacterium radiotolerans* JCM2831 и *Methylobacterium nodulans* ORS2060 клонировали в экспрессионном векторе pHUE. В результате очистки методом металл-хелатной хроматографии из штамма-суперпродуцента на основе *E. coli* получены препараты рекомбинантных белков AcdS. Выделенные ферменты являются гомотетрамерами с м.м 144 кДа, что показано при помощи гель-фильтрационной хроматографии. Активность ферментов зависела от наличия пиридоксаль-фосфата, они катализировали дезаминирование АЦК при оптимальных значениях pH 8,0 и 45 °C с довольно высокими константами Михаэлиса (K_m 1-3 мМ) и низкой скоростью реакции (k_{cat} 50 мин⁻¹). Следовательно, колонизация растений аэробными метилотрофными бактериями, имеющими АЦК-дезаминазу, может повышать устойчивость растений к стрессовым факторам и замедлять старение.

Работа выполнена при поддержке ГК 14.740.11.0111 и гранта РФФИ 10-04-00808.

ВЛИЯНИЕ ДЕФИЦИТА МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В ПОЧВЕ НА ФОРМИРОВАНИЕ АРБУСКУЛЯРНОГО МИКОРИЗНОГО СИМБИОЗА И РИЗОСФЕРНУЮ МИКРОФЛОРУ

Лошакова К.А.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: spes_ulyma@mail.ru

Арбускулярные микоризные грибы (АМГ) могут влиять на поступление микроэлементов в растения. Это связано с действием АМГ на ризосферную микрофлору, которая участвует в микроэлементном питании растений. Особенности формирования симбиоза, его влияние на ризосферную микрофлору при дефиците микроэлементов изучены мало.

В работе исследовали влияние дефицита микроэлементов в почве на формирование арбускулярного микоризного симбиоза. Также изучали состояние микрофлоры в ризосфере микоризованных растений в условиях дефицита микроэлементов. Контролем служила микрофлора немикоризованных растений.

В условиях вегетационного опыта растения огурца и кукурузы инокулировали штаммами эндомикоризных грибов. Использовали следующие штаммы: *Glomus intraradices* шт. 7, *G. intraradices* ВЕГ 144 и *G. fasciculatum* ВЕГ 53. Дефицит микроэлементов в почве моделировали путем внесения карбоната кальция. При дефиците микроэлементов все исследованные штаммы АМГ формировали симбиоз с растениями огурца и кукурузы.

Функционирующий симбиоз не оказал положительного действия на численность ризосферной микрофлоры. Количество бактерий в ризосфере кукурузы снизилось, по сравнению с показателями у неинокулированных растений. В ризосфере огурца численность бактерий не изменилась. На количество грибов в ризосфере обоих растений формирование симбиоза не влияло. Разнообразие бактерий расширилось в ризосфере инокулированных растений кукурузы и огурца. Разнообразие грибов при образовании симбиоза не менялось.

Полученные результаты позволяют сделать ряд заключений.

В условиях дефицита микроэлементов ризосферные бактерии были более отзывчивыми на формирование симбиоза, чем грибы. Наиболее чувствительным показателем было разнообразие прокариот, которое расширилось в ризосфере обоих растений. Чувствительность бактерий к функционирующему симбиозу была разной в ризосфере огурца и кукурузы. Так, в ризосфере кукурузы количество бактерий снизилось. В то же время, в ризосфере огурца численность прокариот не изменилось.

ВЗАИМООТНОШЕНИЕ БАКТЕРИЙ РОДА *BACILLUS* С ИНFUЗОРИЯМИ *COLPODA STEINII*

Погорелова В.В.

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины,
Киев (Украина)

E-mail: violetvadi@mail.ru

В последние десятилетия в растениеводстве все большее внимание уделяют бактериальным препаратам, применение которых позволяет уменьшить использование химических удобрений, и повысить стойкость растений к неблагоприятным условиям. В нашем отделе на основе взаимодействия бактерий рода *Bacillus* с азотфиксирующими микроорганизмами созданы препараты комплексного действия, улучшающие азотное и фосфорное питание растений.

Успех интродукции микроорганизмов в агроэкосистему зависит от многих факторов, в том числе от взаимоотношения с почвенными простейшими, которые являются обязательными и массовыми представителями почвенных и водных биоценозов.

Целью работы было исследование взаимоотношения и выживаемости бактерий рода *Bacillus* и инфузорий *Colpoda steinii* при их совместном культивировании.

Показано, что при совместном культивировании в течении 10 суток в бинарной культуре с различными штаммами бацилл численность *B. subtilis* снижалась в 4,4 раза, *B. pumilus* 3 – в 3,4 раза, *B. megaterium* 12 – в 2,5 раза. Установлено, что клетки *B. megaterium* 12 с размерами 2-5 мкм потреблялись меньше, чем бактерии других исследованных штаммов бацилл, имеющих размеры 2-3 мкм. Наибольшую численность *C. steinii* наблюдали после 48 ч культивирования с бактериями *B. subtilis* и *B. megaterium* 12. В дальнейшем количество инфузорий в этих вариантах эксперимента уменьшилось. Учитывая тот факт, что содержание бактерий в суспензии, как корма для инфузорий, оставалось достаточно высоким, можно предположить, что наблюдаемое снижение численности колпод обусловлено накоплением в среде метаболитов бацилл, токсичных для этих инфузорий.

Другая закономерность наблюдалась при культивировании инфузорий с *B. pumilus* 3. В этом случае численность *C. steinii* в суспензии постепенно повышалась и после 10 суток инкубации была в 4,5 раза выше исходного уровня. Очевидно, эти бактерии не выделяли веществ, токсичных для развития колпод.

ВЛИЯНИЕ ГЛАУКОНИТА НА РОСТ БАКТЕРИЙ

Чеботарев А.Ю.

Институт микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного НАН Украины,
Киев (Украина)

E-mail: Andreych@ukr.net

В Институте микробиологии и вирусологии НАН Украины был получен штамм азотфиксирующих бактерий *Azotobacter vinelandii* ИМВ В-7076 и фосфатмобилизирующих бактерий *Bacillus subtilis* ИМВ В-7023, на основе которых создан гранулированный бактериальный препарат комплексного действия для растениеводства. Поэтому актуальным является вопрос разработки приемов интенсификации процесса культивирования этих микроорганизмов.

Одним из материалов, который может оказывать влияние на функционирование микроорганизмов, является природный минерал глауконит, используемый как минеральное удобрение естественного происхождения.

Цель работы – исследование влияния глауконита на рост бактерий *Azotobacter vinelandii* и *Bacillus subtilis*.

Установлено, что глауконит заметно стимулирует ростовую активность исследованных бактерий. Показано, что с увеличением содержания минерала как в среде Эшби, так и в глюкозо-минеральной среде максимальный прирост клеток *A. vinelandii* наблюдался при содержании глауконита 10,0г/л, а *B. subtilis* – 5г/л. В этих условиях численность клеток азотобактера в 6 раз больше, а бацилл – в 1,4 раза больше, чем в контроле. Механизм стимулирующего действия твердых частиц на ростовую активность микроорганизмов мало

исследованы. Нами на основе полученных данных было сделано предположение, что данный эффект является следствием «облегченной» диффузии субстрата в клетку. При концентрации в среде 20,0г/л глауконита наблюдается ингибирование роста культур. Подобные результаты были получены для *A. vinelandii* ИМВ В-7076 при взаимодействии с диоксидом титана.

Установлено, что внесение в суспензию бактерий глауконита обеспечивает существенное уменьшение количества клеток в надосадочной жидкости по сравнению с контролем на 86,8% для азотобактера и 81,6% для бацилл. Данный эффект можно объяснить тем, что определенная часть бактерий адсорбируется на частицах глауконита, а это приводит к удалению последних вместе с дисперсным материалом при центрифугировании. Полученные результаты свидетельствуют о наличии контактного взаимодействия между клетками и глауконитом.

ИНДУКЦИЯ ЭКСПРЕССИИ PR-ГЕНА ТЕСТИРУЕМЫХ КЛУБНЕЙ КАРТОФЕЛЯ ПРИ ЗАРАЖЕНИИ ШТАММАМИ *PECTOBACTERIUM* И *DICKEYA*

Третьякова О.М.

Белорусский государственный университет, Минск (Беларусь)

E-mail: o.tratsiakova@gmail.com

Pectobacterium carotovorum, *Pectobacterium atrosepticum* и *Dickeya dadantii* (*Erwinia chrysanthemi*) - это фитопатогенные бактерии, которые вызывают мацерацию тканей у различных видов растений во время вегетационного периода и при хранении урожая. Бактерии повсеместно распространены в природе и вызывают ряд заболеваний высших растений, в частности картофеля, поэтому необходимо получить более полные сведения об особенностях взаимодействия патогенов с растением и индукции генов резистентности картофеля в ответ на заражения штаммами.

Исследования были проведены на 2х сортах картофеля культивируемых в Беларуси – сорт Веснянка и Скарб.

В ходе экспериментов было обнаружено, что сорт Веснянка более восприимчив к заражению бактериями: *Pectobacterium carotovorum*, *Pectobacterium atrosepticum* и *Dickeya dadantii*, чем клубни сорта Скарб. Наибольшей вирулентностью характеризовались бактерии *Pectobacterium carotovorum* и наименьшей *Pectobacterium atrosepticum* при 28°C. С понижением температуры (18°C) вирулентные свойства штаммов бактерий *Pectobacterium carotovorum* становятся ниже, чем бактерий *Pectobacterium atrosepticum*.

Мацерирующая активность в случае бактерий *Dickeya dadantii* значительно возросла при 33°C.

Оценка защитных реакций на инфекцию различными штаммами была проведена методом кПЦР, путем измерения уровней экспрессии PR-генов, индукция которых коррелирует с запуском различных сигнальных путей при контакте с патогеном. В данном эксперименте была выявлена более сильная индукция PR-5t у сорта Скарба по сравнению с сортом Веснянка.

Таким образом, эксперименты показали, что изученные сорта картофеля в разной степени поражаются бактериальными мягкими гнилями, а также выявлена закономерность в индукции гена резистентности картофеля в ответ на заражения штаммами.

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ АКТИНОМИЦЕТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПОЧВ АЗЕРБАЙДЖАНА

Абушова А.Р., Юсифова М.Ю., Гасанова С.А.

Бакинский государственный университет, Баку (Азербайджан)

E-mail: sevda-gasanova66@mail.ru

Актиномицеты включают обширную и разнообразную группу грам-положительных, аэробных мицелиальных бактерий, которые играют важную экологическую роль в почве. Многие из них хорошо известны как продуценты биологически активных веществ, таких как антибиотики, витамины и ферменты. Кроме того, они являются одним из основных

представителей микроорганизмов в почве и их возникновение в значительной степени зависит от экологических условий влажности, температуры, pH и растительности.

Исследуемые почвенные образцы были взяты из некоторых типов почв (чернозем, горно-луговая, горно-лесная, солончаки, нефтезагрязненные, полупустынные) Азербайджана. Выделение актиномицетов проводили посевом почвенных разведений на поверхность питательной среды. Актиномицеты были определены на уровне родов на основе морфологических и физиологических признаков. Антимикробную чувствительность определяли методом штриха. В качестве тест-культур использовали *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* и *Saccharomyces cerevisiae*.

Из образцов почв, взятых из 6-ти различных типов, было выделено 310 штаммов и было установлено, что число изолятов зависит от типа почвы. Наибольшее количество штаммов было выделено из черноземных почв.

Среди этих штаммов наиболее часто обнаруживались представители рода *Streptomyces*. Члены родов *Micromonosporaceae*, *Actinomadurae*, *Streptosporangium* и *Streptoverticillium* были также выявлены, но в более низких количествах. 69% изолятов показали антимикробную активность. Изоляты с антимикробной активностью были выделены из всех типов почв.

ПРОБИОТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ *LACTOBACILLUS PLANTARUM*: ИССЛЕДОВАНИЕ АДГЕЗИВНЫХ СВОЙСТВ МЕТОДАМИ МИКРОСКОПИИ

Хузахметова В.Р., Яруллина Д.Р., Дуда В.И., Коновалова О.А., Ильинская О.Н.
Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань (Россия)

E-mail: Venus154@mail.ru

Лактобациллы являются основной группой микроорганизмов, используемых в составе современных пробиотиков. Это обусловлено присутствием данного таксона прокариот в составе нормобиоценозов человека и его ролью в функционировании микроэкологической системы здоровых людей. На основе клеток лактобацилл создан большой ассортимент препаратов, предлагаемых для коррекции дисбиотических нарушений. Одной из важных физиологических функций молочнокислых бактерий в организме хозяина является реализация колонизационной резистентности. Способность к колонизации клеток кишечника (адгезивная активность) в значительной степени определяется строением поверхности клеток лактобацилл.

Целью исследования явился анализ тонкой структуры поверхности клеток *Lactobacillus plantarum* 8P-A3, детерминирующей их способность к адгезии.

Поверхность бактерий *L. plantarum* 8P-A3 исследовали с помощью электронной и атомно-силовой микроскопии (АСМ). При выращивании в присутствии аминокислоты L-аргинин наблюдали изменение тонкой структуры поверхности клеток. Анализ ультратонких срезов *L. plantarum* 8P-A3, фиксированных в присутствии рутениевого красного, демонстрировал появление «косой» $p2$ симметрии в строении поверхности клеток. Методом АСМ выявили появление симметричной продольной и поперечной исчерченности. Указанные структуры характерны для формирования S-слоя бактерий – регулярно построенного поверхностного слоя белков или гликопротеинов, встречающегося как у грамположительных, так и у грамотрицательных микроорганизмов.

Таким образом, методами электронной и атомно-силовой микроскопии были получены свидетельства образования у бактерий *L. plantarum* 8P-A3 структур, морфологически сходных с бактериальным S-слоем. Являясь самой наружной оболочкой клетки, данная структура определяет адгезивные свойства бактерий и, соответственно, эффективность пробиотических препаратов.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант №09-04-97032), ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» П1275 от 09.06.2010.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ЗАРАЖЕННОСТЬ И КОРРОЗИОННАЯ АГРЕССИВНОСТЬ НЕФТЕПРОМЫСЛОВЫХ СРЕД МЕСТОРОЖДЕНИЙ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

Остапенко А.В., Шаркова Т.В.

Тюменский государственный университет; ОАО «Гипротюменнефтегаз»,
Тюмень (Россия)

E-mail: anna_edelweiss@mail.ru

В связи с бурным развитием промышленности резко возросли размеры коррозионных повреждений металлических конструкций и сооружений. Ежегодно в результате коррозии промышленность теряет сотни тысяч тонн металла. Роль биологического фактора в этом процессе довольно велика - по мнению специалистов нефтегазовой промышленности, до 50% случаев коррозии вызывается жизнедеятельностью бактерий.

Целью нашей работы явилась оценка микробиологической зараженности и коррозионной агрессивности нефтепромысловых сред некоторых месторождений Западной Сибири.

Для выявления различных физиологических групп микроорганизмов и их количественного учета применяли метод предельных разведений. В результате микробиологического анализа вод исследуемых месторождений мы определили, что наибольшее количество сульфатовосстанавливающих бактерий (10^5 кл/мл) содержится в водах Кальчинского, Приобского, Усть-Тегусского месторождений и КУУН «Демьянское». Содержание тионовых бактерий находилось в интервале от 10^1 (Урненское месторождение) до 10^4 кл/мл (Приобское месторождение). Количество углеводородокисляющих бактерий было в пределах от 10^2 (Кальчинское месторождение) до 10^7 кл/мл (Приобское месторождение).

По результатам химического анализа вод рассчитывался коэффициент коррозионной агрессивности нефтепромысловых сред (K_x), на основании определенных значений которого воды большинства месторождений отнесены к высокоагрессивным. Установлено, что наибольшей коррозионной агрессивностью обладают нефтепромысловые среды Кальчинского, Приобского, Усть-Тегусского месторождений и КУУН «Демьянское», что может быть обусловлено длительным сроком эксплуатации месторождений, местом отбора проб, а также особенностями химического состава вод.

Проведен корреляционный анализ между концентрацией компонентов химического состава вод и количеством микроорганизмов разных физиологических групп. Установлена прямая связь между содержанием микроорганизмов и концентрацией ионов Fe^{2+} и Fe^{3+} в нефтепромысловых средах, что является доказательством протекающего в трубопроводах изучаемых месторождений процесса коррозии.

В результате проведенной работы установлено, что наиболее неблагоприятная коррозионная обстановка сложилась на месторождениях Кальчинское, Приобское, Усть-Тегусское и КУУН «Демьянское».

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОВ БИОСИНТЕЗА САХАРОЗЫ У ГАЛОТОЛЕРАНТНОГО МЕТАНОТРОФА *METHYLOMICROBIUM ALCALIPHILUM 20Z*

Бут С.Ю., Куревлев С.В., Решетников А.С.

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

E-mail: flash20063@rambler.ru

Микроорганизмы обитают в водной среде с различной степенью солености, от пресных и морских биотопов до гиперсолёных водоёмов с высокой концентрацией NaCl, вплоть до насыщения. Многие микроорганизмы способны приспосабливаться к осмотическим изменениям среды в пределах своей галотолерантности. С другой стороны, рост многих галофильных видов зависит от высоких концентраций NaCl. Для достижения осмотического равновесия между цитоплазмой и окружающей средой микроорганизмы могут избирательно накапливать в цитоплазме неорганические ионы (K^+ , Na^+ , Cl^-) или же специфические

низкомолекулярные органические вещества – осмолиты (такие как эктоины, полиолы, сахара и их производные и т.д). Клетки галотолерантного метанотрофа *Methylobacterium alcaliphilum* 20Z способны накапливать в качестве осмолитов эктоин и сахарозу. Следовательно, у данного организма происходит отток углерода и энергии от синтеза целевого продукта – эктоина – многофункционального биопротектора, используемого в научных исследованиях, косметике и медицине. Изучение условий, приводящих к накоплению сахарозы, будет способствовать совершенствованию биотехнологии получения эктоина из метана и метанола. Целью настоящей работы является идентификация и характеристика генов биосинтеза сахарозы у *M. alcaliphilum* 20Z. В геноме данного микроорганизма был обнаружен кластер из 4 генов, продукты которых (сахарозофосфатсинтаза, сахарозофосфатфосфатаза, фруктокиназа и амилосахараза) предположительно участвуют в метаболизме сахарозы. Был получен инсерционный мутант, дефектный по гену сахарозофосфатсинтазы и показано, что данный мутант не способен к накоплению сахарозы. Также были получены электрофоретически гомогенные препараты рекомбинатных сахарозофосфатфосфатазы и фруктокиназы, экспрессированных в *E.coli*. Показано, что данные ферменты катализируют соответственно гидролиз сахарозо-6-фосфата до сахарозы и неограниченного фосфата и АТФ-зависимое фосфорилирование фруктозы до фруктозо-6-фосфата.

ГАЛОФИЛЬНАЯ АЭРОБНАЯ СПОРООБРАЗУЮЩАЯ МИКРОФЛОРА ПОЧВ СОЛОНЧАКОВ И СОЛЕРУДНИКА АРМЕНИИ

Акопян А.Г., Маргарян А.А., Паносян О.А.

Ереванский государственный университет, Ереван (Армения)

E-mail: anubis7777777@gmail.com

Одним из основных направлений современной экологической микробиологии является изучение галофильных микроорганизмов, специфические биоценозы которых формируются в засоленных водоемах, солеварнях, солончаковых почвах. Галофилы встречаются среди архей, бактерий, грибов, дрожжей и водорослей. Одной из важнейшей групп галофильных микроорганизмов являются аэробные спорообразующие бактерии. Целью представленной работы является выделение и изучение аэробных спорообразующих галофильных бактерий из почв солончаков Араратской равнины и Аванского солерудника (глубина 30м). Выделение аэробных хемоорганотрофных спорообразующих бактерий проводили путем получения накопительных культур. Изолированные галофильные культуры рода *Bacillus* и *Streptomyces* представлены как облигатными, так и факультативными формами. Все бациллярные изоляты являются хемоорганотрофными, грамположительными спорообразующими галофильными палочками, солевой оптимум которых находится в пределах 10-20% NaCl. Проведен скрининг изолятов для выявления перспективных продуцентов ряда амилолитических, липолитических и протеолитических ферментов, а также антибиотической активности стрептомицетов. В зависимости от фенотипических характеристик изолированные бациллы определены как *B. licheniformis*, *B. sp.*, *B. Firmus* виды. Были выбраны штаммы-продуценты галофильных бацилл с высокой гидролитической активностью, и один штамм стрептомицетов с высокой антибиотической активностью особенно против грамположительных микроорганизмов, и которые могут иметь перспективное применение в биотехнологии. А также, было показано, что одним из механизмов для сопротивления солевому стрессу для галофильных бацилл это накопление аминокислоты пролина, как осморегулятора. Выделенные галофильные бациллы и стрептомицеты сохраняются в коллекции культур микроорганизмов кафедры микробиологии и биотехнологии ЕГУ.

КРИТЕРИИ СТРЕСС-ВЛИЯНИЯ ЖИВЫХ МОНО- И ДИВАЛЕНТНЫХ ВАКЦИН НА ОРГАНИЗМ БРОЙЛЕРОВ

Карпуленко М.С., Постоенко В.А.

Государственный научно-контрольный институт биотехнологии и штаммов микроорганизмов, Киев (Украина)

E-mail: *maximus_k@bigmir.net*

Одной из основных задач при проведении государственного контроля за качеством ветеринарных иммунобиологических препаратов есть разработка новых подходов и методик показателей качества, безопасности и эффективности.

Мировой опыт показывает, что все большего применения приобретают поливалентные вакцины. Но их использование несет за собой ряд нерешенных вопросов. Остается не выясненным механизм совместного действия разных антигенов при одновременной вакцинации. До конца не изучена реакция молодого организма животного отвечать на действие двух или более сильных антигенов. В этой связи актуальным направлением является разработка экспериментальных моделей на животных по изучению эффективности действия моно- и поливалентных вакцин.

Нами изучено ряд живых моновалентных вакцин – две против болезни Ньюкасла, содержащие штаммы Hitchner B1, вторая La Sota и инфекционного бронхита кур (ИБК) - Massachusetts-H 120, а также дивалентных (комбинация штаммов Hitchner B1+ Massachusetts-H 120, La Sota+ Massachusetts-H 120) производства Ломанн Анимал Хелс ГмбХ и КоКГ (Германия) на цыплятах бройлерах кросса Кобб-500, 24 дневного возраста.

Показано корреляционную взаимосвязь между показателями титра антител к возбудителям болезни Ньюкасла и ИБК, и уровнем малонового диальдегида, антиокислительной активности плазмы крови, лимфоцитарно-псевдоэозинофильного индекса. Разработаны подходы по использованию данных показателей для оценки стрессового влияния моно- и дивалентных вакцин на организм животных.

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ АНАЛИЗ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ ТЕРМАЛЬНЫХ ИСТОЧНИКОВ КАЛЬДЕРЫ УЗОН МЕТОДОМ ПАРАЛЛЕЛЬНОГО ПИРОСЕКВЕНИРОВАНИЯ

Гумеров В.М., Марданов А.В., Равин Н.В.
 Центр «Биоинженерия» РАН, Москва (Россия)

E-mail: *netuns@gmail.com*

Исследование структур микробных сообществ, ассоциированных с высокотемпературными экологическими нишами, представляет интерес для фундаментальной микробиологии, в том числе эволюционной, поскольку многие обитающие в этих условиях микроорганизмы относятся к эволюционно древним ветвям бактерий и архей. Целью данной работы является анализ состава сообществ микроорганизмов термальных источников кальдеры вулкана Узон с различными температурой и кислотностью, - источник Заварзина (58°C, pH 6.3), «Бурлящий» (90°C, pH 6.7), «1805» (60°C, pH 3.7) и «1810» (90°C, pH 4.1). Для молекулярной идентификации микроорганизмов был использован метод параллельного пиросеквенирования фрагментов генов 16S рРНК, позволяющий проводить одновременный анализ десятков-сотен тысяч независимых последовательностей и получать количественные данные о составе сообщества. Наибольшее разнообразие микроорганизмов наблюдалось в источнике Заварзина, в сообществе которого доминировали хемолитоавтотрофные бактерии Aquificae, Thermodesulfobacteria и гамма-протеобактерии Thiofaba. Среди гетеротрофов основную долю составляли представители Deferribacteres, Thermotogae, Thermus и бета-протеобактерии Terpidimonas. Обнаружена новая филогенетическая ветвь уровня типа, представители которой были найдены только в источнике Заварзина. Археи составляли менее 5% микроорганизмов. Биоразнообразие микроорганизмов при нейтральных значениях pH уменьшается с ростом температуры, так, в источнике «Бурлящий» доминировали представители всего двух групп, - бактерии Aquificae и археи Thermoproteales. Особенностью кислых источников является преобладание архей относительно бактерий. В обоих источниках, «1805» и «1810», около половины архейного сообщества составляли термоацидофильные аэробные кренархеи порядка Sulfolobales, окисляющие органические субстраты и водород. В кислом высокотемпературном источнике «1810» второй по численности (23% всех архей) группой были представители эволюционно древней ветви Nanoarchaeota, - симбиотические археи, обладающие минимальным геномом среди всех живых организмов. Эти микроорганизмы ранее были обнаружены в различных гидротермальных местообитаниях, но они составляли лишь небольшую долю сообществ.

МЕТАБОЛИЗМ МЕТАНОЛА У НОВОГО ФАКУЛЬТАТИВНО-МЕТИЛОТРОФНОГО ФИТОСИМБИОНТА *METHYLOBACTERIUM NODULANS*

Быкова Т.В.¹, Капаруллина Е.Н.²

¹Пушинский государственный университет; ²Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пущино (Россия)

E-mail: tatiana.bickova@yandex.ru

Methylobacterium nodulans (ORS 2060^T=CNCM I 2342^T=LMG 21967^T) – новый факультативный метилотроф, выделенный из клубеньков *Crotalaria podocarpa*, способный к азотфиксации и нодуляции, у которого секвенирован полный геном. Ключевой характеристикой метилотрофов является метаболизм C₁-субстрата.

Цель работы – энзимологический анализ пути метаболизма метанола у *M. nodulans*. Определение активности ферментов проводили в экстрактах клеток *M. nodulans* из экспоненциальной фазы роста на метаноле.

Нами установлено, что *M. nodulans* окисляет метанол до формальдегида классической метанолдегидрогеназой, проявляющей максимальную активность при pH 9.0 и стимулируемой ионами аммония. Активность формальдегиддегидрогеназы с искусственным акцептором электронов – фенозинметосульфатом (ФМС) выше по сравнению с НАД-зависимой формой этого фермента, которая стимулируется восстановленным глутатионом. Обнаружены высокие активности ФМС- и НАД-зависимых форм формиатдегидрогеназы.

Исследуемый метилотроф реализует ицл вариант серинового цикла, так как имеет высокие активности оксипируватредуктазы и L-серинглиоксилатаминотрансферазы, но не имеет изоцитратлиазы. Кроме того, проведенный нами анализ генома бактерии не выявил ген, кодирующий изоцитратлиазу. Хотя в геноме *M. nodulans* обнаружен ген, кодирующий большую субъединицу рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы (рубиско), ключевого фермента рибулозобисфосфатного цикла, активность рубиско отсутствует. Обнаружены высокие активности НАД-зависимых форм дегидрогеназ глюкозо-6-фосфата и 6-фосфоглюконата. В метаболизме углеводов принимают участие три пути: гликолитический, пентозофосфатный и Энтнера-Дудорова, поскольку присутствуют активности альдолаз фруктозо-1,6-бисфосфата, 2-кето-3-дезоксиглюконо-6-фосфоглюконата и 6-фосфоглюкокиназы. Интересной особенностью исследуемого метилотрофа является зависимость 6-фосфоглюкокиназы от пирофосфата (ФФн). Обнаружены НАД- и НАДФ-зависимые формы дегидрогеназ изоцитрата. Наличие активности α -кетоглутаратдегидрогеназы свидетельствует о замкнутом цикле Кребса.

В ассимиляции NH₄⁺ принимают участие глутаматдегидрогеназа и глутаматный цикл (глутаматсинтаза и глутаминсинтаза).

Работа выполнена при поддержке ГК 14.740.11.0111 и гранта РФФИ 10-04-00808.

АНАЛИЗ МИКРОБНОЙ КОНТАМИНАЦИИ ПОЧВ Г. ЯКУТСКА

Ядрихинская В.К., Щелчкова М.В.

Северо-Восточный федеральный университет, Якутск (Россия)

E-mail: varvara-kon@mail.ru

Почва, как среда обитания множества микроорганизмов, принимает на себя колоссальное количество загрязнений, как органических, так и фекальных. При этом высокая численность сапрофитной микрофлоры почвы (бактерии родов *Micobacterium*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, спорообразующие бактерии, актиномицеты и грибы) свидетельствует об органическом загрязнении, а в результате фекального загрязнения появляется большое количество санитарно-показательных микроорганизмов (бактерии группы кишечной палочки (БГКП): *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, фекальные энтерококки *Enterococcus faecalis*, термофильные микроорганизмы).

В 2010 г. оценивали санитарно-бактериологическое состояние почвы на территории г. Якутска Республики Саха (Якутия), учитывая особенности почвенного и растительного покрова, размера исследуемой территории, расстояния от источников загрязнения, характера

землепользования и т. д. Результаты показали, что уровень фекального загрязнения почв селитебных зон, в том числе детских площадок, в 15% случаев превышает допустимые нормы. В данных почвах индекс БГКП достигал 3×10^2 , индекс энтерококков – до 1×10^1 , что позволяет отнести эти территории к зоне умеренной эпидемической опасности. Остальные 85% почвенного покрова относится к категории чистых в эпидемическом отношении почв. Количество нестандартных проб почв в зонах влияния промышленных предприятий, транспортных магистралей, в местах применения пестицидов и минеральных удобрений было меньше (3,5%), но они характеризовались более высокими показателями фекального загрязнения: индекс БГКП - до 1×10^4 , индекс энтерококков - до 1×10^3 . Аналогичные показатели получены для всех исследованных почв животноводческих комплексов. Патогенные энтеробактерии не выделены. По итогам проведенных исследований проводятся контроль за самоочищением почв; саночистка территорий, на которых превышены предельно допустимые уровни, установленные санитарными правилами и гигиеническими нормативами.

ГЕТЕРОГЕННОСТЬ СТРОЕНИЯ БАКТЕРИЙ ПАТОГЕННОГО ШТАММА *WOLBACHIA WMEIPOP* В КЛЕТКАХ МОЗГА *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Струнов А.А., Киселёва Е.В.

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск (Россия)

E-mail: strunov.anton@gmail.com

Wolbachia являются облигатными эндосимбионтами насекомых, передающимися из поколения в поколение по материнской линии и вызывающими различные нарушения репродуктивных функций хозяина. Влияние этих бактерий варьирует от мутуалистического до паразитического в зависимости от вида хозяина. Патогенный штамм *Wolbachia wMeiPop*, активно размножаясь в клетках репродуктивных органов, в сетчатке, грудных мышцах, а также в клетках мозга *Drosophila melanogaster*, снижает продолжительность жизни мух в два раза по сравнению с незаражённой линией. Причины негативного воздействия эндосимбионта на организм хозяина до сих пор не ясны. Проведенные нами электронно-микроскопические исследования ультраструктуры *wMeiPop* в клетках мозга *D. melanogaster* показали, что эндосимбионты встречаются в телах нейронов, клетках глии и в межклеточном пространстве. В небольшом количестве в клетках присутствуют бактерии со светлым матриксом и расширенным вакуолеподобным пространством между клеточной стенкой и внешней мембраной. Встречаются также палочковидные электронно-плотные тельца, вероятно представляющие деградирующие формы эндосимбионтов. Эти тельца располагаются в основном по периферии мозга мух и различаются по форме, размерам и плотности матрикса. Переходные формы бактерий содержат одиночные, либо множественные электронно-плотные глыбки в матриксе. Кроме того обнаружены *Wolbachia* грушевидной формы, внутренность которых наполовину заполнена гомогенным электронно-плотным матриксом, а также палочковидные, слегка изогнутые бактерии, весь матрикс которых был электронно-плотным. У таких бактерий часто расширено пространство между клеточной стенкой и внешней мембраной. Предполагается, что подобные *Wolbachia* представляют гибнущие бактерии. На основе исследования тонкой морфологии разных типов бактерий предложена модель структурной реорганизации патогенного штамма *Wolbachia wMeiPop* в клетках мозга *D. melanogaster*.

Работа поддержана Программой Президиума РАН «Биологическое разнообразие» № 26.30.

БИОДЕГРАДАЦИЯ НЕФТЕПРОДУКТОВ ШТАММАМИ МИКРООРГАНИЗМОВ РОДА *ACINETOBACTER*

Логина О.О., Белоусова Е.В., Данг Тху Тхюи, Грабович М.Ю.

Воронежский государственный университет, Воронеж (Россия)

E-mail: o-lic@mail.ru

Одной из серьезных проблем защиты природной среды при нефтедобыче является ликвидация нефтяного загрязнения почвы. Устранение разливов нефти позволяет значительно

улучшить санитарное состояние не только на территориях, непосредственно прилегающих к технологическим объектам, но и окружающей среды - воздуха и воды. Наиболее приемлемыми на сегодняшний день считаются биологические методы рекультивации, так как они не наносят экосистеме больший вред, чем тот, который уже нанесен при загрязнении.

Штаммы *Acinetobacter calcoaceticus* 134 (B-3780), АСКС (B-2838) и *Acinetobacter sp.* (B-5064) способны к эффективной биодеградации различных компонентов нефти и могут быть использованы для очистки территорий, загрязненных нефтепродуктами.

В ходе длительного почвенного лабораторного эксперимента показана значительная эффективность исследованных штаммов. Степень деградации нефти составила 40 – 73%, а бензина 70 – 99%, наибольшая активность показана штаммом B-5064. В водной среде степень деградации сырой нефти штаммами *Acinetobacter* составила 80 – 94%, за 20 дней при концентрации белка 40 - 50 мг/л. Выбранные нами штаммы эффективно окисляют ароматические и нециклические компоненты нефти.

При постановке вегетационного почвенного опыта по деструкции нефтепродуктов использовали штамм B-2838. В ходе культивирования в течение 60 дней деструкция нефтепродуктов составила от 80 до 90%, что свидетельствует о высокой активности выбранных штаммов в отношении нефтепродуктов в данных условиях.

В ходе микрополевого опыта была установлена эффективность консорциума данных штаммов в биоремедиации нефтяных загрязнений почвы. В природных условиях степень деградации нефтепродуктов составила 40%. Внесение данных микроорганизмов в нефтезагрязненную почву повышает коэффициент гумификации, что указывает на преобладание полифенолоксидазной активности, осуществляющей превращение органических соединений ароматического ряда в компоненты гумуса.

Штаммы *Acinetobacter* способны хорошо расти в диапазоне концентраций NaCl от 0 до 3%, что позволит использовать исследованные штаммы в составе биопрепаратов, которые возможно применять на засоленных территориях.

АЗОТОБАКТЕР В УСЛОВИЯХ УРБАНИЗИРОВАННОЙ СРЕДЫ (НА ПРИМЕРЕ Г. АСТРАХАНИ)

Пищухина Е.Ю., Сальникова Н.А., Сальников А.Л.

ГОУ ВПО «Астраханский государственный университет», Астрахань (Россия)

E-mail: bellona551986@yandex.ru

Важность изучения распространения азотобактера в городских почвах определена рядом причин. Бактерия является продуцентом витаминов, гормонов, антифунгальных антибиотиков и способна внести положительный вклад в экосистему города, она участвует в гумусообразовании и служит пищей для почвенных амёб, тем самым занимая определенную экологическую нишу. Ряд урбаногенных свойств городских почв г. Астрахани (высокое значение рН, повышенное содержание органического вещества, токсичность солей) способствуют сохранению популяций азотобактера. Этому способствуют такие природные факторы, как повышенная влажность верхних горизонтов почвы, где существуют ассоциации микроорганизмов, а также содержание в урбаноземах Са - ионов, являющимся продуктом древних фундаментов и строительного мусора. В результате проведенных исследований выявлен адаптационный потенциал азотобактера, который способен противостоять угнетающему действию урбаногенных условий. В связи с чем, азотобактер может быть использован как индикаторный организм на урбанопедогенез при экобиомониторинге городских территорий.

Нами отмечена, что частота встречаемости азотобактера в зависимости от применяемой питательной среды составляет: максимальный показатель – 92% (территория рынка ООО «Большие Исады», АЗС пос. Трусово), минимальный – 35% (Астраханский Кремль). Более информативной оказалась питательная среда Федорова-Калининской, на которой минимальный процент образования колоний азотобактера составлял 35%. Наряду с азотобактером на средах высевались дрожжи *Lipomyces*, процент обрастания комочков почвы которых составляет от 15 до 80%.

Токсичность солей варьировала в зависимости от типа почвы и составляла от 0,52 мг-эквивалент для бурой аридной типичной почвы до 6,84 мг-эквивалент для темного солончака. Выявляется прямая зависимость численности азотобактера от количественных значений токсичности солей. Чем выше данные значения, тем выше численность азотобактера.

НОВЫЕ ШТАММЫ ГАЛОТОЛЕРАНТНЫХ АЭРОБНЫХ МЕТИЛОБАКТЕРИЙ - ПРОДУЦЕНТЫ ЭКТОИНА

Порошина М.Н.¹, Капаруллина Е.Н.², Грашин Д.В.³

¹Пушинский государственный университет; ²Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино (Россия)

³Тульский государственный университет, Тула (Россия)

E-mail: poroshinam@rambler.ru

Эктоин – циклическая иминокислота, синтезируемая галофильными/толерантными бактериями при росте на среде с повышенным содержанием соли. Эктоин находит широкое применение в медицине, косметологии, научных исследованиях, сельском хозяйстве.

Ранее способность к синтезу эктоина в качестве основного осмопротектора была обнаружена у метиловых бактерий с рибулозомонофосфатным путём C_1 – метаболизма рода *Methylophaga* при росте на метаноле и с сериновым путём метаболизма рода *Methylarcula*, использующих только метиламин.

Цель работы – характеристика методами полифазной таксономии новых метилотрофных изолятов, образующих эктоин.

Из засоленных почв Пермского края выделены облигатные метилотрофные штаммы, реализующие ицил вариант серинового пути C_1 – метаболизма - S 12 и C2. Клетки штаммов – грамтрицательные аэробные неподвижные, неспорообразующие палочки (0,4-0,6×1,6 – 2мкм), единичные или собранные в розетки, образуют капсулу.

Колонии на минеральной агаризованной среде белые, точечные, с ровным краем, выпуклые, матовые, однородной структуры. Изоляты оксидазо- и каталазоположительные, в качестве источников углерода и энергии используют метанол, штамм C2 также - метиламины.

Растут при 16-40°C, pH = 6 - 10, 0 - 15%NaCl, оптимально при 29°C, pH 7,5 и 3%NaCl. Галотолерантны, синтезируют *de novo* и накапливают эктоин внутриклеточно в качестве осмопротектора при повышении осмолярности среды.

В жирнокислотном составе клеток преобладают 18:1w7c, 19cyclo, 18:0. Основные фосфолипиды – фосфатидилглицерол и фосфатидилэтанолламин.

На основании секвенирования гена 16S рРНК установлено, что новые штаммы существенно отличаются от известных родов бактерий, но имеют высокий уровень сходства (95%) с некультивируемой бактерией В23 из глубоководных отложений Тихого океана. Следовательно, новые изоляты можно отнести к новому роду класса *Alphaproteobacteria*.

Новые штаммы метиловых бактерий с сериновым типом C_1 – метаболизма, являются перспективными продуцентами ценного метаболита – эктоина из метанола.

ПАТОГЕННЫЙ КОМПЛЕКС СЕМЕННОЙ ИНФЕКЦИИ НА СОРТАХ ПШЕНИЦЫ ТАМБОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Зеленева Ю.В., Кашковский А.А.

Среднерусский Филиал ГНУ Тамбовского научно-исследовательского института сельского хозяйства РАСХН, пос. Новая Жизнь, Тамбов (Россия)

E-mail: zelenewa@mail.ru

Большую роль в борьбе с болезнями зерновых культур, в повышении урожая и его качества призвана сыграть фитопатологическая экспертиза семенного материала.

Прошедший 2011 год был неблагоприятным для развития сельского хозяйства. Это и аномально высокие температуры на протяжении всего лета, воздушные и почвенные засухи, отсутствие осадков во время налива зерна.

Целью нашей работы являлась установление влияния сложившихся климатических условий на интенсивность развития семенной инфекции. Сложившиеся климатические условия, повлиявшие на рост и развитие пшеницы, зерно характеризуется как щуплое, мелкое, что оказало отрицательное влияние на массу 1000 зёрен. Поэтому в 2011 году при высева семян прошедшего года необходимо увеличить норму высева.

Проведённая фитоэкспертиза зерна пшеницы методом проращивания семян в рулонах фильтровальной бумаги позволила нам установить степень инфицирования посевного материала. По степени восприимчивости к возбудителям корневых и серой гнилей устойчивых сортов выявлено не было. Так, степень поражения ряда сортов была следующей: Безенчукская 200 - 14,7%, Крестьянка - 17,2%, Харьковская 23 - 20,8%, Светлана - 22,8%, Биора - 25,0%, Донская элегия - 34,7%, Воронежская 14 - 44,3%, Саратовская 60 - 51,7%, Софья - 51,8%, Безенчукская 380 - 56,2%.

Семена сортов Безенчукская 380, Харьковская 23, Софья, Саратовская 60, Безенчукская 200 и Светлана поражены септориозом. Так отмечались отдельные коричневые пятна на coleoptиле, а на ростках появлялись мелкие чёрные бугорки.

Присутствие альтернариоза выявлено на всех семенах находящихся в анализе сортов яровой и озимой пшеницы. Наиболее сильное развитие наблюдалось на сортах Безенчукская 380, Бирюза, Волжская 100, Воронежская 14, Крестьянка, Саратовская 60, Одесская 267, Северодонская Юбилейная. На семенах образовывался паутинный мицелий, придающий им тёмно-серый цвет.

Было отмечено заражение семян фузариозом сортов Безенчукская 380, Белгородская 12, Белгородская 16, Бирюза, Богданка, Софья, Биора, Саратовская 60, Одесская 267. При проращивании семян пшеницы в рулонах развивался тонкий, пушистый быстро разрастающийся мицелий снежно-белого цвета.

Чтобы убедиться в правильности сделанных предположений, образовавшийся мицелий грибов обязательно подвергался микологическому анализу.

ВЛИЯНИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ НА АНТИБИОТИКО-РЕЗИСТЕНТНОСТЬ БАКТЕРИЙ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ МОЛЕКУЛ ДНК

Ляшук Е.В.¹, Смирнова Г.В.², Октябрьский О.Н.^{1,2}

¹Пермский государственный технический университет; ²Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь (Россия)

E-mail: alenshick@mail.ru

В связи с ростом числа патогенных микроорганизмов, устойчивых к антибиотикам, все большее внимание уделяется как поиску новых антибактериальных веществ, так и исследованию природных и синтетических соединений, модифицирующих их действие. Одним из перспективных направлений является изучение действия экстрактов растений, содержащих полифенолы. Эти вещества проявляют про- и антиоксидантные, а также хелатирующие свойства, оказывая положительное профилактическое и терапевтическое действие. Целью этой работы явилось исследование действия антибиотиков на бактерии *Escherichia coli*, растущие в среде, содержащей растительные экстракты. В качестве параметра, характеризующего действие антибиотиков использовали минимальные ингибирующие концентрации (МИК).

Все экстракты исследуемых растений усиливали устойчивость бактерий к ципрофлоксацину. Наибольшим эффектом обладали экстракты из листьев яблони, увеличивающие значение МИК в десять раз. В то же время, присутствие в среде культивирования экстрактов не вызывало изменения значения МИК ампициллина, кроме экстракта яблони. Было показано также, что экстракты из листьев яблони и клена способны защищать плазмидную ДНК от окислительного повреждения. Сейчас известно, что многие антибиотики могут убивать бактерии, вызывая окислительный стресс. Можно предположить, что обнаруженное нами снижение токсического действия антибиотиков растительными экстрактами может быть связано с их антиоксидантным действием. Полученные данные указывают на то, что многие природные субстраты, содержащие полифенолы, могут существенно снижать токсическое действие антибиотиков.

СЕКЦИЯ «Почвоведение и биогеохимия»**МИКРОЭЛЕМЕНТЫ В ПОЧВАХ И РАСТЕНИЯХ ВОЛЖСКО-КАМСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО ПРИРОДНОГО БИОСФЕРНОГО ЗАПОВЕДНИКА****Сибгатуллина М.Ш., Иванов Д.В.**Институт проблем экологии и недропользования Академии наук Республики Татарстан,
Казань (Россия)

E-mail: sibmad@list.ru

Установление региональных фоновых концентраций микроэлементов в компонентах наземных природных экосистем продолжает оставаться одной из актуальных задач геохимической экологии. Изучено содержание Mn, Fe, Zn, Cu, Cr, Ni, Cd, Pb в дерново-подзолистых почвах и 13 распространенных видах растений травянисто-кустарничкового яруса в Волжско-Камском заповеднике.

Содержание микроэлементов в почвах значительно варьирует, что обусловлено различиями в гранулометрическом составе почвообразующих пород. По медианному содержанию валовых форм микроэлементов в почвах можно построить следующий ряд (мг/кг): Fe(3160) > Mn(603) > Zn(24) > Cr(6.8) ≥ Ni(6.3) > Cu(4.9) ≥ Pb(4.6) > Cd(0.2); подвижных форм – Mn(122) > Fe(58) > Cr(4.6) ≥ Zn(4.2) > Pb(1.7) > Ni(0.6) ≥ Cu(0.5) > Cd(0.1).

По содержанию в растениях, которое определяется характером биофильности элементов, микроэлементы можно расположить в ряд (мг/кг): Fe (127) ≈ Mn(123) > Zn(30) > Cu(5) > Ni(2) > Pb(1.2) > Cr (0.4) ≥ Cd (0.2). Установлено, что виды травянисто-кустарничкового яруса хвойных фитоценозов отличаются большей аккумуляцией Mn и Cu, а травянистым видам широколиственных лесов свойственно большее накопление Fe и Zn.

По величине коэффициента биологического поглощения (КБП) неморальные травянистые виды можно отнести к деконцентраторам Fe (КБП<1). Бореальные виды являются концентраторами (КБП>1) всех изученных элементов. Растения черники, костяники, мхи рода *Pleurozium* Mitt. и *Sphagnum* L. были отнесены к интенсивным концентраторам (КБП >100) Mn, Zn, Cu, растения орляка обыкновенного – Ni.

ВЛИЯНИЕ СОРБЕНТОВ НА ВОДНО-ФИЗИЧЕСКИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СЕРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВЫ, ЗАГРЯЗНЁННОЙ ДИЗЕЛЬНЫМ ТОПЛИВОМ**Яценко В.С.¹, Стрижакова Е.Р.²**¹Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева,
Москва (Россия)²Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН,
Пушино (Россия)

E-mail: vika20388@mail.ru

Загрязнение почв нефтепродуктами является экологической катастрофой для экосистемы. Для очистки почв от нефтепродуктов нами был предложен метод сорбционно-биологической очистки. Метод основан на использовании сорбентов, которые снижают токсичность сильнозагрязнённых почв и создают оптимальные условия для развития микроорганизмов-деструкторов.

Целью данных исследований было изучение действия дизельного топлива (ДТ) и некоторых сорбентов на биологические и водно-физические свойства почвы, а также влияние этих сорбентов на скорость биоремедиации серой лесной почвы загрязнённой 5, 10 и 15% ДТ.

В качестве сорбентов использовали гранулированный активированный уголь марки ВСК (ГАУ) и сорбент «Спилсорб», полученный из торфа. В ходе эксперимента определяли численность разных групп микроорганизмов методом посева на агаризованные среды, фитотоксичность почв, предельную полевую влагоёмкость (ППВ), суммарное содержание углеводов и биомассу растений выросших в данном эксперименте.

С увеличением дозы ДТ резко снижается влагоёмкость и пористость почвы, и увеличивается её объёмная масса. Внесение ГАУ и Спилсорба как в чистую, так и в ДТ-загрязнённую почву приводит к увеличению её ППВ, что положительно сказывается на процессах её самоочистки. Неуплотнённая почва хорошо аэрируется, в ней создаются благоприятные условия для накопления микробной биомассы, участвующей в разложении углеводородов нефти.

Внесение ГАУ положительно влияет на численность гетеротрофных бактерий в ДТ-загрязнённой почве, что обеспечивает ускоренное разложение загрязнителя и более быстрое снижение токсичности почвы. В присутствии Спилсорба резко увеличивается численность микромицетов, более чем на порядок по сравнению с почвой без сорбента, что может привести к накоплению фитопатогенной микрофлоры.

Установлено, что в присутствии активированного угля происходит заметное улучшение биологических и водно-физических свойств ДТ-загрязнённой почвы, что способствует её ускоренной биоремедиации. Использование Спилсорба менее оправдано из-за возможных негативных воздействий этого сорбента на свойства почвы.

ОСОБЕННОСТИ ГУМИФИКАЦИИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОСТАТКОВ КУКУРУЗЫ В ПРИСУТСТВИИ МИНЕРАЛЬНЫХ СУБСТРАТОВ РАЗЛИЧНОГО СОСТАВА

Мальцева А.Н., Золотарева Б.Н.

Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН,
Пушино (Россия)

E-mail: anasmalts@rambler.ru

В последние годы стало ясно, что минеральные субстраты играют важную роль в гумусообразовании и консервации гумусовых веществ (ГВ) в почвах. В работе А.Г. Заварзиной (2007) установлено прямое влияние минеральной матрицы на ферментативный синтез гумусоподобных веществ из простых продуктов разложения растительных остатков (РО). В то же время закономерности и механизмы этих процессов до настоящего времени практически не изучены. Целью данной работы является изучение влияния минеральных субстратов различного состава на гумификацию остатков кукурузы в лабораторных условиях.

Проведена серия экспериментов по компостированию остатков кукурузы в чистом кварцевом песке, покровном суглинке в условиях оптимального увлажнения и температуре 20°С при отношении растительных остатков к минеральному субстрату 1:10 и исследованию образовавшихся гумусовых веществ.

Установлено, что процессы гумификации и минерализации РО протекают синхронно с момента начала компостирования, но на их соотношение существенное влияние оказывает минеральная фаза. В присутствии суглинка образуется больше гумусовых веществ, а степень минерализации по сравнению с чистым песком снижается. Максимальное количество ГВ наблюдается через месяц после начала инкубации. Затем в присутствии кварцевого песка интенсивность гумификации быстро снижается и после двух месяцев протекает в стационарном режиме. В присутствии суглинка уменьшение интенсивности гумификации после месяца инкубации происходит более плавно и в дальнейшем носит стационарный волновой характер. Анализ ИК-Фурье спектров образующихся гумусовых веществ позволяет сделать вывод об их разном вещественном составе. Наблюдаемые закономерности объяснили влиянием минеральных матриц на процесс гумификации. В частности, суглинок, содержащий в своем составе каолинит, гидрослюда, кварц, полевые шпаты и смектит, обладает большей сорбционной и каталитической способностью по отношению к продуктам разложения РО, микроорганизмам и ферментам, участвующим в процессе гумификации.

Работа поддержана грантом РФФИ № 09-04-00652

ВОДОРАСТВОРИМЫЕ СОЕДИНЕНИЯ АЛЮМИНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ СИСТЕМЕ ОРГАНИЧЕСКОЕ ВЕЩЕСТВО-ПОЧВА

Кызьюрова Е.В.

Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар (Россия)

E-mail: *kizurova@mail.ru*

В почвенном растворе, алюминий представлен различными соединениями. Он может находиться в составе аквакомплекса, мономерных и полимерных гидроксокомплексов, а также соединений с другими неорганическими и органическими лигандами. Соединения алюминия, переходящие в водную вытяжку, считаем водорастворимыми.

В проведённых исследованиях мы оценили изменение содержания водорастворимых соединений алюминия в пространстве и во времени.

В результате проведённого исследования выяснили, что продукты разложения органического вещества оказывают влияние на водорастворимые соединения алюминия. В первую очередь на те, которые находятся в слое почвы, прилегающем к очагу органического вещества. Здесь содержание водорастворимой фракции в 1.3 – 6 раз больше, чем в остальных слоях. Влияние ОВ постепенно распространяется и на более удалённые слои минеральной массы: через 8 недель аналогичным образом изменяются водорастворимые соединения алюминия, находящиеся в слое почвы, удалённом от очага ОВ на 1 см.

При повышении кислотности ионы алюминия, находящиеся в почвенном растворе (водорастворимый алюминий) переходят в обменную форму и наоборот. Результаты определения содержания обменных и водорастворимых соединений алюминия находятся в обратной связи между собой. Коэффициент корреляции составляет -0.698.

По соотношению количества эквивалентов алюминия к углероду в водной вытяжке можно предположить, что образуются низкомолекулярные органические комплексные соединения.

На содержание водорастворимых соединений в водных вытяжках и лизиметрических водах влияет наличие ионов калия. При взаимодействии почвы с хлоридом калия в водной вытяжке содержание ионов алюминия увеличивается до 40 раз по сравнению с содержанием ионов алюминия в водной вытяжке при взаимодействии почвы с разлагающимся органическим веществом.

ЧИСЛЕННОСТЬ И БИОМАССА МИКРООРГАНИЗМОВ АЛЛЮВИАЛЬНЫХ ЛЕСНЫХ ПОЧВ СЕВЕРНОЙ ТАЙГИ (РЕСПУБЛИКА КОМИ)

Виноградова Ю.А.

Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар (Россия)

E-mail: *vinogradova@ib.komisc.ru*

В России и за рубежом объектами исследования все чаще становятся пойменные экосистемы, в том числе и почвы пойменных лесов. Это связано, как с особой значимостью пойм, с их высокой биогенностью, так и с участвовавшими катастрофическими паводками.

Цель работы заключалась в изучении биологической активности аллювиальных лесных почв, формирующихся под пологом лиственных лесов в подзоне северной тайги (Республика Коми, р. Печора). В качестве объекта изучения были выбраны почвы, занимающие различные элементы рельефа центральной поймы: аллювиальная дерновая лесная (вершина гривы) > луговая лесная (выровненный участок поймы) > лугово-болотная лесная (глубокое межгривное понижение).

Вне зависимости от типа почв основная биомасса микроорганизмов приурочена к органогенным горизонтам. При этом наибольшая ее концентрация в ранневесенний период достигала в лугово-лесной почве - 4,02 мг/г а.с.п., в летний в дерново-лесной – 2,02 мг/г а.с.п., в осенний в лугово-лесной и лугово-болотной лесной почвах – 2,10 мг/г а.с.п. При этом основную организацию микробного пула определяют грибы. На долю почвенных микромицетов приходится подавляющая часть микробной массы - от 90 до 99%. В минеральных горизонтах происходит резкое снижение количества микроорганизмов, особенно в лугово-лесной почве в летний период- 0,28 мг/г а.с.п.

Длина грибного мицелия была выше в подстилках, особенно в лугово-лесной почве в весенний период – 923,75 м/г а.с.п. К осени увеличивается количество спор в почвах выровненных участках и межгрибных понижениях в отличие от почв вершин грив. Длина мицелия актиномицетов максимальна в органогенном горизонте дерново-лесной почвы летом – 3196 м/г а.с.п. Численность бактерий выше во всех типах почв в ранневесенний период с максимальным содержанием в лугово-болотной лесной почве – 3,5 млрд. кл/г а.с.п.

ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПЕСЧАНОЙ ПОЧВЫ В ПРОЦЕССЕ ЕЕ ОПТИМИЗАЦИИ

Гаевский Е.Е.

Белорусский государственный университет, Минск (Беларусь)

E-mail: gaevski@rambler.ru

Предпосылки для увеличения содержания и благоприятного изменения в распределении гумуса по профилю почвы были созданы улучшением всего комплекса факторов, который способствует более интенсивному развитию дернового процесса под влиянием торфования и землевания.

Полевые опыты проводились на дерново-подзолистой связнопесчаной почве. Схема полевого опыта включала 5 вариантов: на опытные делянки площадью 50 м² в четырехкратной повторности вносили суглинок из расчета 100, 200, 300 и 400 т/га, а также торфонавозный компост в дозе 200 т/га при соотношении навоза и торфа 1:1.

Суглинок вносили с целью изменения гранулометрического состава почвы, повышения содержания в ней физической глины, и превращения ее в связную супесь. Торфонавозный компост применяли не только с целью повышения содержания гумуса в почве, но и для активизации деятельности почвенной микробиоты.

Торфование и землевание привело к увеличению содержания гумуса во всех вариантах опыта и составило 2,5-3,7%, (в контроле – 1,4%). Различия в содержании гумуса в вариантах опыта обусловлены дозами внесенного органического вещества (ОВ) и суглинка.

Изучение фракционно-группового состава органического вещества (ОВ) показало, что торфование и землевание оказывает положительное влияние на его качественный состав, что проявилось в увеличении доли гуминовых кислот и в уменьшении – фульвокислот. В результате этого увеличилось отношение $C_{гк} : C_{фк}$ (1,2-1,8, в контроле – 0,9), что свидетельствует об активизации темпов гумификации органического вещества. Следует отметить, что содержание гуминовых кислот увеличивалось главным образом за счет ГК-2. Это свидетельствует о том, что в результате агротехнических мероприятий в дерново-подзолистой песчаной почве формируется и накапливается ОВ в менее подвижных формах. Оно становится более устойчивым к разрушению и вымыванию, а, следовательно, более способным к закреплению и накоплению в верхних слоях почвы.

Работа выполнена при поддержке БРФФИ, проект № Б09М-134.

НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЕМЕННОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ ВИДОВ *CATALPA SCOROLI*. В РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ ЗАСОЛЕНИЯ

Досжанова Г.Д.

Национальный университет Узбекистана им. М. Улугбека, Ташкент (Узбекистан)

E-mail: gauxar.dosjanova@mail.ru

Виды рода *Catalpa* (сем. *Bignoniaceae*) является перспективными древесными интродуцированными растениями для озеленения в условиях Каракалпакстана, имеющего резкоконтинентальный климат, засоленные почвы и как результат всего этого крайне тяжелые экологические условия проживания населения.

На примере *C.bignonioides* изучение проводилось в условиях Ташкенте (контроль, незасоленные почвы), Бустоне (Каракалпакстан, средnezасоленные почвы, содержание водорастворимых солей в почве Cl- 0,040% к массе сухой почвы 0-30 см слоя) и Нукусе (Каракалпакстан, сильно засоленные почвы, Cl- 0,058% , SO₄ -0,058% в 25-50 см слоя).

Изучались размеры плодов и семян, а также выполненность и абс. масса семян. Установлено, что в условиях среднего по сравнению с контролем у *C. bignonioides* достоверно увеличивается длина плодов ($41,5 \pm 1,69$ см и $50,0 \pm 1,68$ см соответственно), но уменьшаются их ширина ($2,6 \pm 0,05$ см и $2,1 \pm 0,03$ см), уменьшаются размеры ($2,7 \pm 0,11$ см х $0,5 \pm 0,02$ см и $2,2 \pm 0,07$ х $0,2 \pm 0,02$ см), выполненность ($96,2 \pm 0,95$ и $87,6 \pm 0,98\%$) и абс. масса ($37,2$ и $21,5$ г) семян. В условиях сильного засоления плоды по сравнению с контролем плоды короче ($31,4 \pm 1,74$ см), но по ширине достоверно не различаются ($2,8 \pm 0,09$ см). Семена короче, чем в контроле ($2,1 \pm 0,15$ см), но по ширине ($0,5 \pm 0,03$ см), выполненность ($94,3 \pm 0,68$ см) и абс. масса ($35,7$ г), достоверных различий не выявлено.

Таким образом, на изучаемые параметры оказывает влияние не только степень засоление, и его тип, - хлоридный в Бустоне и хлоридно-сульфатный в Нукусе.

МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ ТОРФЯНИСТО-ПОДЗОЛИСТО-ГЛЕЕВАТЫХ ПОЧВ (НА ПЫЛЕВАТЫХ СУГЛИНКАХ) ЕВРОПЕЙСКОГО СЕВЕРО-ВОСТОКА

Холопов Ю.В.

Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар (Россия)

E-mail: Vegalyn@mail.ru

Исследования проводятся в таежной зоне Республики Коми по изучению биоклиматических особенностей этих почв.

Торфянисто-подзолисто-глееватые почвы составляют подтип болотно-подзолистых почв. Это наиболее распространенные почвы в таежной зоне. В Республики Коми, занимают более 40% ее территории[1].

Описываемые почвы имеют огромное лесохозяйственное значение. Развиваются под еловыми зеленомошно-политриховыми лесами, в условиях поверхностного гидроморфизма.

Характеристику морфологического строения торфянисто-подзолисто-глееватых почв развитых в средней тайге, даем на примере разреза:

Разрез 2-Х. Средняя тайга. (Бассейн р. Вычегда)

Абс. выс. н.у.м. – 248 м. Координаты: $61^{\circ} 45'$ с.ш. $54^{\circ} 17'$ в.д.

Водораздельный увал, поверхность равнинная. Лес пихтово-еловый смешанный по составу БЕ4П+Б, высота ели 18-20 м, бонитет IV, сомкнутость крон 0.7-0.8.

В напочвенном покрове преобладают политриховые мхи, примесь гипновых мхов, в понижениях сфагнум; из кустарничковых преобладает черника, много брусники, майник, линнея, папоротник.

О 0-8 см Слаборазложившаяся лесная подстилка, темно-коричневая, свежая, корни, к низу степень разложения возрастает.

О 8-13 см Темно-коричневая почти черная торфянистая подстилка, хорошо разложившаяся, переплетена корнями, мицелий грибов.

A2hg 13-33 см Легкий пылеватый суглинок, светло-серый, неоднородный по цвету сизые и ржаво-бурые расплывчатые пятна, структура непрочная комковатая, мелкие ржаво-бурые конкреции до 1 мм в диаметре, ржавые примазки, слабовлажный, имеются поры, переход постепенный.

A2B 33-50 см Легкий пылеватый суглинок, серый с сизым оттенком, крупные поры, структура тонко-плитчатая, легко распадается на угловато-комковатые отдельности; плотные конкреции, переход постепенный.

A2Bg 50-72 см Легкий пылеватый суглинок серовато-бурый, сизоватый к низу темно-бурый, ржаво-бурые пятна, структура комковато-плитчатая, кремнеземистая присыпка, ржавые точечные образования, мелкие поры, переход постепенный.

B1g 72-88 см Средний пылеватый суглинок, бурый; ржаво-бурые пятна, структура тонко-плитчатая, кремнеземистая присыпка по граням структурных отдельностей, мелкие поры, тонкие черные точечные марганцовистые образования, переход постепенный.

B2g 88-105 см Средний пылеватый суглинок, цвет неоднородный бурый с сизыми пятнами, черные примазки, имеются поры, ржавые непрочные конкреции; уплотнен; структура плитчатая, переход постепенный.

BCg 105-140 см Средний пылеватый суглинок, бурый с сизыми пятнами, структура тонкоплитчатая на гранях размытые черные пятна; порист, есть непрочные конкреции, переход постепенный.

Cg 140-180 см Тяжелый пылеватый суглинок, бурый, сизые пятна, к низу появляются охристые пятна, черные точечные примазки и стяжения; структура плитчатая, имеются поры, влажный, вязкий.

Характеристику морфологического строения торфянисто-подзолисто-глееватых почв развитых в северной тайге, даем на примере разреза:

Разрез 4-Х. Северная тайга. На водораздельном увале (Бассейн р.Уса)

Абс. выс. н.у.м. - 119м. Координаты: 66° 39' с.ш. 62° 30' в.д.

Лес еловый с большой примесью березы - 6Б 4Е. Ель высотой до 10-15 м, сомкнутость крон 0.3, бонитет V;

В покрове преобладают политриховые мхи, пятнами сфагнум, по прикомлевым поднятиям гипновые мхи.

О' 0-7 см Слаборазложившийся растительный опад, буро-коричневая, сырая.

О'' 7-13 см Темно-коричневая, сырая, хорошо разложившаяся часть торфянистой подстилки, гифы грибов.

A2hg(t) 13-17 см Легкий пылеватый суглинок, потечно-гумусовый, кофейно-бурый с сизыми пятнами, сырой, бесструктурный, признаки тиксотропии, которые выражены в повышении подвижности горизонта при физическом воздействии, много округлых конкреций 2-3 мм в диаметре, слабо уплотнен; корни, граница волнистая, переход заметный по цвету.

A2g(t) 17-25 см Легкий суглинок, сизовато-серый с охристыми пятнами, сырой, структура листоватая, признаки тиксотропии, уплотнен, единичные корни, в нижней части охристая кайма с мелкими конкрециями.

A2Bg 25-41 см Легкий суглинок, сизоватый с светло-серыми пятнами, слабовыраженная мелкокомковатая структура, мокрый, мелкие железистые конкреции, переход постепенный заметный по цвету.

B1g 41-70 см Легкий суглинок, сизо-бурый, структура мелкокомковатая с глубиной переходит в плитчатую, железистые конкреции, уплотнен, переход постепенный.

B2g 70-90 см Средний суглинок, темно-бурый с сизым оттенком, структура комковатая, видна белесая кремнеземистая присыпка по граням структурных отдельностей. На глубине 85-90 см поступает верховодка, разрез быстро заплывает.

Сравнительная характеристика торфянисто-подзолисто-глееватых почв в разных биоклиматических подзонах показывает их близкое морфологическое строение. Однако, имеются различия, к северу под подстилочным горизонтом появляются признаки тиксотропии.

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта: «Почвенно-функциональные ресурсы биосферы Европейского северо-востока и биолитогенные экотоны - фундаментальная основа охраны и мониторинга почвенно-земельного фонда» программы ОБН РАН «Биологические ресурсы России: оценка состояния и фундаментальные основы мониторинга».

1. Забоева И.В. Почвы и земельные ресурсы Коми АССР. Сыктывкар, 1975. 345 с

ВЛИЯНИЕ ФЕРМЕНТОВ НА АКТИВНОСТЬ ЛЕСНЫХ ПОЧВ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЯКУТИИ

Богдокумова М.В.

Северо-Восточный федеральный университет, Биолого-географический факультет,
Якутск (Россия)

E-mail: Marianna291289@mail.ru

Почва – это самая богатая по содержанию и разнообразию ферментов природная среда. Основные пути поступления ферментов в почву - это прижизненно выделяемые внеклеточные ферменты микроорганизмов и корней растений и внутриклеточные ферменты, поступающие в почву после отмирания почвенных организмов и растений.

Мы определяли активность гидролитических ферментов азотного и фосфорного обмена уреазы, аспарагиназы, фосфатазы и окислительно-восстановительного фермента каталазы. Эти

ферменты широко распространены в почвах и часто используются для их биохимической характеристики. Наши исследования показали, что активность гидролитических и окислительно-восстановительных ферментов в целом выше в мерзлотных палево-бурых типичных почвах, чем в мерзлотных палево-бурых оподзоленных почвах. Это определяется тем, что мерзлотные палево-бурые типичные почвы имеют более тяжелый гранулометрический состав, обогащены гумусом и характеризуется слабокислой реакцией среды. Лесные почвы характеризуются резким снижением ферментативной активности с глубиной. При этом выявлены некоторые отличия для изученных ферментов: по профилю почв уреазная активность снижается более резко, а аспарагиназная, фосфатазная и каталазная более плавно. Наиболее обогащены ферментами верхние горизонты почвенного профиля O, AO, A и AEL (0-30 см). В изученных нами почвах ярко выражены мерзлотные явления: мелко-бугристый нанорельеф, неровные языковатые границы горизонтов, криотурбации, наличие льдистой мерзлоты на глубине ниже 105 см (в середине июля). Мы изучили ферментативную активность криотурбированных горизонтов AEL и EL в палево-бурой оподзоленной почве. Таким образом, аналогичный по химическому составу почвенный материал, но лежащий на разной глубине в профиле, характеризуется разной ферментативной активностью.

ВЛИЯНИЕ МИКРОБНОГО БИОПРЕПАРАТА НА ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ РАЗНОГО ТИПА

Григориади А.С., Нуриханова Р.Д., Лопатин Н.В.

Башкирский государственный университет, Уфа (Россия)

E-mail: *nysha111@yandex.ru*

В условиях интенсивного развития нефтедобывающей и нефтехимической промышленности, охрана окружающей среды являются серьезной экологической проблемой. Для принятия мер по снижению вредного воздействия и оценке проводимых мероприятий необходим мониторинг состояния загрязненных территорий по многим показателем, среди которых важное место занимает ферментативная активность рекультивируемых почв.

В настоящей работе проведена оценка влияния рекультивации на энзиматическую активность серой лесной почвы и чернозема обыкновенного. В качестве рекультивирующего фактора был выбран препарат-нефтедеструктор Универсал на основе углеводородокисляющего штамма *Rhodococcus equi*.

Уровень каталазной активности в черноземе был выше, чем в серой лесной почве, во всех образцах. Судя по показателям ферментативной активности, процессы самовосстановление после нефтяного загрязнения быстрее начинаются в серой лесной почве, что может свидетельствовать о его большей устойчивости к загрязнению нефтяным углеводородами в отношении данного показателя биологической активности почвы.

Исследование показало, что использование Универсала для рекультивации серой лесной почвы, загрязненной нефтью, не оказало явного стимулирующего влияния на каталазную и дегидрогеназную активность.

Напротив, внесение биопрепарата в загрязненный чернозем обыкновенный положительно влияло на динамику изменения ферментативной активности почвы. При рекультивации активности каталазы значительно превышали фоновое значение при концентрации поллютанта $\geq 4\%$. Максимальный показатель был зарегистрирован в образцах, загрязненный нефтью в концентрации 8%, и превышала показатель в образце незагрязненной почвы в среднем в 1,5 раза. В рекультивируемых пробах чернозема значения активности дегидрогеназы в образцах с высокой концентрации поллютанта (до 8%) в 3,5 раза превышало фоновый показатель.

Таким образом следует отметить, что внесение препарата оказала большой стимулирующий эффект на ферментативную активность чернозема в сравнении с серой лесной почвой. В то время как способность к восстановлению у серой лесной почвы выше.

ПОГРЕБЕННЫЕ ПОЧВЫ ВАЛА АННЫ ИОАНОВНЫ**Саламахин А.Ю.**Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН,
Пушино (Россия)E-mail: *bacon5.antos@gmail.com*

Содружество археологии с науками естественного цикла является отражением общей тенденции в развитии современного научного знания. Возможность прямого анализа состояния почвенно-грунтовой толщи археологических памятников позволяет весьма детально и полно рассмотреть особенности пространственно-временной динамики природной среды и ее отдельных компонентов в различные исторические эпохи.

В период с 2005 по 2009 годы лабораторией археологического почвоведения института физико-химических и биологических проблем почвоведения Российской академии наук были проведены исследования погребенных почв вала Анны Иоанновны. Данный памятник является уникальным археологическим объектом. Его протяженность составляет 64 км, высота в отдельных участках достигает 12 метров. Погребенные почвы памятника имеют хорошую сохранность и надежно датированы. Строительство сооружения было начато Петром Великим в 1717 году и окончено при Анне Иоанновне 1732 году.

Нами были исследованы 6 разрезов погребенных почв и 6 разрезов фоновых почв. Причем географическое расположение вала позволило изучить почвы на основных элементах катенного комплекса левого берега реки Сакарка.

Погребенные и современные почвы представлены каштановыми солонцеватыми почвами и различаются друг от друга на подвидовом уровне.

По сравнению с современными почвы 18 века отличаются большей гумусированностью, меньшей засоленностью и окарбоначенностью профиля.

Выявленные отличия между погребенными и современными почвами свидетельствуют о разности климатических условий времени сооружения вала и современности. По сравнению с настоящим временем 18 век отличался более гумидными условиями, был более холодный и влажный, что соответствует периоду относительного глобального похолодания климата имевшего место на Земле в течение XIV – XIX веков (Малый ледниковый период).

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СЕЗОННЫХ ПОТОКОВ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА
ИЗ ЛЕСНЫХ ПОЧВ ЮЖНОГО ВЬЕТНАМА****Авилов В.К.**Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН,
Пушино (Россия)E-mail: *vitavilov@gmail.com*

Южная часть Вьетнама находится в зоне муссонного тропического климата, характеризующегося четко выраженной сезонностью. Годовая сумма осадков составляет 2450 мм, из которых 92% выпадает во влажный сезон – с мая по ноябрь. Цель настоящего исследования состояла в сравнительной оценке эмиссии CO₂ из почв муссонного долинного высокоствольного тропического леса национального парка Кат Тьен (южный Вьетнам) во влажный и сухой сезоны.

Определение эмиссии CO₂ с поверхности почв проводились в ноябре 2010 г. и феврале 2011 г. камерным методом на 6 площадках, отражающих наиболее типичные биогеоценозы национального парка и различающихся по типовой принадлежности почв или положению в рельефе.

Проведенные исследования показали значительные сезонные различия в скорости эмиссии CO₂ с поверхности изученных почв. Так, во влажный сезон 2010 г. поток из андосолей (*Andosols*) в зависимости от типа древостоя составил: 148.6±10.7 мг C/m²час – под авзелией (*Afzelia xylocarpa* Kurz.), 179.9±23.3 мг C/m²час – под лагерстремией (*Lagerstroemia calyculata* Kurz.) и 193.8±9.9 мг C/m²час – под фикусом (*Ficus sp.*). В диптерокарпусовых древостоях (*Dipterocarpus sp.*) скорость потока CO₂ из почв изменялась от 131.5±10.7 мг C/m² час – на лептосолях (*Leptosols*) до 214.2±22.0 мг C/m² час – на флювисолях (*Fluvisols*). В середине сухого

сезона 2011 г. поток CO_2 из лесных почв заметно снизился: на андосолях он составил 32 – 48% (в зависимости от типа древостоя), на лептосолях – 52%, а на флювисолях – 72% от значений влажного сезона.

Таким образом, проведенные исследования выявили значительные сезонные колебания скорости эмиссии CO_2 с поверхности почв муссонного тропического леса, которые, при незначительных сезонных колебаниях температуры почвы были обусловлены главным образом различиями в увлажнении почв.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТЕМПЕРАТУРНОГО КОЭФФИЦИЕНТА Q_{10} ДЛЯ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА ДЕРНОВО- ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЫ

Партыка Т.В., Бедерничек Т.Ю.

Львовский национальный университет им. Ивана Франко; ЧП «Экобескид»,
Львов (Украина)

E-mail: *tetyana.partyka@gmail.com*

Поток CO_2 с поверхности почвы является интегральным показателем ее биотической активности и одним из основных параметров для оценки трансформации органического вещества в наземных экосистемах. Изучение почвенной эмиссии диоксида углерода позволяет определить особенности качественного состава органического вещества.

Исследования выполнены на многосекционном экополигоне, расположенном в старовозрастной (более 200 лет) влажной грабовой дубраве урочища «Корналовичи» на дерново-подзолистых почвах (49°31'56" Св. Ш., 23°19'48" Вост. Д) во Львовской области (Украина). Отбор проб производился в конце периода вегетации (сентябрь 2010 года) в пятикратной повторности. Образцы инкубировали при температурах 15 и 25°C на протяжении 24 часов. Интенсивность эмиссии CO_2 определяли методом инфракрасного анализа. Расчет коэффициента Q_{10} производили согласно уравнению Аррениуса.

Установлено, что в исследуемых почвах стабилизация интенсивности эмиссии CO_2 происходит на 5-6 час после начала инкубации. Коэффициент Q_{10} , рассчитанный для этого периода характеризует стационарное состояние исследуемой термодинамической системы. Так, в почвах старовозрастной дубравы значение Q_{10} составило 2,34, пашни – 1,94, сенокоса – 1,53, вырубки – 1,56.

Изучена динамика температурного коэффициента Q_{10} , которая указывает на значительные различия в качественном составе органического вещества исследуемых почв. В частности, в почве дубравы в течение первого часа инкубации не обнаружено увеличения температурного коэффициента, но уже со 130 минуты начинаются высокоамплитудные изменения величины Q_{10} с максимумом от 150 до 270 минут. В то же время, на пашне уже на протяжении первых 30 минут наблюдаются значительные колебания величины температурного коэффициента, которые резко интенсифицируются на 150-180 и продолжаются до 280 минуты.

Таким образом, анализ динамики изменения значения температурного коэффициента Q_{10} в инкубационных экспериментах позволяет оценить качество почвы как субстрата и энергопластического буфера в системе почва-микроорганизмы-растение.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ФАКТОРОВ НА БИОДЕГРАДАЦИЮ Н-ТРИДЕКАНА В ПОЧВЕ

Бондырев М.Л., Халилова А.Ф.

Казанский (Приволжский) федеральный университет,
Отдел «Химия окружающей среды», Казань (Россия)

E-mail: *mbondyrew@gmail.com*

Одним из актуальных вопросов природоохранного характера является предотвращение и ликвидация загрязнения природных объектов нефтью и продуктами ее переработки. Наиболее опасными компонентами нефти для почвенной биоты являются алифатические углеводороды.

В связи с этим нами был выбран для моделирования представитель алифатического ряда *n*-тридекан.

Изучена биodeградация тридекана в почве при добавлении различных добавок в количестве 5% от веса почвы. И уровня загрязнения в 2% от массы почвы. Удобрения вносились из расчета 0,6г/кг почвы.

Загрязнение *n*-тридеканом почвы приводит к активизации почвенной микрофлоры, что видно из значений относительного дыхания (почва+УВ)/почва, равным 3. При этом увеличение интенсивности дыхания связано с биodeградацией УВ микроорганизмами. Значение скорости биodeградации составили 0,36 г/100г почвы за 3 недели.

Добавка минералов таких как песок, глина, ЦСП и МЦСП, снижает эффект влияния загрязнения на респираторную активность микроорганизмов в 1,6-2 раза по сравнению с почвой без добавок. Однако не происходит увеличения скорости биodeградации УВ в данных опытах. Что связано с недоступностью питательных веществ.

Добавка природного торфа вызвала увеличение темпов биodeградации в 2раза, что связано с наличием в природном торфе дополнительной микрофлоры. Иная картина наблюдалась при добавке автоклавированного торфа, в котором отсутствует микрофлора и высвобождены питательные вещества. Автоклавированный торф ускоряет темпы биodeградации в 3 раза. Добавка автоклавированной коры оказала заметное влияние, на дыхание, снизив его в 3 раза. И как следствие снизила темпы биodeградации в 1,8 раза.

Добавка минеральных удобрений приводит к значительному увеличению почвенного дыхания при загрязнении в 2раза. Так как минеральные удобрения стимулируют микробную активность в почве. И как следствие наличие питательных веществ обуславливает высокие темпы биodeградации, возросшие в первые три недели в 2 раза.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ДОЖДЕВЫХ ЧЕРВЕЙ РОДА *EISENIA*, КУЛЬТИВИРУЕМЫХ В ПОЧВОГРУНТАХ С РАЗНЫМ СОДЕРЖАНИЕМ КАЛЬЦИЯ

Петрова О.Н., Петроченко К.А., Никифорова Е.Ю., Куровский А.В., Якимов Ю.Е.
Научный исследовательский Томский государственный университет, Томск (Россия)

E-mail: olga.n.petrova1990@yandex.ru

Вопрос о необходимости внесения в субстраты вермикюльтивирования солей кальция, об их видах и количествах является актуальным, но остается крайне мало изученным. В природных популяциях червей в качестве надежного и постоянного источника кальциевых солей выступает листовая опад лесной подстилки. Искусственные субстраты для вермикюльтивирования такого источника зачастую лишены. Особенно это касается грунтов, обогащенных некоторыми видами торфа.

В работе представлены данные по исследованию прироста биомассы, содержания ионов кальция и сухого вещества в тканях, а также – рН и электропроводности тканевых экстрактов дождевых червей *Eisenia fetida andrei* S. и червей из местных диких популяций рода *Eisenia*, культивируемых в почвогрунтах с добавлением Ca(OH)₂ и других кальцийсодержащих веществ.

В результате проведенной работы обнаружили нелинейную кинетическую зависимость прироста биомассы дождевых червей от концентрации вносимого кальция.

Максимальным приростом биомассы характеризовалась группа червей, выращиваемых на субстратах с внесением извести в количестве 0,1% – 0,3%.

Было установлено, что при отсутствии экзогенного внесения извести наблюдается слишком большое варьирование рН экстрактов почвогрунтов в ходе вермикюльтивирования, что может отрицательно сказываться на некоторых параметрах физиологического гомеостаза организма дождевых червей.

Предполагается, что максимум абсолютного прироста биомассы в концентрационном диапазоне кальция 0,1% – 0,3%, может быть связан с достижением оптимального уровня рН-гомеостаза в организме червей. Вероятно, положительное влияние кальциевых соединений в определенном диапазоне концентраций на жизнедеятельность червей красного калифорнийского гибрида и червей других видов рода *Eisenia*, обусловлено, в том числе и выраженными буферными свойствами этих веществ.

ИЗУЧЕНИЕ ПОТЕНЦИАЛА СТИМУЛИРОВАНИЯ РОСТА РАСТЕНИЙ БАКТЕРИЯМИ РОДА *AZOSPIRILLUM* В ПОЧВАХ НИЖНЕГО ПОВОЛЖЬЯ

Попова И.А., Филипъчева Ю.А., Бурыгин Г.Л.

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН; Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов (Россия)

E-mail: *iridecol@mail.ru*

Решение проблемы увеличения урожайности сельскохозяйственных культур является одной из важнейших задач агробиотехнологии. Перспективным в данной области может быть поиск эффективных подходов в земледелии, с использованием феномена ассоциативного взаимодействия бактерий и растений. Азотфиксирующие ризобактерии рода *Azospirillum* являются признанной моделью в исследованиях эффектов растительно-микробной ассоциативности, благодаря их способности увеличивать продуктивность сельскохозяйственных растений.

Целью настоящей работы являлось изучение распространения бактерий рода *Azospirillum* в почвах Саратовской области и их рост-стимулирующей активности по отношению к растениям. В модельных экспериментах по изучению влияния азоспирилл на рост растений (пшеницы, кукурузы, подсолнечника и рапса) использовали почвы: солонец лугово-каштановый, каштановая типичная, чернозем обыкновенный, а в качестве «бедной» почвы, промытый речной песок.

В результате экспериментов показано присутствие азоспирилл в темно-каштановой, черноземе типичном, аллювиальной, солонце, серой лесной почвах Саратовской области. Наибольшее содержание отмечено в аллювиальной ($8,8 \times 10^8$ кл/г) и серой лесной почвах ($7,5 \times 10^8$ кл/г); наименьшее – в темно-каштановой ($1,1 \times 10^8$ кл/г). Выявлено преобладание азоспирилл серотипа Sp245, во всех исследованных типах почв, при этом чернозем южный и серая лесная почва демонстрировали наибольший уровень содержания. Азоспириллы серотипа Sp7 в большем количестве встречаются в черноземе южном, а азоспириллы серотипа S-17 – в аллювиальной и серой лесной почве.

Показано, что во всех исследованных почвах Нижнего Поволжья штамм *A. brasilense* SR75 (серотип Sp245) обладает выраженной рост-стимулирующей активностью по отношению к различным растительным партнёрам.

ОБРАБОТКА СЕМЯН ЛЮЦЕРНЫ ПОСЕВНОЙ КАК ФАКТОР ИНТЕНСИВНОГО РАЗВИТИЯ КОРНЕВОЙ СИСТЕМЫ

Пташеч О.В.

РУП «Институт мелиорации», Минск (Беларусь)

E-mail: *Olga_Ptashec@mail.ru*

Благоприятное воздействие люцерны на почву сделали ее одним из ценных предшественников для большинства сельскохозяйственных культур. Люцерна улучшает физические, химические и биологические свойства почвы, обогащает ее азотом, тем самым повышает ее плодородие, а также она уменьшает действие водной и ветровой эрозии. Одним из приемов повышения продуктивности люцерны является применение регуляторов роста.

Цель исследований – установить наиболее оптимальный вариант предпосевной обработки семян люцерны посевной (сорт Бируте) регуляторами роста, обеспечивающий дружные всходы, более интенсивное развитие корневой системы в начальный период роста, тем самым улучшая защиту почвенного слоя от дефляции. В лабораторных исследованиях семена обрабатывали по следующей схеме: 1) контроль (дистиллированная вода); 2) Эпин (3-4 мл/т); 3) Экосил (100мл/т); 4) В+Мо (борная кислота – 20-30 г/ц; молибденовокислый аммоний 20-30 г/ц); 5) В+Мо+Эпин; 6) В+Мо+Экосил. Семена проращивали в чашках Петри в термостате при температуре 26 0С в трехкратной повторности. Морфологические параметры проростков оценивали на вторые сутки.

Наиболее эффективным был вариант с обработкой семян Экосилом, как по показателям интенсивности всходов (70,0%) на вторые сутки, так и по длине корешка в начальный период роста (1,26 см). Это позволит проросткам люцерны быстрее укорениться и использовать необходимые питательные вещества из почвы для дальнейшего развития растений. Необходимо так же отметить вариант с использованием бора и молибдена, в котором показатели дружности всходов не существенно уступают варианту с использованием Экосила 68,3% и 0,89 см соответственно. Низкая эффективность на изучаемые параметры была на варианте комплексного использования микроэлементов с регуляторами роста. Так, при обработке эпином проросших семян было 56,7%, со средней длиной корешка 0,56 см, а экосилом 48,3% и 0,39 см соответственно.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ПОТОКОВЫХ ПОЧВЕННЫХ СТРУКТУР В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ЗЕМЛЕДЕЛИИ

Шатохин А.В., Степанова В.И.

ФГОУ ВПО Орловский государственный аграрный университет, Орел (Россия)

E-mail: *agroecology@inbox.ru*

Задача нашей работы – установить степень влияния рельефа на выравненность различных агрофитоценозов почвенного покрова с помощью метода потоковых почвенных структур. Решалась поставленная задача на экспериментальном участке ООО «Тула Машзавод» Чернского района Тульской области. Преобладающие почвы - темно-серые лесные.

Для оценки влияния структуры почвенного покрова на состояние посевов зерновых нами составлена потоковая почвенная карта $M=1/10000$, на основе которой были определены стационарные точки сопряженного отбора почвенных и растительных образцов. На каждом поле точки отбора проб располагались на повышенных и пониженных элементах потоков, представляющих зоны буфуркации (деления) потоковой системы. В нашем случае они представляют микрорельеф полей (превышения между понижениями и повышениями не превышает 1м). Расстояния между точками отбора определяются плановой шириной потоков - от нескольких и до десятков метров. Анализ почвенных и растительных образцов проводили по общепринятым методикам.

Сравнение агрохимических показателей почвы по элементам потоковых структур показывает, что на повышениях (потоках) они имеют более высокие значения по сравнению с понижениями, соответственно выравненность продуктивности агрофитоценозов в пространстве определяется структурой почвенного покрова, имеющего строгую приуроченность к элементам потоковых структур.

ПАЛЕОКРИОГЕНЕЗ И ЗАКОНОМЕРНОСТИ ПРОСТРАНСТВЕННОГО ВАРЬИРОВАНИЯ СВОЙСТВ ЧЕРНОЗЕМОВ ЦЕНТРА РУССКОЙ РАВНИНЫ

Вагапов И.М.

Пушинский государственный университет; Учреждение Российской академии наук
Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН,
Пушино (Россия)

E-mail: *vagapovim@mail.ru*

Пространственная вариабельность магнитной восприимчивости (МВ), предположительно обусловленная палеокриогенезом, изучалась на черноземах Тульской области, в большом количестве содержащих хорошо сохранившиеся реликты палеокриогенеза, а также погребенные почвы. Съемка МВ проводилась каппаметром КТ-6 по регулярной сетке с ячейками 20×20 см.

Статистический анализ данных распределения МВ для шести линий опробования показал достаточно высокую вариабельность, которая изменяется от незначительной – в гумусовой части современного чернозема, до значительной – в гор. [А1]. Вниз по профилю МВ сначала закономерно уменьшается, но на глубине 200-270 см снова увеличивается до значений МВ в

современной почве. Высокая дисперсия в гор. [A1] обусловлена присутствием фаз, обладающих аномально высокими значениями МВ.

Для этих же линий были построены семивариограммы – графики зависимости полудисперсии МВ от величины шага опробования. Семивариограмма для линии опробования вдоль гор. А1_{ст.пах.} отражает 100% «нагетт»-эффект, что свидетельствует об отсутствии пространственных зависимостей. В горизонтах А1А2 и В1А1А2 ранг составил 250-290 см, а в гор. [А1] – 150 см, т.е. максимальное варьирование МВ в погребенной почве наблюдается на расстояниях вдвое меньших, чем в вышележащей толще. На расстояниях превышающих ранг, семивариограммы носят периодический характер, что предположительно связано с наличием регулярно повторяющихся элементов в ландшафте.

Итак, в результате анализа семивариограмм, топоизоплет МВ и морфологии профиля стало возможным выявить ряд признаков, которые не могли быть выявлены морфологически. Каппаметрия позволила: дифференцировать профиль на блочное повышение и межблочное понижение; обнаружить в районе межблочного понижения субгоризонтальный прослой – возможно самостоятельный генетический горизонт; обнаруженная на топоизоплотах клиновидная структура, расположенная ниже отчетливо выраженных морфологически солифлюкционных нарушений, является более древней и оказывает сильное влияние на современные процессы, в частности окислительно-восстановительные.

Работа выполнена при поддержке РФФИ № 11-04-00354

ОСОБЕННОСТИ ПОДБОРА МНОГОЛЕТНИХ ЗЛАКОВЫХ ТРАВ НА КИСЛЫХ ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТЫХ ПОЧВАХ В УСЛОВИЯХ БЕЛОРУССКОГО ПОЛЕСЬЯ

Сорока А.В., Гапонюк А.Н., Медведев К.Б.

Полесский аграрно-экологический институт НАН Беларуси, Брест (Беларусь)

Компания ДЛФ Трифолиум А/С (Дания)

E-mail: gan1502@rambler.ru

Кислотность – важнейшая характеристика почвы и экологический фактор, который необходимо учитывать в практике сельского хозяйства. Повышенная кислотность почв ухудшает рост и развитие растений, подавляет жизнедеятельность полезных бактерий, способствует развитию почвенных грибов, ухудшает физико-химические свойства почвы. Одной из причин быстрого вырождения многолетних трав является повышенная кислотность почвы. Систематическое применение аммиачных форм азота (аммиачная селитра, серноокислый аммоний) и хлоридов калия (хлористый калий), а также естественная потеря кальция из почвы (унос многолетних трав) сильно ухудшают ее физические свойства. В результате почва подкисляется, многолетние травы становятся изреженными, чувствительными к засухе, их вытесняют сорные растения кислых почв.

Исследования по устойчивости видов и сортов многолетних злаковых трав к кислой почве проводились в 2010 году на землях ГУСП «Племзавод Мухавец» Брестского района. Почва опытного участка дерново-подзолистая песчаная, подстилаемая с глубины 0,3 м рыхлым песком. Мощность пахотного горизонта 20 см. Кислотность почвы $pH_{KCl} = 4,0$. Результаты исследований показали, что виды и сорта многолетних злаковых трав отличаются различной реакцией при возделывании на кислых почвах. На почвах с повышенной кислотностью и низкой влагообеспеченностью при составлении травосмесей из многолетних трав, для получения стабильной продуктивности рекомендуется включать в севооборот злаковые травы с высоким темпом роста в первый год жизни: райграс гибридный, фестулолиум и райграс пастбищный. При включении данных видов трав в травосмесь необходимо учитывать их сортовые особенности на устойчивость к кислым почвам. Среди сортов райграса пастбищного необходимо включать для посева Dexter, Tivoli, Alecander, фестулолиума – Achilles, Lofa, Perseus, райграса гибридного – Solid, Fortimo. Неустойчивость к кислой почве отмечалась у мятлика лугового, тимофеевки луговой, овсяницы красной, овсяницы луговой, овсяницы тростниковой, ежи сборной, костреца безостого.

ПЛОТНОСТЬ ТВЕРДОЙ ФАЗЫ АНТАРКТИЧЕСКИХ И СУБАНТАРКТИЧЕСКИХ ПОЧВ

Мухаметова Н.В.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: *nadiamucha_89@mail.ru*

Свободная ото льда часть Антарктиды, пригодная для почвообразования, приурочена в основном к континентальному побережью, и расположена на Антарктическом полуострове и в Антарктических оазисах. Для почвенно-генетических и географических исследований особые интерес представляют - оазис Холмы Ларсерманн (Восточная Антарктика) и субантарктический о-в Кинг-Джордж (Западная Антарктика). Эти две территории максимальны по площади свободной суши, а также испытывают существенное антропогенное воздействие, поскольку здесь расположены наиболее крупные объекты российской Антарктической инфраструктуры. Кроме того, оба объекта характеризуются примерно одним и тем же возрастом голоценовой дегляциации.

Цель работы - установление величин плотности твердой фазы антарктических и субантарктических почв с целью установления природы почвенного мелкозема.

Работа выполнена на основе материалов 53-й и 55-й Российской Антарктической экспедиций, пробы почв, их описания и фотографические материалы предоставлены участником экспедиций Е.В. Абакумовым.

Почвы Холмов Ларсерманн представлены образцами реголита, техногенного грунта и гидроморфной почвы побережья озера. Почвы о-ва Кинг-Джордж представлены образцами разнообразных литоземов и свежей морены. Для определения плотности твердой фазы использовали пикнометрический метод (Растворова, 1983).

Анализ полученных результатов показал, что почвы Холмов Ларсерманн характеризуются величинами плотности твердой фазы от 2,63 до 2,82 г/см³, в то время как литоземные почвы о-ва Кинг-Джордж характеризуются следующим диапазоном величин: 2,00-2,43 г/см³, в то время как для образца свежей морены-2,69г/см³.

Меньшая плотность твердой фазы почв субантарктического о-ва Кинг-Джордж связана, по всей вероятности, в морском генезисом осадков террас острова и долгой историей экзогенеза во влажных условиях климата.

МИКРОФЛОРА РЕЛИКТОВЫХ ОСТЕПНЕННЫХ ПОЧВ СЕВЕРО-ТАЕЖНОЙ ПОДЗОНЫ ЯКУТИИ

Мамаева Е.Е.

Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова,
Биолого-географический факультет, Якутск (Россия)

E-mail: *degmeg@mail.ru*

Своеобразие климатических и мерзлотных условий региона обуславливают весь почвообразовательный процесс, приводящий к формированию уникальных типов почв. Степные участки на территории Якутии встречаются неравномерно и являются реликтами позднеплейстоценовой эпохи. Биологические характеристики почв: численность и состав микрофлоры, ферментативная активность являются факторами, определяющими плодородие почв и могут быть использованы для его диагностики. Нами изучена численность основных трофических групп и состав микробного комплекса в мерзлотных остепненных почвах и зональных криоземах.

Результаты микробиологических исследований показали, что изучаемые почвы обладают средней биогенностью. Микрофлора остепненных почв и криоземов представлена преимущественно гетеротрофами, численность которых в верхних горизонтах почв лежит в диапазоне от 2 до 14 млн. КОЕ/г почвы. Количество олигонитрофилов в обоих типах почв меньше и колеблется 0,6-4,5 млн. КОЕ/г. Численность микроорганизмов, использующих минеральный азот, также не велика и составляет 2-4 млн. КОЕ/г в криоземах и 0,5-3 млн. КОЕ/г – в остепненных. Актиномицеты в остепненных почвах более выражены по профилю и численности и распространяются до глубины 30-40 см, в криоземах – ограничены лишь

органогенным слоем. Во всех типах почв наиболее малочисленными являются грибы, количество которых не превышает 0,05 млн. КОЕ/г почвы.

Состав микробного комплекса изученных почв в определенной степени отражает их трофность и характер разложения органического вещества. Доминирование гетеротрофов свидетельствует об обогащенности криоземов и остепненных почв доступной для микроорганизмов органикой. Преобладание в остепненных почвах актиномицетов, в составе микроорганизмов использующих минеральный азот, указывает на более глубокие процессы трансформации растительных остатков в данных почвах.

МИКРОФЛОРА МЕРЗЛОТНЫХ ЛУГОВО-ЧЕРНОЗЕМНЫХ ПОЧВ И ВЛИЯНИЕ НА НИХ ВЫБРОСОВ АВТОТРАНСПОРТА В Г. ЯКУТСКЕ

Наумова М.С.

Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова,
Биолого-географический факультет, Якутск (Россия)

E-mail: naumova87mari@mail.ru

В настоящее время все большую актуальность приобретает вопрос об устойчивости почв к избыточному поступлению одной из самых распространенных групп загрязняющих веществ – тяжелые металлы. Нами изучена влияние выбросов автотранспорта на численность и состав микроорганизмов мерзлотных лугово-черноземных почвах г. Якутска. Почвенные пробы для химического и микробиологического анализа отбирали с глубин 0-10 и 10-20см. на расстоянии 2, 5, 10, 20, 50, 100, 250м от наиболее загруженной автомобилями трассы «Аэропорт-Якутск». Наши исследования показали, что в почвах, расположенных на расстоянии 2-250м от автотрассы «Аэропорт-Якутск» численность микроорганизмов колеблется в диапазоне 105-106 КОЕ/г и в целом на наиболее загрязненных участках не уменьшается. Количество таких групп как гетеротрофы, бактерии, использующие минеральный азот, и грибы, даже возрастает на расстоянии 2-10 м от источника загрязнения. Однако, значительно изменяется таксономический состав микробного комплекса. Расчеты показали, что в наиболее загрязненных почвах, находящихся в 2-20 м от автотрассы, доля актиномицетов снижается до 12,5-20%, в сравнении с почвами, более удаленными от автотрассы на 50-250м, где их число составляет 40-50%. В загрязненных почвах повышается доля гетеротрофных бактерий (82%) и грибов (0,03%). В относительно чистых почвах микробный комплекс более сбалансирован, содержание гетеротрофов в нем равняется ~ 60%, актиномицетов ~ 40%, а грибов ~ 0,01%, что соответствует составу микробоценоза в незагрязненных мерзлотных лугово-черноземных почвах. Таким образом, мы показали, что под воздействием выбросов автотранспорта изменяется прежде всего таксономический состав микрофлоры, а численность микроорганизмов существенно не уменьшается.

ЭФФЕКТИВНОЕ ПЛОДОРОДИЕ ПОЧВЫ ПРИ ЗАПАШКЕ СОЛОМЫ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ С ЦЕЛЛЮЛОЗОЛИТИКОМ

Колесникова М.В., Безлер Н.В.

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свёклы им.

А.Л. Мазлумова, пос. Рамонь (Россия)

E-mail: emarvlad@mail.ru

Интенсивная минерализация органического вещества и преобладание выноса питательных элементов являются основными причинами снижения плодородия почвы.

Решением этой проблемы может быть использование в качестве органических удобрений соломы зерновых культур. Ускорить её разложение в почве можно с помощью специализированных микроорганизмов.

В лаборатории эколого-микробиологических исследований почвы ВНИИСС выделили из чернозема выщелоченного аборигенный штамм микромицета-целлюлозолитика. При его использовании в комплексе с азотом и питательной добавкой (ПД) скорость разложения соломы увеличилась на 50% по сравнению с естественным протеканием процесса деструкции.

В 2007-2008 гг. солому озимой пшеницы (4 т/га) запахивали совместно с азотом (40 кг д.в./га), микромицетом-целлюлозолитиком и ПД, и наблюдали за изменениями, происходящими в структуре микробного сообщества, в основном за той его частью, которая формирует эффективное плодородие.

Результаты исследований показали, что внесение соломы совместно с микромицетом, азотом и ПД способствовало росту численности в почве diaзотрофов на протяжении всего периода вегетации: в мае на 66,7%, в июле в 8 раз, а в сентябре на 40,0%, а фосфобактерий в мае в 1,5, в июле – в 7, а в конце вегетационного периода – в 7,5 раза.

Совместная заплата соломы и других компонентов способствовала увеличению содержания в почве щелочногидролизуемого азота в среднем на 2-5 мг, подвижного фосфора – на 70 мг, а обменного калия – на 4-5 мг в 1 кг почвы.

Таким образом, совместное использование соломы озимой пшеницы, микромицета-целлюлозолитика, азота (40 кг д.в./га) и питательной добавки, стимулирует жизнедеятельность микробиоты почвы, способствовало повышению эффективного плодородия почвы.

РЕДКИЕ ПОЧВЫ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН

Александрова А.Б., Иванов Д.В., Кулагина В.И., Григорьян Б.Р.

Институт проблем экологии и недропользования Академии наук Республики Татарстан,
Казань (Россия)

E-mail: *adabl@mail.ru*

На основе изученного опыта создания Красных книг субъектов РФ (Ленинградская, Оренбургская, Белгородская области), определены критерии выделения эталонов, редких и исчезающих почв. В список редких почв, включаются почвы, занимающие небольшие площади, формирующиеся на редких почвообразующих породах, в необычных гидротермических условиях, со сложной историей развития, отразившейся в строении профиля и свойствах почвы.

В рамках создания и разработки Красной книги почв Республики Татарстан (РТ), по данным экспедиционных исследований 2009-2010 гг., в категорию редких были отнесены следующие почвы:

1. Лугово-черноземная на элювии некарбонатных мезозойских отложений. Почва формируется на малораспространенных, некарбонатных глинах мезозойских пород лишь на крайнем юго-западе республики. Характерной особенностью является камни некарбонатной природы с хорошо выраженными ядрами кристаллизации на изломе, встречающиеся с горизонта В.

2. Подзолистая супесчаная на эоловых песках. Подзолистые почвы формируются только в северной части республики на сохранившихся участках южной тайги и на территории Раифского участка Волжско-Камского заповедника.

3. Дерново-подзолистая псевдофибровая на аллювиально-делювиальных отложениях. Своеобразное сочетание процессов почвообразования обуславливает образование волнообразных новообразований - псевдофибр. Они имеют особое научное значение и формируются на территории Раифского участка Волжско-Камского заповедника.

4. Болотная низинная торфяно-перегнойная почва на мелких торфах. В связи недостатком условий для развития болот в РТ, их незначительной площадью (менее 1% территории республики) и малой мощностью торфяных залежей (не более 1 м), к категории редких предлагается отнести болотные почвы Кулигашской низины Актанышского района РТ.

К ВОПРОСУ ОБ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РАСТВОРОВ ПИРОФОСФАТА НАТРИЯ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛАБИЛЬНЫХ ФОРМ ГУМУСА

Лопарева Н.Г.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: *lopareva.natali@yandex.ru*

Гуминовые вещества (ГВ) играют в биосфере важную роль. От содержания, состава и структуры ГВ зависят уровень плодородия и экологическая устойчивость почвы. ГВ разделяют на лабильные и устойчивые формы, их содержание и соотношение определяют уровень плодородия почвы. Лабильные формы гумуса, в первую очередь гуминовые кислоты (ГК), выполняют защитную функцию ко всей системе ГВ. Недостаток лабильных форм гумуса способствует разложению устойчивых форм, вызывая дегумификацию почвы. Степень лабильности обратно пропорциональна глубине гумификации (химической зрелости) органического вещества.

Существуют разногласия в определении лабильных форм гумуса, что затрудняет их изучение. Большинство исследователей для определения лабильного гумуса использует раствор пирофосфата натрия при рН 10 и рН 7. Низкая щелочность данных растворов позволяет этим исследователям отнести их к мягким экстрагентам. Однако в литературе есть сведения, что эти вытяжки извлекают не лабильные, а устойчивые формы гумуса. С целью внести ясность в данный вопрос, проведено исследование состава ГВ, выделяемых из почвы пирофосфатом натрия.

Исследовали особенности извлечения ГВ децимолярными растворами пирофосфата натрия (рН от 5 до 13). Для сравнения исследовали децимолярные растворы гидроксида натрия, традиционно используемые для извлечения ГВ. В вытяжках определяли содержание гуминовых и фульвокислот; глубину гумификации ГВ оценивали по оптической плотности. Изучали 8 типов почв, повторность эксперимента 4-кратная, аналитическая повторность 2-кратная.

Показано, что независимо от типа почв, пирофосфатом натрия всегда экстрагируются ГК с высокой глубиной гумификации. Максимальной глубиной гумификации характеризуются ГК, извлекаемые из почвы раствором пирофосфата натрия с рН 10 -11. Глубина гумификации ГК, экстрагируемых пирофосфатом натрия, выше, чем раствором гидроксида натрия. Подтверждено, что пирофосфат натрия не должен входить в состав экстрагентов для извлечения из почвы лабильных ГВ.

ЭКОМОНИТОРИНГ ПОЧВЕННОГО ПОКРОВА ВБЛИЗИ РАДИАЦИОННОГО ОБЪЕКТА

Селюков И.В., Косарев А.В.

Саратовский государственный технический университет, Саратов (Россия)

E-mail: *ilyaguf@mail.ru*

Город Димитровград – административный центр Мелекесского района Ульяновской области, расположенный на левом берегу Куйбышевского водохранилища при впадении в него реки Большой Черемшан.

Основным градообразующим предприятием Димитровграда является ОАО «ГНЦ НИИАР». Основой института является 7 исследовательских реакторов, работающих на ураново-плутониевом топливе.

Нами была поставлена задача радиационно-экологического мониторинга территории, прилегающей к ОАО «ГНЦ НИИАР». Нами проводилось изучение активности радионуклидов, содержащихся в почвенном покрове данных территорий. Зона, в которой проводился контроль объектов окружающей среды, представляет собой кольцо радиусом 5 км – санитарно-защитная зона и кольцо радиусом 30 км – зона наблюдения.

Отбор проб проводился в 7 пунктах постоянного наблюдения. Анализ проб проводился на гамма-спектрометре с полупроводниковым детектором.

Результаты исследования показали, что в почвенном покрове содержатся: Cs-137, Cs-134, Eu-152+154, Co-60, Mn-54. Данные радионуклиды имеют техногенное происхождение. Самая высокая активность Cs-137 составила 68 Бк/кг. Далее по мере удаления от промплощадки института активность его снижается и не превышает 10 Бк/кг.

В целом же активность всех радионуклидов техногенного происхождения во всех точках отбора невелика и редко превышает 10 Бк/кг. Результаты проведенного исследования показали, что активность радионуклидов в почвенном покрове не превышает допустимых значений.

ДИНАМИКА ПОДВИЖНЫХ ФОРМ ФОСФОРА В ПОЧВЕ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ТОРФОВИВИАНИТА И ФОСФОРНЫХ УДОБРЕНИЙ

Базар С.Н.

РУП «Институт мелиорации», Минск (Беларусь)

E-mail: sweta_08@mail.ru

Проблема фосфатного питания на антропогенно-преобразованных торфяных почвенных комплексах обусловлена как их низким содержанием в почве (до 0,3%), так и недостаточной обеспеченностью фосфорными удобрениями растениеводства. В связи с этим, в качестве дополнительных резервов элементов минерального питания растений могут быть природные агрохимические ресурсы. Так, на низинных болотах встречаются торфы, содержащие до 10-12% P_2O_5 , что обусловлено содержанием в них зерен вивианита (фосфорнокислой закиси железа $Fe_3((PO_4)_2) \cdot 8H_2O$). Последние и позволяют рассматривать данные торфяники в качестве комплексных природных органо-минеральных удобрений (торфовивианитов).

Динамика содержания подвижных форм фосфора при внесении торфовивианита и фосфора минеральных удобрений в почву получены в ходе проведения лабораторных исследований. Отбор почвенных проб проводили через 10, 20, 30 и 40 суток, при их анализе использовали общепринятые методы. В лабораторных исследованиях использовали антропогенно-преобразованную торфяную почву с содержанием органического вещества 15-20%, P_2O_5 (по Кирсанову) 16,65-17,15 мг/кг; K_2O (по Кирсанову) 36,4-37,5 мг/кг. В ходе проведенных исследований было установлено, что высвобождение фосфора торфовивианита происходит более длительный период (продолжительно). Максимальный пул подвижного фосфора в почве отмечен в первые 30 и 20 дней после внесения фосфора торфовивианита (24,5-24,9 мг/кг) и минеральных удобрений (24,6-26,7 мг/кг) соответственно. На 40 сутки содержание снижается до уровня 22,8-23,1 мг/кг в обоих случаях.

Таким образом, использование торфовивианита в качестве фосфорного удобрения при возделывании сельскохозяйственных культур является целесообразным. Применять его необходимо в основную обработку почвы в год посева.

ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЧВ ПОД РАЗЛИЧНЫМИ КУЛЬТУРАМИ

Кузьмина К.И.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань (Россия)

E-mail: ksusha177@bk.ru

Известно, что ферменты увеличивают скорость протекания химических реакций на несколько порядков. На примере каталазы показано влияние возделываемых сельскохозяйственных культур на активность фермента в серой лесной почве опытных полей ТатНИИСХ под картофелем, клевером и озимой рожью. Исходя из полученных данных, показана роль, вносимая ферментативным катализом, в формировании почвенного плодородия.

Наименьшая активность каталазы наблюдалась под картофелем, она составила 74% активности под озимой рожью и 87% под клевером. Использование органических удобрений (сидерата гороха) повышает ферментативную активность почвы, не смотря на подкисление почвенного раствора, вследствие разложения растительных тканей и выделения в почву, как ферментов, так и пероксида водорода. Минеральные же удобрения оказывают лишь косвенное действие, изменяя реакцию почвенного раствора, а также посредством действия на растения.

Оптимальное значение pH для каталазы составляет 6,86. Но опытная картина такова, что максимальная ферментативная активность наблюдается при меньших значениях pH – 6,3 для водной вытяжки и 5,8 для солевой – из-за использования органических удобрений. Таким образом, система удобрений влияет на активность ферментов куда больше, чем реакция среды.

Количество фиксируемой почвой каталазы зависит от содержания иловой и пылевой фракций почвы, причем наибольшую роль играет содержание ила (озимая рожь – 21,49%, картофель – 14,68%, клевер – 17,34%).

Каталаза, активно разлагая пероксид водорода, способствует деятельности микрофлоры и протеканию процессов разложения органических остатков, а также переводу их в гумус почвы.

Таким образом, показатель плодородия почвы и ферментативная активность каталазы находятся в прямой зависимости друг от друга: чем больше активность каталазы, тем более благоприятные условия для образования гумуса, и наоборот, чем больше содержание гумуса, тем большее количество молекул фермента способно сорбироваться на поверхности.

БИОМАССА И СТРУКТУРА ГРИБНОГО МИЦЕЛИЯ В ПОГРЕБЕННЫХ И СОВРЕМЕННЫХ ПОЧВАХ СУХОСТЕПНОЙ ЗОНЫ

Чернышева Е. В.

Воронежский государственный университет, Воронеж (Россия)

E-mail: *chernysheva1988@gmail.com*

В настоящее время практически отсутствуют сведения о состоянии грибного мицелия в палеопочвах, время пребывания которых в погребенном состоянии не превышает несколько сотен лет. В связи с этим цель работы заключалась в изучении состояния и функционирования грибной микрофлоры в погребенных и современных почвах сухостепной зоны.

Объектами изучения послужили палеопочвы оборонительного вала Царицынской линии (вала Анны Иоанновны) и современные фоновые почвы.

Для изучения биомассы и состояния грибного мицелия в погребенных и современных почвах на водораздельном участке была заложена траншея, вскрывающая погребенные почвы под валом и прилегающий участок фоновых почв.

Было выявлено, что максимальна биомасса грибного мицелия характерна для каштановой почвы, расположенной в месте перехода насыпи вала к современным почвам и достигала 400 мкг/г почвы. Минимальное содержание мицелия было отмечено в погребенных почвах (125-260 мкг/г почвы). В структуре мицелия микроскопических грибов в погребенных почвах преобладал темноокрашенный мицелий. В современных почвах доля светлоокрашенного мицелия составляла более 50%.

После 25 дней инкубирования при температуре 30°C и влажности 60% ППВ наблюдалось увеличение содержания мицелия как в погребенной, так и в современной почвах. Увеличение суммарной биомассы было обусловлено увеличением содержания светлоокрашенного мицелия, доля которого после инкубации возросла на 30-40%.

Интенсивность разложения целлюлозы в погребенной и современной почве существенно различалась лишь в гор. А1, где она составляла 54% в фоновой почве, в то время как в погребенной 14%. В гор. В1 и В2 в современной почве интенсивность разложения составила 20 и 16%, а в погребенной почве 17 и 9% соответственно.

ВЛИЯНИЕ ВЫБРОСОВ АВТОТРАНСПОРТА НА ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ МЕРЗЛОТНОЙ ЛУГОВО-ЧЕРНОЗЕМНОЙ ПОЧВЫ Г. ЯКУТСКА

Попов О.П.

Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова,
Биолого-географический факультет, Якутск (Россия)

E-mail: *sop_2008@mail.ru*

Одной из актуальных экологических проблем современности является загрязнение почвенного покрова тяжелыми металлами и влияние его на биологическую активность почв. Мы изучали воздействие выбросов автомобильного транспорта на ферментативную активность верхних горизонтов (0-10 и 10-20 см) мерзлотных лугово-черноземных почв на разном расстоянии от автотрассы «Аэропорт – Якутск». Проводили скрининг гидролаз (инвертазы, фосфатазы, уреазы) и оксидоредуктаз (каталазы, дегидрогеназы), а также определяли актуальную целлюлазную активность и количество аминокислот на полотне (протеазная активность). Наблюдается значительная разница в активности ферментов между контрольным (250 м от трассы) и опытными вариантами, удаленными от источника загрязнения на 2, 5, 10, 20, 50 и 100 м. Корреляционный анализ показал, что наиболее тесная положительная связь существует между активностью уреазы и расстоянием от источника загрязнения ($r = 0,67-0,77$

при $p = 0,95$). Данный фермент может быть рекомендован для экспресс-диагностики загрязнения почв выхлопами автотранспорта при экологическом мониторинге.

Для целлюлазной активности выявлена другая закономерность. При удалении от источника загрязнения интенсивность разрушения х/б ткани и накопление аминокислот на полотне уменьшается, а максимальный распад ткани фиксируется в 2 м от трассы на насыпи. Это вызвано тем, что почвы насыпи имеют рыхлое сложение в отличие от естественных лугово-черноземных почв, поэтому в них активно развиваются целлюлозолитические организмы и разрушение целлюлозы протекает более активно. Тесная связь между целлюлазной активностью и плотностью городских почв была подтверждена и другими авторами.

ПОСЛЕДЕЙСТВИЕ ЗАПАШКИ СОЛОМЫ НА ЧИСЛЕННОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В ТРАНСФОРМАЦИИ СОЕДИНЕНИЙ АЗОТА

Безлер Н.В., Черепухина И.В.

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свёклы им.
А.Л. Мазлумова, пос. Рамонь (Россия)

E-mail: irenius@list.ru

В настоящее время из-за отсутствия органических удобрений в почву поступает недостаточное количество органических веществ для сохранения ее плодородия. Одним из путей пополнения органического вещества почвы является использование соломы зерновых культур в качестве удобрения, так как заправка ее биологического урожая увеличивает приход углерода в 1,5-2 раза.

В то же время, в зонах недостаточного увлажнения процесс разложения соломы затягивается на 3-5 лет, ускорить его можно с помощью микромицетов-целлюлозолитиков и дополнительных компонентов для активизации их жизнедеятельности.

В лаборатории эколого-микробиологических исследований почв ВНИИСС в 2009 году был заложен полевой опыт по изучению деструкции соломы ячменя под воздействием аборигенного штамма микромицета-целлюлозолитика в паровом звене зерносвекловичного севооборота. Почва опытного участка – чернозем выщелоченный малогумусный тяжелосуглинистый. В 2010 году изучали последствие разложения соломы ячменя в посевах озимой пшеницы. Почвенные образцы отбирали в динамике (май, июль).

Результаты исследований показали, что при заправке с соломой специализированного микромицета, азота и питательной добавки численность diaзотрофов в почве в мае превысила контроль на 36,4%, в летний период произошло снижение их количества до уровня контроля. При этом численность аммонификаторов увеличилась. В мае их количество превышало контроль на 3,9, а в июле – на 2,3 млн. КОЕ в 1 г абсолютно сухой почвы (а.с.п.).

Последствие разложения соломы ячменя под воздействием микромицета-целлюлозолитика и других компонентов положительно сказывалось на уреазной активности почвы, которая повысилась в мае на 29,4, а в июле – на 20%. Это способствовало росту содержания в почве щелочногидролизующего азота на 5,3 мг/кг (в контроле 76,4 мг/кг).

Таким образом, заправка в пару соломы ячменя с микромицетом-целлюлозолитиком, азотом и питательной добавкой способствовала увеличению в почве под покровом озимой пшеницы численности микроорганизмов, принимающих участие в трансформации органических соединений азота, что привело к повышению уреазной активности и накоплению азота в легкодоступной для растений форме.

МАКРО- И МЕЗОМОРФОЛОГИЯ ЧЕРНОЗЕМОВ ВЫЩЕЛОЧЕННЫХ ЦЕНТРА ВОСТОЧНО-ЕВРОПЕЙСКОЙ РАВНИНЫ

Рапацкая К.М.

Пушинский государственный университет, Пушкино (Россия)

E-mail: rapatskaya@mail.ru

В учении о генезисе современных почв проблемными остаются самые ранние этапы их формирования – период перехода от плейстоцена к голоцену, что решается путем изучения современных почв и их почвообразующих пород. Для дифференциации современных и унаследованных признаков и процессов почвообразования проведены макро- и мезоморфологические исследования почв.

Объектом исследования выступила толща, состоящая из современного выщелоченного чернозема, его почвообразующей породы, включающей слабо выраженную погребенную почву (элементарные почвенные образования – ЭПО), разнообразные палеокриогенные образования и подстилающую морену.

Мезоморфологическое исследование показало, что скелет профиля представлен зернами кварца и полевых шпатов, размеры которых варьируют от тонкопесчано-пылеватых до мелкопесчаных, укрупняясь с глубиной. В верхних гумусовых горизонтах зерна скелета отмытые, что, возможно, подтверждает их слабую оподзоленность, зафиксированную при морфологическом описании. Белесоватость уменьшается вниз по профилю и исчезает в иллювиальных горизонтах. В последних зерна скелета покрыты пленками светло-бурого, бурого, желто-бурого и темно-бурого цветов. В ЭПО большая часть зерен скелета покрыта серой гумусовой пленкой, придающей горизонту сероватый оттенок. Зерна скелета в морене имеют пленку малинового оттенка, что придает горизонту малиново-бурый цвет. Черные точечные железисто-марганцевые конкреции размерами <0,5 мм начинают появляться в нижней части гумусового горизонта, укрупняясь в размерах до 0,5 см и увеличиваясь количественно вниз по профилю. Начиная с иллювиальных горизонтов, в толще присутствуют конкреции темно-малинового цвета и, по-видимому, железистые ржаво-охристые стяжения. На глубине 94-175 см имеются карбонатные конкреции размерами <0,5 мм и до 1-2 см в диаметре.

Проведенные исследования позволили выявить наличие в исследуемой толще взаимоисключающих характеристик, таких как одновременное присутствие железисто-марганцевых и карбонатных конкреций, свидетельствующих о разновременности и сложности процессов, о менявшихся гидрологических, а следовательно, и климатических условиях при формировании изучаемой толщи.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ № 11-04-00354

ПАЛЕОКРИОГЕНЕЗ В ИСТОРИИ ФОРМИРОВАНИЯ И СОВРЕМЕННОМ ФУНКЦИОНИРОВАНИИ ЧЕРНОЗЕМОВ

Овчинников А.Ю.

Учреждение Российской академии наук Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пущино (Россия)

E-mail: ovchinnikov_a@inbox.ru

Изучение генезиса и эволюции почв, в частности черноземов, центра Восточно-Европейской равнины сохраняется и в настоящее время. Появляются новые представления и материалы. Было показано, что следы палеокриогенных процессов отчетливо проявляются в почвенных профилях, заметно влияют на современные почвенные процессы, свойства и участвуют в дифференциации почвенного покрова.

В почвообразующих породах почв центра Восточно-Европейской равнины в средне- и позднеплейстоценовое время сформировались полигонально-трещинные системы, которые проявились на современной дневной поверхности в виде микрорельефа, оказывающего влияние на строение профилей современных и погребенных почв, почвенного покрова.

Изучение формирования современных и погребенных почв, начиная с самых ранних этапов, связанных с активным проявлением палеокриогенеза, имеет значение для расширения научной базы почвоведения и смежных наук о Земле.

Научным коллективом ранее проводились исследования на разных подтипах черноземов. Данное исследование было проведено в ареале северных подтипов черноземов в Тульской области. Разрез был заложен в обнажении карьера и представлял собой траншею длиной 14 и глубиной 8 метров.

В результате проведенного исследования выяснилось, что:

1. Цикличность процессов лито-, крио- и педогенеза проявляется как во времени, так и в пространстве. Изменения природных условий определяют чередование литологических слоев и погребенных почв с характерными признаками палеокриогенеза, которые создают полигональную неоднородность строения дневной поверхности.

2. На формирование и функционирование современных почв, в частности, черноземов, влияют, как выяснилось разновозрастные явления палеокриогенеза. В результате формируется временная связь процессов литогенеза, палеокриогенеза и почвообразования на территории центра Восточно-Европейской равнины от позднеплейстоценового до голоценового времени.

3. Каждому из элементов палеокриогенного микрорельефа (блок, межблочье) соответствует свой тип профиля, определяемый наличием или отсутствием определенных генетических горизонтов, формой и степенью выраженности отдельных морфологических признаков, изменчивостью физико-химических и физических свойств и палеокриогенных деформаций генетических горизонтов.

4. Позднеплейстоценовые покровные лессовидные суглинки и погребенные почвы центра Восточно-Европейской равнины представляют собой циклически построенную толщу. Голоценовое почвообразование, наложившись на эти толщи, унаследовало и (или) трансформировало некоторые из признаков реликтового перигляциального почвообразования.

5. Многочисленные и разнообразные реликтовые криогенные явления участвуют в дифференциации почвенного покрова.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ по проектам № 11-04-00354 и № 11-04-01083; Программы Президиума РАН; Программы 2.1.1/13314 «Развитие научного потенциала высшей школы».

**СЕКЦИЯ «Приборы и методы для биологии,
биотехнологии и медицины»**

**ПРИМЕНЕНИЕ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ СКАНИРУЮЩЕЙ КАЛОМЕТРИИ
(ДСК) В ИССЛЕДОВАНИИ И КОНТРОЛЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**

Бойко Б.Н

Институт биологического приборостроения с опытным производством РАН;
Пушкинский государственный университет, Пушкино (Россия)

Современные лекарственные препараты являются композициями из множества различных веществ. Это могут быть практически все виды неорганических и органических соединений, макромолекулы или структуры различной степени сложности. Поэтому для исследований в области их разработки и применения используется практически вся совокупность современных физико-химических методов, и ведется поиск новых.

Одним из таких, сравнительно новых методов, является дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК). Перспектива этого метода объясняется совокупностью присущих ему качеств. Это неспецифичность, объективность, оперативность и простота применения. ДСК не требует использования каких-либо специфических тест-систем или реактивов, применения специальных способов приготовления препаратов. Объектами контроля являются лекарственные вещества и субстанции в их естественном состоянии. Подготовка заключается в измельчении, при необходимости, и взвешивании.

В основе метода лежит измерение энергии различных фазовых превращений или реакций, протекающих в исследуемых препаратах при изменении их температуры. В докладе рассматривается принцип действия дифференциального сканирующего калориметра и интерпретация получаемой термограммы.

Приводятся примеры термограмм лекарственных препаратов различных классов.

Рассматриваются существующие методы идентификации, определения количественного состава препаратов и степени чистоты. Последний – по температуре плавления.

В докладе обсуждаются новые методы применения ДСК, позволяющие:

- объективно определить ресурс срока годности лекарственных препаратов;
- дифференцированно, по фракциям с различной степенью связи, измерить содержание воды в препаратах;
- определить степень чистоты.

Приводятся результаты применения этих методов на реальных лекарственных препаратах в виде готовых форм и субстанций.

МЕТОДЫ И ОБОРУДОВАНИЕ ДЛЯ КЛЕТОЧНОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Хохлов А.М., Шугайло В.В.

УРАН Институт биологического приборостроения с опытным производством РАН;
Пушкинский государственный университет, Пушкино (Россия)

Клеточная инженерия включает в себя ряд методов переноса генетического материала. К ним относятся пересадка сперматозоидов, ядер и других органелл, микроинъекция в клетки рекомбинантных ДНК, микроапликация, микродиссекция, микроразделение, электростимулируемое слияние и электропорация.

Все эти методы широко применяются в медицине и животноводстве с использованием микроманипуляционной техники и высоковольтных электрических импульсов.

Настоящий толчок в развитии данной области клеточной биологии был дан созданием Пушкинского научного центра и созданием в нем СКБ биологического приборостроения АН СССР. Уже в 1965 г. были выделены средства для создания основных приборов для микрохирургии клетки – микроманипулятора и приборов для изготовления микроинструментов из стекла. К 1970 г. был разработан первый российский микроманипулятор оригинального

построения и изготовлена первая партия приборов для Академии наук, а в 1977 г. микроманипулятор получил золотую медаль и диплом на Лейпцигской ярмарке. К 1982 г. было освоено промышленное производство всего комплекса прецизионных приборов, которые в этом же году и были отмечены государственной премией СССР.

В 90-е годы работы по совершенствованию приборов были сильно заторможены, хотя и микроманипуляторы и пуллеры изготавливались в единичных экземплярах.

После организации ИБП РАН дело сдвинулось с мертвой точки. Нам удалось выиграть грант министерства науки и кое-что получить через систему «Грант экспресс» совместно с ИТЭБ РАН (чл. корр. Л.М. Чайлахян) и провести разработку недостающих приборов и автоматизировать микроманипуляторы. Был разработан CO₂ инкубатор на базе лабораторного термостата и инфракрасного газоанализатора CO₂ высокой надежности.

Моторизованный микропозиционер позволяет проводить реконструкцию клеток и эмбрионов с помощью микропипеток, управляя его положением ЭВМ и наблюдая за результатами микрооперации через микроскоп на экране дисплея компьютера. На микропозиционер устанавливается пневмоманипулятор типа «Фонбрюн». Подобное сочетание автоматического и ручного управления расширяет возможности выполнения микроманипуляционных движений и значительно сокращает время подготовительных операций.

Также нами разработан и подготовлен к выпуску витрификатор для криоконсервации эмбрионов. Он позволяет осуществлять криоконсервацию прямым помещением ампулы с эмбрионами в переохлажденный до минус 206 - 208°С азот. Технология витрификации позволяет увеличить выход жизнеспособных эмбрионов в 2,5 – 3 раза.

Таким образом, в ИБП РАН разработан полный комплекс оборудования для клеточной инженерии, начиная от изготовления микроинструментов и заканчивая криоконсервацией клеток, эмбрионов и ооцитов для длительного хранения.

ПРИБОРЫ ДЛЯ МОДИФИКАЦИИ ГЕНОМА КЛЕТКИ ПРИ ПОМОЩИ ЭЛЕКТРОИМПУЛЬСОВ

Шугайло В.В., Хохлов А.М.

УРАН Институт биологического приборостроения с опытным производством РАН;
Пушкинский государственный университет, Пушкино (Россия)

Работа по модификации генома клеток нарастает лавинообразно, так как модифицируемые клетки используются широко в биологии, медицине и клеточной инженерии для создания организмов с заданным геномом. Реконструкция клеток в настоящее время стала более доступной благодаря методам переноса генома – сперматозоидов, ядер соматических клеток и рекомбинантных ДНК с помощью электрических импульсов.

Существует два метода модификации клеток электроимпульсами – электрослияние и электропорация. В первом случае сливаемые клетки в суспензии помещают в камеру с металлическими электродами, на которые подаётся необходимое напряжение. Вначале к электродам прикладывается высокочастотное поле выравнивания, под действием которого сливаемые клетки выстраиваются вдоль электродов и вступают в механический контакт между собой и электродами. Затем подаются высоковольтные импульсы пробоя, нарушающие мембраны сливаемых клеток в месте контакта. Клетки соединяются через образовавшийся разрыв, после чего вновь подаётся высокочастотное поле для удержания клеток в контакте.

При электропорации в камеру с электродами из нержавеющей стали помещают раствор, содержащий модифицируемые клетки и рекомбинантные макромолекулы (ДНК, белки, антитела, красители). Затем на электроды камеры подают высоковольтный импульс, под действием которого в модифицируемой клетке открываются поры в мембране и остаются открытыми несколько секунд после окончания импульса. В эти поры проникают рекомбинантные макромолекулы и попадают в цитоплазму клетки без разрыва её мембраны.

В институте биологического приборостроения РАН разработаны приборы для модификации клеток этими двумя способами – прибор для электростимулируемого электрослияния и электропоратор клеток. Приборы испытаны на соответствие техническому

заданию и в реальных условиях в лабораториях РАН и РСХАН. Разработан комплект конструкторской документации, обеспечивающий возможность изготовления приборов малыми сериями.

ПРОГРАММНО-АППАРАТНЫЙ КОМПЛЕКС РАСПОЗНАВАНИЯ КЛЕТОК В ПРОТОКЕ

Тарлачков С.В.

Пушкинский государственный университет; Филиал Учреждения Российской академии наук Института биоорганической химии им. акад. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Пущино (Россия)

E-mail: serjb21@yandex.ru

В настоящее время существует проблема счета и анализа клеток при культивировании и при исследовании крови в клинических лабораториях. Создано несколько приборов для решения этой задачи. Самым распространенным является проточный цитометр. При его использовании возникает несколько трудностей: дороговизна оборудования и расходных материалов, невозможность осуществлять анализ в проточном автоматическом режиме. Мы предлагаем для решения этой проблемы программно – аппаратный комплекс, в основе которого лежит распознавание изображений, получаемых при микроскопии проточной кюветы. В состав комплекса входит приборная часть, состоящая из оптического блока микроскопа с видеокамерой, механической части для автофокусировки, проточной кюветы с системой подачи жидкостей. Программная часть представляет собой систему распознавания изображений и вычисления параметров его элементов. В будущем возможно создание аппарата, в котором можно будет использовать оптическую часть с модулятором и монохроматором, что позволит проводить исследования с окрашенными и флуоресцирующими объектами.

АВТОМАТИЗИРОВАННЫЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ КОМПЛЕКС ДЛЯ МАССОВОЙ МАГНИТНОЙ ХАРАКТЕРИЗАЦИИ КЛЕТОК

Жолудь А.М.

Институт тепло- и массообмена им. А.В. Лыкова НАН Беларуси, Минск (Беларусь)

E-mail: zholud.anton@gmail.com

Одной из важных задач в биологических и медицинских исследованиях является характеристика клеточных суспензий. В настоящее время наиболее признанным методом характеристики является проточная цитометрия, используются и другие методы, основанные на различных физических и биохимических подходах. В последние десять лет большой интерес привлек магнитофоретический метод, использующий различие клеток по магнитным свойствам, но на сегодняшний день сведения о магнитных свойствах клеток весьма скудны и недостоверны. Это связано со сложностью изготовления оборудования и недостаточно точным теоретическим описанием магнитофоретического движения, характеристики которого используются для определения магнитных свойств клеток.

В докладе представлен изготовленный в Институте тепло-и массообмена НАН Беларуси автоматизированный экспериментальный комплекс для массовой магнитной характеристики клеточных популяций, рассмотрены его метрологические характеристики и результаты измерения гистограмм распределения по магнитным свойствам эритроцитов и других клеток крови человека.

В качестве характеристики магнитных свойств клеток предложено использовать величину относительной удельной магнитной восприимчивости, представляющую собой отношение разности магнитных восприимчивостей клетки и несущей жидкости к разности их плотностей, и измеряемую в едином для разных клеток физиологическом растворе. Показано, что основным фактором, ограничивающим чувствительность метода, является гидродинамическое взаимодействие между движущимися клетками, влияние которого смоделировано для случая парного гидродинамического взаимодействия. Для изученного образца суспензии эритроцитов

найденно распределение по величине относительной удельной магнитной восприимчивости со средним значением $\kappa=1,06 \cdot 10^{-7} \text{ см}^3/\text{г}$ и дисперсией $\sigma=8,06 \cdot 10^{-8} \text{ см}^3/\text{г}$.

ЛАЗЕРНАЯ МИКРОДИССЕКЦИЯ ЖИВЫХ КЛЕТОК: НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ДЛЯ КЛЕТОЧНОЙ БИОЛОГИИ

Подгорный О.В.

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва (Россия)

E-mail: olegpodgorny@inbox.ru

Для решения многих как фундаментальных, так и прикладных задач в различных областях биологии и медицины исследователи используют клеточные культуры. С одной стороны, культуры используются как модельный объект, упрощая и облегчая проведение экспериментальных исследований, а с другой – они сами являются объектом интереса с точки зрения их практического применения в различных областях клеточных технологий и биоинженерии. Одной из главных проблем, связанных с развитием методов культивирования клеток, на сегодняшний день остаются весьма трудоемкие и ограниченные возможности по манипулированию с культурами клеток, а также с отдельными клетками. В частности весьма трудной до сих пор остается задача отбора клеточных колоний и отдельных клеток для дальнейшего рекультивирования. Сравнительно недавно для этой задачи было предложено использовать метод лазерной микродиссекции. Однако в предыдущих исследованиях было показано успешное применение только метода лазерной микродиссекции с катапультированием. Поэтому целью настоящей работы был поиск наиболее эффективной стратегии для выделения живых клеток с использованием метода лазерной микродиссекции с переносом за счет гравитации для последующего рекультивирования, а также определение ограничений метода. В результате эмпирического поиска были найдены условия, при которых группы клеток линии , вырезанные с помощью лазерной микродиссекции из клеточного монослоя, выращенного на специальной мембране, давали начало новым колониям с эффективностью 100%. Было определено, что максимальный диаметр колоний округлой формы, которые могут быть воспроизводимо вырезаны с помощью лазерной микродиссекции, составляет 600 мкм. Анализ жизнеспособности клеток, проведенный сразу после микродиссекции, показал, что погибшие клетки были распределены в основном по краю вырезанной области. Исходя из опыта применения лазерной микродиссекции, следует, что за одну процедуру может быть вырезано и накоплено в индивидуальные лунки до 100 колоний, что делает этот метод весьма продуктивным.

ГОЛОГРАФИЧЕСКИЙ ЛАЗЕРНЫЙ МАНИПУЛЯТОР-СКАЛЬПЕЛЬ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФЕМТОСЕКУНДНОГО И НЕПРЕРЫВНОГО ЛАЗЕРА

Залесский А.Д.¹, Данильченко Н.А.¹, Барбашов Ю.В.¹, Максимов Г.В.², Решетов И.В.³, Надточенко В.А.⁴, Саркисов О.М.⁴

¹Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный (Россия)

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова; ³Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена; ⁴Институт химической физики им. Н.Н.Семенова РАН, Москва (Россия)

E-mail: aleksandr.zalesskij@phystech.edu

Оптическое манипулирование - перспективный метод исследований, обладающий колоссальным спектром применений в биологии и биофизике. Данная работа посвящена созданию голографического оптического манипулятора и «скальпеля» с применением фемтосекундного и непрерывного лазера. Использование фемтосекундных импульсов для реализации оптического скальпеля даёт следующее важное преимущество: даже при сравнительно малых энергиях импульса (порядка 1 нДж) высокая пиковая интенсивность фемтосекундных импульсов позволяет с успехом использовать их как лазерный «скальпель»,

что открывает возможности для развития микрохирургии. В установке используется два оптических жидкокристаллических модулятора, позволяющих как для фемтосекундного, так и для непрерывного лазера вместо одной оптической ловушки создавать много оптических ловушек, каждая из которых может перемещаться в пространстве независимо от других. В работе продемонстрирована возможность деструкции раковых клеток и отрезания фрагмента от скопления раковых клеток за счет разрыва связей при многофотонном поглощении фемтосекундных световых импульсов. Также продемонстрирована одновременная микрохирургия несколькими оптическими «скальпелями» единичных аксонов и ядерных эритроцитов. Наличие голографически управляемого непрерывного лазера позволяет осуществлять оптическое манипулирование и микрохирургию одновременно и независимо двумя типами лазерных ловушек. Сочетание этих двух методик может найти перспективные применения в области микрохирургии.

ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССОВ КОАГУЛЯЦИИ ДИСПЕРСИЙ ОРГАНИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ

Широкова И.Ю., Кучук В.И.

Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия,
Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: shirokova1107@gmail.com

К настоящему времени в области устойчивости коллоидных систем накоплен большой экспериментальный материал и предложено немало теорий, связывающих устойчивость гидрофобных золь с явлениями, возникающими при взаимодействии дисперсной фазы с дисперсионной средой. Большинство найденных эмпирических зависимостей объясняется физической теорией Дерягина – Ландау – Фервея – Овербека (ДЛФО). Однако коагуляция, связанная с вторичным минимумом на кривой зависимости энергии парного взаимодействия частиц от расстояния между ними, отличается от коагуляции, обусловленной наличием первичного минимума, непрочностью образующихся агрегатов и возможностью их распада, что приводит к полной или частичной обратимости процесса.

Задачами исследования являлось выявление влияния на закономерности коагуляции частиц органической природы их размера, заряда - в зависимости от состава функциональных группировок и рН среды; состава дисперсионной среды.

Объектами изучения выбраны латексы полистирола различного размера, с карбоксилированной поверхностью. Опыты по коагуляции латексов полистирола проводились методом фотоколориметрии в водных растворах электролитов в широком интервале рН показали значительное отличие поведения системы от расчетных параметров (расчет по классической теории агрегативной устойчивости ДЛФО), а также от классического варианта кинетики коагуляции (по Смолуховскому). Данное поведение можно интерпретировано с позиций существенного влияния сил структурной и сольватационной природы на энергию взаимодействия частиц дисперсной фазы.

Результаты данного исследования могут быть полезны как для развития теории агрегативной устойчивости и коагуляции дисперсных систем, так и для практического применения. В частности, понимание процессов структурообразования, золь-гель переходов позволит применить полученные знания для развития ряда прикладных технологий, таких как создание так называемых коллоидных кристаллов и синтетических связующих материалов нового поколения, а также для использования в ряде областей фармации и медицины, например, при проведении экспресс-анализов, основанных на процессах агрегации.

АППАРАТНО-ПРОГРАММНЫЙ КОМПЛЕКС ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ И ТЕРАПИИ СОСТОЯНИЯ СОННОГО АПНОЭ

Меркулова О.В.

Тульский государственный университет, Тула (Россия)

E-mail: MerkulovaOlga@list.ru

Серьезным, но пока малоизвестным дыхательным расстройством является сонное апноэ – дыхательная пауза во время сна, определяемая как отсутствие или значительное уменьшение воздушного потока на уровне рта и носа длительностью не менее 10 с. Апноэ ведет к снижению качества жизни и наносит вред здоровью. Оно сказывается на самочувствии человека в виде усталости, расстройства памяти, раздражительности, трудности концентрации внимания. Непреодолимая сонливость приводит к дорожно-транспортным происшествиям, несчастным случаям на производстве.

Цель исследования – разработка методики построения аппаратно-программного комплекса для диагностики и терапии сонного апноэ, обеспечивающего достоверность результатов исследования и контроль терапевтического воздействия на дыхательную систему человека, а также характеризующегося удобством и простотой использования.

Итогом проведенного исследования стали следующие научные и практические результаты:

- разработан и реализован алгоритм работы информационно-измерительной системы диагностики центрального сонного апноэ, обеспечивающей достоверный контроль дыхательных движений человека во время сна;
- разработана математическая модель обработки сигнала при регистрации скорости движения грудной клетки человека во время сна;
- разработан и реализован алгоритм работы терапевтической части комплекса в виде автоматизированного дыхательного тренажера, обеспечивающего высокую точность регулирования сопротивления дыханию на вдохе/выдохе;
- разработана методика контроля правильности выполнения дыхательных упражнений при использовании автоматизированного дыхательного тренажера;
- получены результаты экспериментального исследования работы автоматизированного дыхательного тренажера, показывающие работоспособность предложенной методики построения терапевтической части комплекса.

Достоверность результатов работы диагностической части комплекса подтверждается корректным применением фундаментальных теорий и методов ультразвуковой локации, а также согласованностью результатов теоретических исследований с данными, полученными при моделировании работы системы на ПЭВМ.

Разработанный аппаратно-программный комплекс для диагностики и терапии сонного апноэ может использоваться в клинической практике для лечения и профилактики бронхолегочных и других заболеваний.

КОНЬЮГАТЫ АНТИБИОТИКОВ С НАНОЧАСТИЦАМИ ЗОЛОТА И ИХ АНТИМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА

Бурыгин Г.Л., Хлебцов Н.Г.

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов (Россия)

E-mail: gena@ibppm.sgu.ru

Поиск новых эффективных лекарственных форм является важнейшей задачей современной биотехнологии. Наночастицы являются перспективными объектами для повышения эффективности лекарств, благодаря большой суммарной сорбционной поверхности раствора наночастиц и высокой проникающей способности одной отдельной частицы.

Целью данной работы было изучения эффективности использования конъюгатов наночастиц золота с антибиотиками в антимикробной терапии.

Было определено, что растворы аминокликозидов вызывают коагуляцию золотых наночастиц. При этом такие смеси аминокликозидов с коллоидным золотом не приводили к повышению антимикробной активности антибиотика по сравнению с растворимой формой.

Другие изученные нами антибиотики не вызывали коагуляции золя золота, кроме левомицитина в самой высокой концентрации (0,1 мг/мл), но при этом ампицилин бициллин и левомицитин не стабилизировали наночастицы золота, что вызывало агрегацию золотых частиц в присутствии солей и делало не пригодным данные смеси для использования. И только растворы цефазолина и цефтриаксана стабилизировали наночастицы золота.

При культивировании бактерий штамма *E. coli* XL-1 в среде LB, содержащей цефалоспориновые антибиотики цефотаксим и цефтриаксон методом двукратных разведений было определено, что конъюгаты цефотаксима с наночастицами золота в 2 раза понижают минимальную ингибирующую концентрацию (МИК), не влияя на максимальную толерантную концентрацию (МТК), а конъюгаты цефтриаксона по сравнению с растворимой формой антибиотика снижают как МИК, так и МТК.

Таким образом, показано способность цефалоспориновых антибиотиков (цефотаксима и цефтриаксона) образовывать стабильные конъюгаты с наночастицами золота, которые обладают более активными антимикробными свойствами.

АНАЛИЗ ПРОМОТОРНОЙ ОБЛАСТЕЙ ГЕНА IL-6 У БОЛЬНЫХ С ПОСТПЕРИКАРДИОТОМНЫМ СИНДРОМОМ

Рунов А.Л.¹, Вонский М.С.¹, Накацева Е.В.², Моисеева О.М.²

¹Институт цитологии РАН; ²Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: tsinakan@gmail.com

Постперикардиотомный синдром (ПКТС) – частое осложнение при хирургических операциях на открытом сердце, являющееся проявлением системного иммунопатологического процесса. Он характеризуется острым воспалительным ответом и образованием антител к тканям сердца. Известно, что на развитие ПКТС оказывает влияние уровень экспрессии интерлейкина-6 (IL-6), который является одним из важнейших медиаторов острой фазы воспаления.

Экспрессия гена определяется как структурой его промоторной области, влияние на которую могут оказывать локализованные в ней однонуклеотидные полиморфизмы (SNP), так и уровнем метилирования CpG островков, входящих в её последовательность. Развитие методов исследования, позволяющие выявить присутствие подобной модификации заданной области генома, имеет несомненное медицинское значение. В данной работе генетические и эпигенетические модификации промоторной области гена IL-6 и их влияние на развитии ПКТС исследовали с применением метода плавления ДНК с высоким разрешением (HRM).

Для проведения HRM-анализа SNP промоторная область гена IL-6 была амплифицирована в составе 6-ти перекрывающихся фрагментов размером 89 – 172 п.о. Исследование было проведено на образцах ДНК, выделенных из препаратов периферической крови от 200 пациентов Федерального центра сердца, крови и эндокринологии имени академика В.А. Алмазова Росмедтехнологий. HRM-анализ выявил присутствие SNP только в одном из фрагментов. Продукты ПЦР, несущие различные варианты SNP, были охарактеризованы прямым секвенированием. Результаты исследования подтвердили влияние полиморфизма -174G>C гена IL-6 на развитие ПКТС у людей.

В настоящее время ведётся работа по анализу уровня метилирования промоторной области гена IL-6 у больных с ПКТС. На синтетической модели был отработан метод определения уровня метилирования с применением HRM. Была рассчитана точность определения процентного содержания метилированных участков.

СИСТЕМА ПРОТОЧНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА - ПРООБРАЗ АВТОМАТИЧЕСКОГО АНАЛИЗАТОРА БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ

Соломадин И.Н.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино (Россия)

E-mail: iliusmaster@rambler.ru

В состав комплекса клинической диагностики входит такое направление как биохимические исследования человека. Наиболее доступной и самой диагностически ценной в большинстве случаев является кровь человека.

Ценные результаты для выявления различных патологий можно получить исследуя белковую фракцию крови. Изменения в составе белков крови наблюдаются при широком

спектре заболеваний. Необходимо измерить количественные изменения. Наиболее простым методом, позволяющим это сделать является электрофорез.

Были предложены различные методы, такие как электрофорез без поддерживающей среды, электрофорез на бумаге, на ацетат-целлюлозной пленке, в агарозе и ПААГ, иммуноэлектрофорез, изотахофорез и многие другие.

Для проведения электрофореза белков плазмы в настоящее время используются носители на основе ацетат-целлюлозной пленки. В тоже время эта процедура требует длительного времени и значительного вклада ручного труда, что удорожает анализ и делает значительным вклад «человеческого» фактора в достоверность полученных результатов. Автоматические системы электрофореза представляют собой роботы, которые проводят стандартные манипуляции: нанесение образца, электрофорез, окрашивание, денситометрия.

То есть существенного упрощения и удешевления процедуры при использовании роботов не происходит, уменьшается лишь доля «человеческого» фактора в анализе.

Мы провели теоретическую и практическую разработку прибора для проточного электрофореза белков плазмы крови. Система детекции в УФ с использованием длинной кюветы ($l=15\text{см.}$) и LED источника позволила увеличить чувствительность детектирующего блока. Ввод в систему калибровки поправочных коэффициентов, рассчитанных на основе аминокислотного состава белков плазмы, уменьшил погрешность прибора при определении абсолютной концентрации белка в пробе.

Использование полностью проточной системы позволило упростить использование системы в автоматическом режиме.

Мы надеемся, что после отладки и проверки прибор найдет применение в клинико-диагностической лаборатории.

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОРГАНОВ

Попова А.П.

Тульский государственный университет, Тула (Россия)

E-mail: pbs.tula@rambler.ru

С точки зрения биологии, биологический орган представляет собой сложнейшую систему, состоящую из миллионов отдельных клеток с наследственными кодами, заложенными в ДНК. Каждая клетка взаимодействует с соседней клеткой и внешней средой по своим биологически законам, которые до настоящего времени досконально не установлены. Однако следует помнить, что модель это довольно грубое приближение к моделируемому объекту. Если мы поставим задачу смоделировать функцию моделируемого органа, то можем прибегнуть к методу физико-технической функциональной аналогии, отражающей моделируемую функцию уравнениями отражающими физику моделируемых процессов, применяемую при описании технических систем.

Для этого мы тщательно изучаем физиологию моделируемого органа, выделяем морфологические единицы и связи между ними. Например, СССЧ состоит из морфологических единиц: сердца, артерий, капилляров тела и лёгких, вен, клапанов, соединённых в определённой последовательности. Морфологические единицы мы можем представить как технические объекты. Сердце как четырех камерный насос, состоящий из четырёх цилиндров с поршнями. Два цилиндра предсердия и два цилиндра желудочки. Артерии и вены можно представить трубами, а их упругость цилиндрами с подпружиненными поршнями. Всё это необходимо отразить графически, в виде схемы отражающей морфологические единицы и их связи. Для получения числовых значений коэффициентов уравнений необходимо вновь обратиться к физиологии моделируемого органа. Решение динамической математической модели можно при помощи любой программы: «Турбопаскаль», «Maple», «MahtCad» и другие, позволяющие решать систему дифференциальных уравнений до сотого порядка. На каждом шаге решения, а это одна сотая или даже тысячная доля секунды, должны просчитываться все без исключения записанные уравнения. Результаты решения на следующем шаге воспринимаются как начальные для последующего шага.

ОСОБЕННОСТИ РАЗРАБОТКИ И ТЕХНОЛОГИИ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ИНДУКТОРОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕРВНО-МЫШЕЧНОЙ СИСТЕМЫ

Сорочинский А.А.

Таганрогский технологический институт Южного федерального университета,
Таганрог (Россия)

E-mail: Alex_res87@mail.ru

Главным звеном в системе магнитного стимулятора является индуктор. Биологический эффект напрямую зависит от таких характеристик магнитного поля как вид, напряжённость, градиент, направленность вектора, частота, форма и скважность импульса, экспозиция и локализация. Эти параметры оказывают определенное влияние на формирование ответных реакций организма.

При выборе для работы той или иной катушки учитываются генерируемая ею пиковая мощность магнитного поля, необходимая частота предъявления стимула, форма и вес катушки. Для создания сильных магнитных полей нецелесообразно использование сердечников, экранов и других устройств из ферромагнитных материалов для фокусировки поля. Как показал проведенный анализ при проектировании соленоидов для создания больших магнитных полей необходимо учитывать факторы, связанные с тепловыделением и прочностные характеристики

Для экспериментальных целей были сделаны катушки из деталей, изготовленных на станке с числовым программным управлением. Для целей магнитной стимуляции нервной системы наиболее подходят индукционные катушки плоского типа. Индукционные катушки могут иметь намотку в виде спирали. Причем от соотношения внутреннего и наружного диаметров спирали будет зависеть степень однородности магнитного поля в непосредственной близости к соленоиду. Наибольшая однородность поля достигнута, для полностью заполненной плоской катушки. В случае сближения значений внутреннего и наружного диаметров катушки неоднородность поля (его z-компоненты) будет расти с появлением локального минимума B_z на оси койла.

В результате использования разработанного индуктора происходит возбуждение двигательных нейронов, что приводит к распространению импульса по кортикоспинальному тракту к мотонейронам спинного мозга и, затем, по корешкам и периферическим нервам к мышцам. Таким образом, удастся зарегистрировать сокращение мышцы электромиографом в ответ на стимуляцию. Проведенные экспериментальные исследования позволяют разработать режимы и показать перспективность применения магнитной стимуляции.

ТЕХНОЛОГИЯ ПРИМЕНЕНИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ ДЛЯ САНИТАРНО-ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ОЧИСТКИ ВОДЫ

Астафьева О.В., Сухенко Л.Т.

Астраханский государственный университет, Астрахань (Россия)

E-mail: astra39@list.ru

В настоящее время все чаще наблюдается возникновение неблагоприятной обстановки в отношении опасности развития эпидемиологических ситуаций и водного пути передачи кишечных инфекций в низовьях реки Волги и всей авандельты. Необходима дальнейшая разработка средств нового поколения, основанная на производстве биологически активных компонентов. Перспективным направлением является применение препаратов на основе экологически чистых и натуральных веществ и биологических жидкостей растительного происхождения с противомикробными свойствами, что является крайне востребованным направлением экологической биотехнологии и фитобиотехнологии.

Целью работы является разработка фитопрепаратов для улучшения качества питьевой воды и санитарно-экологическая очистка воды южных регионов России с использованием оригинальных технологий поэтапной обработки воды биологически и химически активными препаратами.

Нами изучается возможность применения химически активированных жидкостей, которые приготавливаются из раствора с высокой бактерицидной активностью. Жидкости, получаемые с помощью специального прибора полностью (тотально) уничтожают микроорганизмы

кишечной группы, т.е. обладают бактерицидной активностью. Кроме того, экстрагируются вещества из некоторых растений Астраханской области, которые полностью подавляют рост бактерий из группы кокков. С помощью таких жидкостей можно не только производить бактериологическую очистку, но и улучшить состав и вкусовые качества воды.

В работе также были изучены противомикробные свойства экстрактов некоторых растений Астраханской области по отношению к микрофлоре (патогенной и условно-патогенной) воды.

На основании проведенных исследований, были получены некоторые данные о возможности бактерицидной очистки водных источников производственного и бытового назначения препаратами, содержащими противомикробные соединения растительного происхождения, выделенные из некоторых растений Астраханской области. Полученные в ходе исследований результаты раскрывают так же механизм влияния растворимых биологически активных противомикробных веществ дикорастущих растений на водные микробиоценозы, что приводит к регулированию микробного населения водоемов, особенно угнетению патогенных и условно-патогенных форм и, в конечном итоге, к самоочищению водоемов.

МЕТОД ПОЛЯРИЗАЦИОННОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ИММУНОАНАЛИЗА - НОВЫЙ ЭКСПРЕСС-МЕТОД ДИАГНОСТИКИ ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА С

Шарышев А.А., Алимбарова Л.М., Баженов А.И., Шибнев В.А.

Научно-исследовательский институт вирусологии им. Д.И. Ивановского
Минздравсоцразвития РФ, Москва (Россия)

E-mail: dvalin86@mail.ru

Вирусный гепатит С (HCV) является одним из широко распространенных заболеваний печени. Распространенность в мире хронической формы HCV варьирует от 0,5 до 2%. В России заболеваемость составляет 56,2 чел. на 100000 населения. У каждого пятого больного HCV развивается цирроз, у каждого двадцатого — рак печени. В связи с тем, что вакцины для профилактики гепатита С не существует, в настоящее время является актуальной своевременная диагностика заболевания. Лабораторная диагностика гепатита С основана на выявлении в образцах сывороток или плазмы крови человека антител к антигенам HCV (анти-HCV антител) и проводится с помощью твердофазного иммуноферментного анализа, который имеет ряд временных ограничений. В последнее время предложены экспресс-методы диагностики HCV, наиболее перспективным из которых, является метод поляризационного флуоресцентного иммуноанализа (ПФИА). Целью исследования являлась разработка метода ПФИА для определения антител к нуклеокапсидному белку вируса гепатита С. Осуществлен твердофазный синтез пептидов, перекрывающих иммунореактивные участки а.о. 7-19, 20-34 из N-концевой части нуклеокапсидного белка вируса гепатита С (генотип 1b), а так же меченых карбоксифлуоресцеином их производных. Изучена антигенная активность синтезированных пептидов методом поляризационного флуоресцентного иммуноанализа (ПФИА) с 40 образцами сывороток крови больных хроническим вирусным гепатитом С, а так же с 20 образцами стандартных отрицательных сывороток крови доноров. Проведено сравнительное изучение аналитических характеристик метода ПФИА, основанного на применении синтезированных пептидов, а также коммерческой ИФА-тест-системы производства «Вектор Бест», Россия. В результате проведенных исследований было выявлено, что предлагаемый метод обладает высоким уровнем специфичности и чувствительности. Сопоставимость результатов ПФИА и ИФА составила 76%, что свидетельствует о перспективности проведения дальнейших исследований в данной области. Показана принципиальная возможность применения метода поляризационного флуоресцентного иммуноанализа для определения антител к нуклеокапсидному белку вируса гепатита С в клинических образцах сывороток крови.

ИННОВАЦИОННЫЙ ПОДХОД К СОЗДАНИЮ И ИЗУЧЕНИЮ СВОЙСТВ НАНОПОКРЫТИЙ

**Крючков М.В., Катанаев В.Л., Енин Г.А., Сергеев А.А., Тимченко А.А.,
Сердюк И.Н.**

Институт белка РАН, Пущино (Россия)

E-mail: *Kryuchkov_mih@mail.ru*

Применение наноструктурированной поверхности при изготовлении различных предметов (от одежды до фюзеляжа самолета) поможет значительно улучшить их свойства.

В настоящее время не существует теории, способной смоделировать структуру и состав наноповерхности под задаваемые функции. Поэтому, единственным способом исследования свойств сложных поверхностей с наномасштабными образованиями является изготовление и изучение разнообразных моделей. Изготовление каждой модели - это дорогостоящий и кропотливый процесс, требующий сложной аппаратуры. Мы предлагаем проводить изготовление наноповерхностей для аналитических целей при помощи генетических манипуляций с модельным организмом.

Drosophila melanogaster является удобным объектом для генетических исследований.

Глаз плодовой мушки состоит из 800 омматидиев, поверхность которых покрыта бугорками наномасштаба, вероятно, выполняющими антирефлекторную и грязеотталкивающую роли. Они состоят из дрозокристаллина и сопутствующих полимеров.

Нами был найден подход к изучению наноструктуры линзы глаз плодовой мушки с помощью атомно-силового микроскопа. Впервые получены изображения поверхности линз *Drosophila melanogaster* с высоким разрешением, впервые описывающие наноструктуры покрывающие глаза этого насекомого. А также изучено влияние мутации, нарушающей упорядоченность упаковки омматидиев, на данные наноструктуры.

Таким образом, изменяя свойства наслоения белков линзы и внося изменения в состав белка, мы можем в широких диапазонах варьировать текстуру и состав наноструктуры поверхности. А отбирая образцы, заинтересовавшие нас по разнообразным свойствам, таким как: антирефлекторные, водоотталкивающие и др., проводить искусственную эволюцию с целью улучшения новых свойств.

ПРИМЕНЕНИЕ ИМПЕДАНСОМЕТРИИ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ ГЕМОДИНАМИКИ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА

Романенко С.В., Сивашев М.С.

Пущинский государственный университет; Институт биологического приборостроения
РАН, Пущино (Россия)

E-mail: *romanenko_s.v@mail.ru*

Атеросклероз, гипертоническая болезнь, сахарный диабет, венозная недостаточность и многие другие болезни сопровождаются нарушениями обмена и транспорта жидкости в тканях. Возможности мониторинга микроциркуляции ограничены небольшим числом имеющихся методов исследования и сложностью интерпретации полученных данных. Наиболее часто используются микроскопия, лазерная доплеровская флоуметрия, ультразвуковая доплерография. Объектами исследования являются сосуды микроциркуляторного русла кожи, слизистых оболочек, сетчатки глаза. Все эти методы нацелены на определение скорости кровотока в сосудах микроциркуляторного русла и не учитывают состояние стенок сосудов, клеточных мембран, межклеточной жидкости.

Современные методы и техника импедансометрии могут стать удобным средством исследования нарушений обмена и транспорта жидкости в тканях, позволят получать оценки состояния проницаемости стенок сосудов и клеточных мембран, объемов тканевых жидкостей и их соотношений.

Проведены эксперименты по оценке скорости и характера кровенаполнения тканей пальцев руки при изменении внешних условий с помощью компактного прибора, разработанного в ИБП РАН. Данный прибор выполнен на базе современных средств электронной техники. В нем реализованы принципы микропроцессорного управления, дискретного преобразования Фурье,

цифрового синтеза сигналов зондирующего тока. Диапазон измеряемых импедансов от 10 Ом до 5 МОм на частотах от 1 до 100 кГц. Прибор подключается к персональному компьютеру через USB – интерфейс.

В результате экспериментов установлено, что соотношение активной и реактивной составляющих импеданса биологических тканей претерпевают существенные изменения при различных условиях их кровоснабжения. Динамика активной компоненты полного импеданса обусловлена изменением общего объема жидкости в измеряемой цепи, а значения реактивного сопротивления определяются изменениями проницаемости стенок сосудов, клеточных мембран, количеством работающих капилляров и другими структурными перестройками ткани. Характер изменения импеданса во времени обусловлен состоянием и возможностями адаптационных механизмов местного и системного уровней регулирования гемодинамики.

БАКТЕРИАЛЬНЫЕ АССОЦИАЦИИ СЕРООКИСЛЯЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ - БИОАГЕНТЫ ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИИ ОБЕССЕРИВАНИЯ СЫРОЙ НЕФТИ

Хасанова Л.М., Перушкина Е.В., Садыкова З.О., Сироткин А.С.

Институт биологического приборостроения с опытным производством РАН;

Пушкинский государственный университет, Пушкино (Россия)

Казанский государственный технологический университет, Казань (Россия)

E-mail: *khasanova-leisan@mail.ru*

В настоящее время создание и разработка экологичных и экономически оправданных технологий приобретают актуальность, среди них особо выделяется задача снижения соединений серы в составе нефти. Процессы гидроочистки являются энергетически дорогостоящими и сильно загрязняющими окружающую среду. В качестве альтернативы рассматривается биотехнологический подход, так как технология биообессеривания нефти предлагает мягкие условия обработки.

Для реализации и интенсификации процессов биологического снижения концентрации соединений серы в составе нефти в проводимых научных исследованиях предлагается использование высокоактивных ассоциаций сероокисляющих микроорганизмов (EA1, EA2, EA3 и SA), выделенных авторами из экосистемы, функционирующей при биологической очистке высокотоксичных серусодержащих отходов химических производств. Объект исследований - нефть Омбийского месторождения Республики Татарстан (высоковязкая с содержанием воды $20 \pm 2\%$, сернистая, с содержанием серы 3-4%).

Использование консорциумов автотрофных и факультативных гетеротрофных микроорганизмов в составе ассоциаций позволяет повысить эффективность биообессеривания нефти и сократить степень деструкции углеводородных компонентов. Проведение процесса в аэробных условиях в содержащей жидкую питательную среду системе позволяет увеличить доступность субстрата для биоагентов и интенсифицировать процессы массообмена.

Иммобилизация микробных ассоциаций на поверхности инертных носителей позволила решить задачу снижения токсичности углеводородов, входящих в состав нефти. В ходе научно-исследовательской работы показано, что снижение содержания серы в сырой нефти после биологического окисления иммобилизованной биомассой ассоциации SA составило 11%, иммобилизованной биомассой ассоциации EA2 – 5% (время культивирования 12 суток). Эффективность биоокисления соединений серы нефти рассчитана по концентрации сульфат-ионов, как конечных продуктов метаболизма серы.

Проведение процесса биообессеривания нефти микробной ассоциацией может рассматриваться для коммерческого использования, так как сероокисляющие микроорганизмы в составе исследуемых ассоциаций обладают различными физиолого-биохимическими и биоокислительными свойствами, что позволяет им комплексно воздействовать на серусодержащие компоненты нефти.

ИНАКТИВАЦИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА ПОВЕРХНОСТИ ФОТОИНДУЦИРОВАННЫХ ТiO₂-ПЛЁНОК

Голубева И.С., Плескова С.Н., Чижов Н.А., Фролова Н.А.

Нижегородский государственный технический университет им. Р.Е.Алексеева,
Нижний Новгород (Россия)

E-mail: golubmay@mail.ru

Многочисленные исследования, связанные с бактерицидным эффектом диоксида титана (TiO₂), доказывают возможность его использования в стерилизационных техниках, лечении, профилактике инфекционных заболеваний.

Цель работы является определение бактерицидности TiO₂-плёнок в зависимости от времени воздействия ультрафиолета (УФ).

Для экспериментов использовали суточную культуру *Staphylococcus aureus* 956, *Staphylococcus epidermidis* 1061, *Escherichia coli* 321-5, *Pseudomonas aeruginosa* 969₁, которую смывали физиологическим раствором и взвешивали в конечной концентрации 10 МЕ. Затем готовили разведения с целью получения изолированных колоний в количестве 200-300 КОЕ на чашке Петри. Бактериальную суспензию (0,7 мл) вносили на чашку Петри без плёнки (контроль) и на чашку Петри с нанесённой TiO₂-плёнкой (опыт). Облучение проводили УФ лампой с разной временной экспозицией (от 15 до 60 минут). Затем бактерии в количестве 0,05 мл высевали на чашки Петри с мясо-пептонным агаром в двух повторностях. После 24 часов инкубации при 37°C, было подсчитано число КОЕ. Установлена динамика фотоиндуцированной бактерицидности на поверхности TiO₂-плёнок.

При часовой экспозиции на пленках под УФ-светом произошло снижение КОЕ для *S. aureus* 956 в 21 раз, для *S. epidermidis* 1061 в 15,2 раза, для *E. coli* 321-5 в 2,1 раза, для *P. aeruginosa* 969₁ в 6,3 раза, что позволяет рекомендовать TiO₂-плёнки для широкого практического применения в качестве поверхностного стерилизационного материала.

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ ДЫХАНИЯ МИТОХОНДРИЙ ЛЕТАТЕЛЬНЫХ МЫШЦ ШМЕЛЯ *BOMBUS TERRESTRIS* (L.)

Сыромятников М.Ю., Горбачева Т.М., Лопатин А.В., Попов В.Н.

Воронежский государственный университет, Воронеж (Россия)

E-mail: soki-tanya@yandex.ru

Электрон-транспортная цепь (ЭТЦ) митохондрий является ключевым местом окисления восстановительных эквивалентов, а также одним из основных источников генерации активных форм кислорода (АФК). Сравнительно мало изучена ЭТЦ насекомых, однако известно, что выработка АТФ митохондриями летательных мышц чрезвычайно высокая, что в свою очередь может привести к интенсивной продукции АФК и как следствие этого – повреждению клеточных компонентов. В связи с этим, целью данной работы явилось изучение интенсивности дыхания митохондрий летательных мышц шмеля *Bombus terrestris* (L.) на двух разных субстратах: сукцинат (ФАД⁺-опосредованный субстрат) и глутамат+малат (НАД⁺-опосредованный субстрат), а также изучение продукции пероксида водорода, как продукта дисмутации супероксид анион радикала митохондриями при дыхании на этих субстратах.

Интенсивность дыхания митохондрий на сукцинате составила 753,6 нмоль O₂ /мин*мг белка, в то время как на субстрате глутамат+малат дыхание составило 43 нмоль O₂ /мин*мг белка. Интенсивность продукции пероксида водорода митохондриями шмеля на сукцинате составила 1,72 нмоль H₂O₂ /мин*мг белка, а на субстрате глутамат +малат 0,48 нмоль H₂O₂ /мин*мг белка. Исходя из этих данных, следует, что при дыхании на сукцинате 0,23% потребленного кислорода идет на выработку пероксида водорода, а при дыхании на субстрате глутамат +малат 1,11% потребленного кислорода идет на выработку пероксида водорода. Таким образом, при довольно низкой интенсивности дыхания на субстрате глутамат+малат относительная выработка АФК выше, чем при дыхании на сукцинате. На продукцию перекиси в случае сукцината как субстрата дыхания идет в 4,83 раз меньшее количество потребленного кислорода, чем в случае глутамат+малат. Однако общее количество потребленного кислорода,

идушее на продукцию АФК, довольно низкое по сравнению, например, с млекопитающими, что говорит о высоком уровне антиоксидантной защиты *B. terrestris*.

РАСЧЕТ ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ДВУХ ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ СТАДИЙ РЕАКЦИИ ФИШЕРА ПОЛУЧЕНИЯ РЯДА КОНФОРМАЦИОННО ОГРАНИЧЕННЫХ АНАЛОГОВ МЕЛАТОНИНА

Давыдова И.Б.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики, Пущино (Россия)
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва (Россия)

E-mail: *orny@list.ru*

Методы вычислительной химии широко применяются для предсказания структуры, поиска и оптимизация путей синтеза рецепторов, являющихся основой высокоэффективных фармакологических субстанций. В данной работе методы квантовой химии и статистической термодинамики использованы для расчета термодинамических характеристик потенциальных терапевтических средств - производных бициклических каркасных структур на основе триптамина, рассматриваемых в качестве возможных лигандов мелатониновых рецепторов.

На примерах простейшего представителя класса пептидов - N-метилацетамида (**I**) и одного из соединений исследуемого класса - 6-ацетиламино-(5'-метоксииндоло[2,3-b])бицикло[3.2.1]окт-2-ена (**II**) проведен подбор уровня квантовохимического расчета, адекватно описывающего данный класс соединений. Исследованы колебательные (ИК и КР) спектры **II**, проведены квантовохимические расчеты с учетом возможной поворотной изомерии на различных уровнях теории. Из сопоставления экспериментальных и теоретических данных **I-II** сделан вывод, что расчеты на уровне V3LYP/6-31+G** удовлетворительно воспроизводят спектры и структурные параметры соединений. Данный уровень предсказывает величины теплот образования органических молекул с точностью ~2.4 ккал/моль. Выполнены расчеты термодинамических характеристик двух определяющих стадий реакции Фишера получения бициклических каркасных структур 5-амино-(5'-гидроксииндоло[2,3-b])бицикло[2.2.1]нон-2-ена (**III**) и структур с большими каркасами **II** и N-(5'-Метокси-индоло[2,3-b])бицикло[3.3.1]нон-2-ен-6-илацетамида (**IV**). Показана возможность протекания реакции для **II** и **IV** и затрудненность процесса для **III**, что соответствует экспериментальным данным. Таким образом, пространственное строение лигандов мелатониновых производных играет определяющую роль в их физико-химических свойствах. Квантовохимические методы могут использоваться для предсказания возможности получения и устойчивости химических продуктов и определения оптимальных условий протекания реакции, способствуя сокращению сроков и снижению стоимости разработки новых фармакологических субстанций, а также созданию структур с заданными характеристиками.

Работа частично поддержана грантом РФФИ № 11-03-00040.

ОЦЕНКА ТОЧНОСТИ РЕГИСТРАТОРОВ СЛАБЫХ НИЗКОЧАСТОТНЫХ СИГНАЛОВ НА ОСНОВЕ СИГМА-ДЕЛЬТА АЦП ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Гомов Е.Е.^{1,2}, Казанцев А.П.¹

Институт биологического приборостроения РАН, Пущинский государственный университет, Пущино (Россия)

Множество методов физико-химической биологии основывается на использовании цифровых измерительных приборов и систем, от которых требуется высокое разрешение (рН-метрия, ионометрия, микрофлуориметрия, микроспектрометрия, микрокалориметрия и др.). Большая часть этих методов ориентирована на регистрацию слабых и медленных сигналов – кинетик, спектрограмм и т.п. Такие сигналы имеют большие постоянные времени или являются низкочастотными при рассмотрении в частотной области. Для информативности наблюдений

от инструментария здесь часто требуются как охват большого диапазона исследуемой величины, так и высокая чувствительность к ее изменениям. Раньше эти возможности были трудно совместимы, а сейчас могут быть осуществлены одновременно применением многоуровневых сигма-дельта АЦП (16-24 бит).

Однако создатели приборов и систем для этих исследований сталкиваются с необходимостью контроля точности прототипов в ходе разработки. Требуется регистрация и анализ собственно погрешностей, выявление и устранение их источников – итерационный технологический процесс минимизации погрешностей. Для решения этой задачи предложен метод анализа мешающих факторов и наблюдения за источниками помех, как внешними, так и внутренними по отношению к разрабатываемому средству измерения. Также сформирована архитектура виртуального аналитического инструмента для контроля точности, разработаны архитектурный каркас анализатора и библиотека классов («чертежей» строительных блоков) для создания разнообразного инструментария. Реализован и используется в ИБП РАН комплекс виртуальных инструментов, предназначенный для тестирования и оценки точности разрабатываемых регистраторов на основе микроконтроллеров MSP430 (Texas Instruments) с интегрированным сигма-дельта АЦП SD16A.

ОСОБЕННОСТИ РАЗРАБОТКИ И ТЕХНОЛОГИИ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ИНДУКТОРОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕРВНО-МЫШЕЧНОЙ СИСТЕМЫ

Сорочинский А.А., Старченко И.Б.

Таганрогский технологический институт Южного федерального университета,
Таганрог (Россия)

E-mail: *Alex_res87@mail.ru*

Главным звеном в системе магнитного стимулятора является индуктор. Биологический и лечебный эффект напрямую зависит от таких физических характеристик магнитного поля как вид, напряжённость, градиент, направленность вектора, частота, форма и скважность импульса, экспозиция и локализация. Эти параметры оказывают определенное влияние на формирование ответных реакции организма.

При выборе для работы той или иной катушки учитываются генерируемая ею пиковая мощность магнитного поля и соответственно пиковая мощность электрического поля, необходимая частота предъявления стимула, форма и вес катушки. Для создания сильных магнитных полей целесообразно использование сердечников, экранов и других устройств из ферромагнитных материалов для фокусировки поля. Это связано с неизбежным насыщением ферромагнетиков в магнитных полях. Как показал проведенный анализ при проектировании соленоидов для создания больших магнитных полей необходимо учитывать факторы, связанные с тепловыделением и прочностные характеристики

Для экспериментальных целей были сделаны катушки из деталей изготовленных на станке с числовым программным управлением. Для целей магнитной стимуляции нервной системы наиболее подходят индукционные катушки плоского типа. Индукционные катушки могут иметь намотку в виде спирали. Причем от соотношения внутреннего и наружного диаметров спирали будет зависеть степень однородности магнитного поля в непосредственной близости к соленоиду. Наибольшая однородность поля достигнута, для полностью заполненной плоской катушки (внутренний диаметр равен нулю). В случае сближения значений внутреннего и наружного диаметров катушки неоднородность поля (его z-компоненты) будет расти с появлением локального минимума B_z на оси койла. На достаточно больших расстояниях от катушки поле убывает по закону $1/z^3$.

В результате использования разработанного индуктора происходит возбуждение двигательных нейронов, что приводит к распространению импульса по кортикоспинальному тракту к мотонейронам спинного мозга и, затем, по корешкам и периферическим нервам к мышцам. Таким образом, удается зарегистрировать сокращение мышцы электромиографом в ответ на стимуляцию через ткани головы коры головного мозга.

Проведенные экспериментальные исследования позволяют разработать, оптимизировать режимы и показать перспективность применения магнитной стимуляции.

ДЕТЕКЦИЯ СТАФИЛОКОККОВОГО ЭНТЕРОТОКСИНА А С ПОМОЩЬЮ ИММУНО-ПЦР В ВАРИАНТЕ ФАГОВОГО ДИСПЛЕЯ МИНИАНТИТЕЛ

Фурсова К.К.¹, Макеев В.Н.²

¹Филиал Института биоорганической химии им. акад. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Пущино (Россия)

²Удмуртский государственный университет, Ижевск (Россия)

E-mail: phursova_k@ramber.ru

Более 60% населения развитых стран, а также Российской Федерации, являются носителями стафилококков, служащих причиной различных инфекционных заболеваний и аутоиммунных процессов. Проблема усугубляется тем, что появляется все большее число антибиотико-резистентных штаммов *Staphylococcus aureus*. В связи с этим диагностика стафилококков представляет в настоящее время очень важную задачу в медицине и биотехнологии.

Одним из перспективных инструментов, широко используемых в диагностике, являются антитела. На их основе разработано множество методов детекции, включая различные варианты иммуноферментного анализа, иммуноблот-анализа и иммуно-ПЦР.

Нами в качестве антигена был выбран стафилококковый энтеротоксин А, как наиболее распространенный энтеротоксин, продуцируемый *S. aureus*. Синтез данного антигена бактериями может служить, как причиной пищевого отравления, так и вызывать различные воспалительные процессы, аутоиммунные заболевания и быть причиной токсического шока с возможным летальным исходом. Токсическая доза для человека составляет 20 нг/кг при пероральном введении энтеротоксина, а при попадании через легкие или непосредственно в кровь эта доза уменьшается в разы.

В данном исследовании разработан способ детекции антигена помощью рекомбинантных антител в фаговом варианте на основе иммуно-ПЦР. Метод позволяет избежать использования конъюгата моноклональных антител с ДНК, которые необходимы в традиционном иммуно-ПЦР анализе. Вместо этого используются фаговые частицы, как доступный реагент. Фаговые частицы, экспонирующие на своей поверхности миниантитела, представляют собой готовый конъюгат ДНК и аффинного антитела, против энтеротоксина. Миниантитела взаимодействуют с антигеном, а фаговая ДНК выполняет функцию матрицы для ПЦР. Такой способ позволяет увеличить уровень детекции антигена на несколько порядков по сравнению с традиционным ИФА, а также с «сэндвич»-ИФА. Так в результате проведенной работы с помощью технологии фагового дисплея методом аффинной селекции на стафилококковом энтеротоксине А были получены одноцепочные миниантитела. Уровень детекции в непрямом «сэндвич»-ИФА составлял 6 нг/мл. Чувствительность метода иммуно-ПЦР с использованием фаговых частиц составила 2пг/мл.

СЕКЦИЯ «Фотобиология и физиология растений»**КАК ФОТОТРОФЫ ЗАЩИЩАЮТСЯ ОТ СИНГЛЕТНО-ВОЗБУЖДЕННОГО КИСЛОРОДА****Проскуряков И.И.**

Учреждение Российской академии наук Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пушкино (Россия)

Синглетный кислород является мощным окислителем; взаимодействие с ним клеток быстро приводит к их гибели. Условия для генерации синглетного кислорода особенно «благоприятны» на световых стадиях фотосинтеза. Это определяется тем обстоятельством, что энергии триплетных состояний хлорофилльных пигментов достаточно для перевода молекул кислорода из основного – триплетного – в возбужденное синглетное состояние. Соответственно, основными способами защиты от $^1\text{O}_2^*$ в процессе фотосинтеза являются дезактивация триплетов хлорофилльных молекул и предотвращение их образования.

В докладе будет рассказано о соответствующих механизмах, возникших в процессе эволюции фотосинтезирующих организмов. Основным каналом дезактивации триплетных состояний является быстрый триплет-триплетный перенос энергии на молекулы каротиноидов. Возникающие при этом триплеты каротиноидов имеют короткое время жизни и энергию, недостаточную для возбуждения O_2 . В некоторых случаях использование молекул каротиноидов оказывается невозможным. В таких случаях работают иные механизмы, понижающие вероятность генерации триплетов хлорофиллов.

Собственные исследования автора в данной области проводятся с использованием метода электронного парамагнитного резонанса высокого временного разрешения. Данный метод позволяет достаточно надежно идентифицировать молекулярную природу триплетных молекул и исследовать механизмы их генерации и дезактивации.

ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ И ПРОДУКТИВНОСТЬ РАСТЕНИЙ САЛАТА ПРИ ОСВЕЩЕНИИ СВЕТОДИОДАМИ С РАЗНЫМ СПЕКТРОМ ИСПУСКАНИЯ**Аверчева О.В., Птушенко В.В., Таранов Е.А., Быкова Е.А.**

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, биологический факультет; Институт биохимической физики им. Н.М.Эммануэля РАН, Москва (Россия)

E-mail: olga.avercheva@gmail.com

Спектральный состав света регулирует морфогенез растений, структуру и функциональную активность фотосинтетического аппарата (ФСА). Появление новых источников освещения - светоизлучающих диодов (СД), обладающих узкополосным спектром испускания, открывает новые возможности для исследования воздействия отдельных спектральных полос на жизнедеятельность растений. Кроме того, в силу своих технических преимуществ СД являются перспективным источником освещения для светокультуры растений. В ряде работ показана возможность выращивания растений при освещении СД с красно-синим спектром, однако реакция растений на такое освещение неоднозначна.

Мы исследовали состояние ФСА и продуктивность растений салата (*Lactuca sativa* L.), выращенных при освещении облучателем на основе СД. Растения выращивали при трёх спектральных составах освещения: красные (660 нм) и синие (450 нм) СД; красные и синие СД с добавлением зелёных (535 нм); красные и синие СД с добавлением жёлтых (590 нм). В утренние и вечерние часы к СД освещению добавляли свет от дальних красных СД (750 нм). Контролем служили растения, выращенные при освещении люминесцентными лампами (ЛЛ).

У растений, выращенных под СД, по сравнению с контролем ниже содержание хлорофиллов (Хл) на единицу массы листа. Работа ЭТЦ фотосинтеза, оцененная по показателям флуоресценции Хл, мало зависела от спектрального состава света. При

исследовании спектров отражения целого листа показано, что листья растений, выращенных при освещении с большей долей зелёного света в спектре, поглощают больше света в этой области. В целом можно говорить об адекватной адаптации ФСА растений к узкополосному освещению. При этом растения, выращенные при освещении СД, обладали большей массой и площадью листьев, чем растения, выращенные при освещении ЛЛ. По-видимому, механизмы, обеспечившие накопление большей биомассой этими растениями, не связаны напрямую с работой ФСА.

ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ЛИПИДОВ В МУЖСКИХ СОЦВЕТИЯХ РОДА *BETULA* L. В ВЕСЕННИЙ ПЕРИОД

Серебрякова О.С.

Институт леса Карельского научного центра РАН, Петрозаводск (Россия)

E-mail: 531521@mail.ru

Целью нашей работы было изучение жирнокислотного состава суммарных липидов, содержащихся в мужских соцветиях березы пушистой (*Betula pubescens* Ehrh.) и березы повислой (*Betula pendula* Roth), в период их весеннего развития.

В результате наших исследований было установлено, что в условиях южной части Республики Карелия в мужских соцветиях березы пушистой и березы повислой содержалось значительное количество жирных кислот, но их величина зависит от фенологической фазы развития соцветий и колеблется от 10,6 до 35,8 мг/г сухой массы. У березы пушистой и березы повислой ненасыщенные жирные кислоты преобладали над насыщенными. Коэффициент ненасыщенности (т.е. отношение суммы ненасыщенных жирных кислот к насыщенным) у березы пушистой был близким к 1,5, а у березы повислой 0,8, что свидетельствует о высоком содержании ненасыщенных жирных кислот, которые защищают мужские соцветия от воздействия низких положительных и/или отрицательных температур.

Полученные результаты показали, что по количеству суммарных липидов береза пушистая значительно отличается от березы повислой, так в фазу разрыхления мужских соцветий у березы пушистой (35,8 мг/г сух. массы), а у березы повислой (10,6 мг/г сух. массы). В момент пыления мужских соцветий у березы пушистой (26,9 мг/г сух. массы), а у березы повислой (16,9 мг/г сух. массы), однако после пыления соцветий у березы повислой количество суммарных липидов больше (14,7 мг/г сух. массы), чем у березы пушистой (11,7 мг/г сух. массы).

24-ЭПИБРАССИНОЛИД РЕГУЛИРУЕТ ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА ЦИТОКИНИНОКСИДАЗЫ В РАСТЕНИЯХ ПШЕНИЦЫ В НОРМЕ И ПРИ ЗАСОЛЕНИИ

Сомов К.А., Юлдашев Р.А., Авальбаев А.М.

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа (Россия)

E-mail: ksomov@mail.ru

Ранее нами было выявлено, что обработка растений пшеницы 24-эпибрассинолидом (ЭБ) вызывает быстрое и стойкое двукратное накопление цитокининов (ЦК), важный вклад в которое вносит способность ЭБ тормозить активность ключевого в деградации ЦК фермента цитокининоксидазы (ЦО) и кодирующего его гена. С поддержанием повышенного вдвое содержания эндогенных цитокининов в обработанных ЭБ растениях, вероятно, связано проявление рост-стимулирующего действия ЭБ, поскольку ЦК также обладают этим свойством. Кроме того, и ЭБ, и ЦК характеризуются ярко выраженным антистрессовым эффектом по отношению разных по природе неблагоприятных факторов среды.

Нами было выявлено, что предобработка ЭБ до стресса способствует снижению степени повреждающего действия засоления на рост растений, который, по-видимому, обусловлен меньшим уровнем стресс-индуцированного накопления АБК и уменьшения содержания

ауксина, а также поддержанием концентрации ЦК на уровне ЭБ-предобработанных и не подвергнутых стрессу растений.

В связи с вышесказанным, особый интерес вызывает изучение роли ЦО в регуляции содержания ЦК в предобработанных ЭБ растений в условиях засоления. При этом следует отметить, что при стрессе биосинтез ЦК обычно тормозится, поэтому можно полагать, что в поддержании их повышенного уровня в ЭБ-предобработанных растениях важный вклад вносит существующий пул активных цитокининов в отличие от таковых необработанных ЭБ. Действительно, засоление вызывало усиление транскрипции гена ЦО, что сопровождалось снижением содержания цитокининов и торможением роста растений. В ЭБ-предобработанных проростках при стрессе уровень экспрессии гена ЦО соответствовал контрольному значению, что отразилось в поддержании в них концентрации цитокининов на уровне близком контролю и предотвращении рост-ингибирующего действия засоления.

Полученные результаты указывают на важную роль цитокининоксидазы в регуляции ЭБ количественного уровня цитокининов в растениях пшеницы в норме и при засолении.

ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ТРАНСКРИПЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ *TADHN* ГЕНА ДЕГИДРИНА ПШЕНИЦЫ

Ключникова Е.О., Аллагулова Ч.Р.

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и генетики
Уфимского научного центра РАН, Уфа (Россия)

E-mail: ekaterina.ibg@gmail.com

Важная роль в формировании устойчивости растений к дефициту влаги отводится белкам дегидринам, признанным индуктором синтеза которых является абцизовая кислота (АБК). Ранее было выявлено усиление экспрессии *TADHN* гена дегидрина пшеницы в растениях в ответ на засуху и гипотермию, которому предшествовало накопление АБК. К настоящему времени накоплено немало данных об участии и других фитогормонов в регуляции устойчивости растений к обезвоживанию, в частности, брассиностероидов и цитокининов, однако сведения о вовлечении дегидринов в спектр их протекторного действия в литературе отсутствовали. Цель работы состояла в анализе влияния 24-эпибрасинолида (ЭБ) и цитокинина 6-бензиламинопурина (БАП) на экспрессию *TADHN* гена в растениях пшеницы.

Выявлено, что обработка 4,4 мкМ ЭБ вызывает увеличение экспрессии *TADHN* гена в проростках при отсутствии изменений в содержании АБК, свидетельствующее о способности ЭБ регулировать этот процесс независимым от АБК путем. БАП в двух взятых в опыт концентрациях, 4,4 мкМ и 44 нМ, также стимулирует экспрессию гена *TADHN*, хотя пути регуляции гормоном транскрипции *TADHN* гена различаются и зависят от концентрации. Так, выявлено, что обработка 4,4 мкМ БАП вызывает в проростках сначала накопление АБК, а затем активацию экспрессии гена дегидрина, свидетельствующее об участии эндогенной АБК в регуляции 4,4 мМ БАП транскрипции гена, что было доказано с использованием ингибитора синтеза АБК флуридона. В случае обработки проростков 44 нМ БАП присутствие флуридона не предотвращало индукцию экспрессии *TADHN* гена.

Таким образом, нами впервые показана чувствительность *TADHN* гена к ЭБ и цитокинину, что указывает на вовлечение этого гена в спектр их защитного действия. Выявлено наличие альтернативных путей гормональной регуляции экспрессии гена *TADHN*, которые могут осуществляться как АБК-опосредованным, так и АБК-независимым образом.

ВЛИЯНИЕ ПИРРОЛО[4,3-D]ПИРИМИДИН-2,5-ДИОНОВ НА ПРОРАСТАНИЕ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР

Лебедева И.А., Повстяной М.В., Повстяной В.М.

Херсонский национальный технический университет, Херсон (Украина)

E-mail: irabiginelli@gmail.com

С целью расширения спектра существующих регуляторов роста растений были синтезированы следующие аналоги стимулятора роста «Кинетин» **I-3**:

1. 1-Фенил-3-*n*-толил-6-метил-гексагидропирроло[3,4-*d*]пиримидин-2-он;
2. 1-(α -Метилфурил)-3-(*n*-метокси)-фенил-6-метилгексапирроло[3,4-*d*]пиримидин-5-он;
3. 1-Бензил-3-*n*-толил-6-метилгексагидропирроло[3,4-*d*]пиримидин-5-он.

Изучение стимулирующего действия соединений **1-3** проводилось на универсальных полевых культурах – горохе сорта Топаз и озимой пшенице сорта Дриада-1. Замеры биометрических показателей пшеницы и гороха проводились на стадии двухнедельного прорастания семян. Повторяемость опыта – трехкратная.

В результате проведения опытов установлено, что производные пиримидина **1-3** проявили биологическую активность на начальной стадии онтогенеза изучаемых культур. Весовая концентрация раствора дигидропиримидина **1** 0,00001% стимулировала рост стебля (увеличение массы стебля на 7% по отношению к показателям контроля) и развитие корневой системы гороха (увеличение массы корня на 91% к контролю), в то время как соединения **2** и **3** показали незначительный эффект задержки роста стебля (80–96% от показателей контроля) при концентрации раствора 0,00001%. Таким образом, удалось установить, что наибольший стимулирующий эффект наблюдался при пониженных концентрациях исследуемых соединений (0,00001 и 0,0001%), а повышение концентрации (до 0,001% и выше) приводило к ингибции ростовых процессов исследуемых культур.

СТРАТЕГИЯ АДАПТАЦИИ СЕЯНЦЕВ *PINUS SYLVESTRIS* L. ПРИ ДЕЙСТВИИ ИЗБЫТОЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ЦИНКА

Савочкин Ю.В., Иванов Ю.В.

Учреждение Российской академии наук Институт физиологии растений
им. К.А.Тимирязева РАН, Москва (Россия)

E-mail: savochkinmail@mail.ru

Исследовано действие избыточных концентраций цинка на активность антиоксидантной системы защиты сеянцев сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.). Проращивание семян и выращивание сеянцев осуществляли в камере фитотрона при 16 ч световом периоде, в условиях водной культуры (Кноп/Хогленд) с содержанием 1,26 (контроль) и 100 мкМ ZnSO₄.

При избытке цинка показано увеличение активности супероксиддисмутазы (СОД) – фермента «первой линии защиты» клетки от активных форм кислорода, в корнях (в 2,4 раза) и падение активности в стволиках (36%) и семядолях (24%) сеянцев. Влияния цинка на активность СОД в хвое сеянцев не обнаружено. Действие 100 мкМ ZnSO₄ приводило и к увеличению активности ферментов, разрушающих перекись водорода. Активность каталазы в корнях и стволиках возрастала по отношению к контролю на 39% и 47%. В семядолях и хвое увеличение активности каталазы (13% и 11%) происходило менее выражено. Увеличение активности аскорбатпероксидазы в корнях, стволиках и хвое составило 41%, 31% и 7% соответственно.

На фоне разнонаправленных изменений активности ферментативной (СОД, каталаза, аскорбатпероксидаза) защитной системы, активация неферментативных компонентов (пролин) носила менее выраженный характер. Увеличение содержания пролина при действии 100 мкМ ZnSO₄ обнаружено во всех органах сеянцев: корни (в 2,4 раза), стволики (на 20%), семядоли (на 31%) и хвоя (на 33%). Накопление пролина в органах сеянцев при действии цинка было связано с ингибированием активности пролиндегидрогеназы в стволиках (в 2,1 раза), семядолях (в 1,6 раз) и хвое (на 13%). При этом в корнях сеянцев при увеличении содержания пролина интенсивность его катаболизма возрастала на 68%.

Таким образом, в условиях избыточных концентраций цинка, стратегия адаптации сеянцев сосны направлена на активацию ферментативных, защитных систем.

СЕЯНЦЫ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ КАК ИНДИКАТОР ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ЦИНКА

Савочкин Ю.В., Иванов Ю.В.

Учреждение Российской академии наук Институт физиологии растений

им. К.А.Тимирязева РАН, Москва (Россия)

E-mail: savochkinmail@mail.ru

Развитие промышленности и рост объёмов добычи полезных ископаемых, сопровождаются увеличением эмиссии тяжёлых металлов, в т.ч. цинка. Отсутствие сведений о последствиях для хвойных растений, увеличения его содержания в почвах, не позволяет оценить возможные масштабы данного воздействия.

Сеянцы сосны (*Pinus sylvestris* L.) выращивали в условиях фитотрона при 16-ч световом периоде в водной культуре (Кноп/Хогленд) с содержанием 1,26 (контроль), 50, 100 и 150 мкМ ZnSO₄. Через 6 недель эксперимента токсичность цинка для сеянцев установлена по развитию корневой системы. Ингибирование прироста главного корня в длину составило 18% (50 мкМ), 22% (100 мкМ) и 17% (150 мкМ). При этом сокращение протяженности зоны образования вторичных корней при исследованных концентрациях цинка составило 45%, 50% и 56%, соответственно. Ингибирование развития ассимиляционного аппарата сеянцев при исследованных концентрациях, в большей степени, проявлялось в уменьшение количества хвоинок на: 13% (50 мкМ), 17% (100 мкМ) и 26% (150 мкМ ZnSO₄). При этом значительного ингибирования прироста хвои в длину не отмечено: 9% (50 мкМ), 11% (100 мкМ) и 4% (150 мкМ).

Высокие концентрации цинка приводили к снижению содержания хлорофилла *a* на 8% (50 мкМ), 32% (100 мкМ) и 26% (150 мкМ); хлорофилла *b* на 12%, 37% и 36% соответственно. Наблюдаемый эффект связан со снижением интенсивности поглощения других эссенциальных элементов, вследствие конкуренции с цинком. К окончанию эксперимента сеянцы, подверженные действию цинка, характеризовались недобором биомассы: 17% (50 мкМ), 16% (100 мкМ) и 12% (150 мкМ).

Таким образом, даже сравнительно невысокие концентрации цинка способны вызывать значительное ингибирование развития сеянцев сосны.

РОЛЬ ЭПИБРАССИНОЛИДА В РАЗВИТИИ ЭТИОЛИРОВАННЫХ ПРОРОСТКОВ *ARABIDOPSIS THALIANA*

Елисеева М.А, Ефимова М.В

Томский государственный университет, Томск (Россия)

E-mail: feniks216@rambler.ru

Фитогормоны выполняют важную роль в регуляции основных процессов онтогенеза растений от прорастания семян до их старения. В последнее время получило развитие представление об участии фитогормонов в реализации световой программы растений. Особое место в ходе этих процессов отводится новому классу фитогормонов – brassinosteroidам (БС). Показано, что растения с нарушенным синтезом или рецепцией БС имеют признаки деэтиоляции в темноте.

Для изучения роли БС в световом развитии растений использовали активный brassinosteroid – эпибрассинолид (ЭБЛ) в концентрации 10⁻⁶ и 10⁻⁸ М. Обработку фитогормоном проводили до или после стратификации семян. В ходе исследований проанализирован морфогенез и пигментный состав проростков *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh экотипа *Columbia* в темноте.

Показано, что обработка семян ЭБЛ до стратификации вызывала проявление признаков деэтиоляции (подавление роста гипокотилей и усиление роста семядолей) только в концентрации гормона 10⁻⁶ М, в то время как при обработке семян эпибрассинолидом после стратификации аналогичный эффект не зависел от концентрации гормона. Содержание фотосинтетических пигментов под влиянием экзогенного ЭБЛ зависело от концентрации фитогормона и времени обработки. Низкая концентрация ЭБЛ (10⁻⁸ М) при обработке семян до стратификации вызывала увеличение содержания хлорофилла *b*, в то время как высокая концентрация гормона приводила к повышению уровня основного пигмента фотосинтеза – хлорофилла *a*. Уровень каротиноидов в этиолированных проростках увеличивался под влиянием ЭБЛ примерно в два раза вне зависимости от концентрации гормона и времени обработки.

Таким образом, установлено, что экзогенный эпибрасинолид инициировал световую программу проростков *Arabidopsis* в темноте, при этом влияние ЭБЛ на морфогенез и пигментный состав растений определялось онтогенетическим состоянием растения.

Работа поддержана ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы (гос. контракт № П1369) и РФФИ (11-04-90732-моб_ст).

АНАЛИЗ ОБРАЗОВАНИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В РАСТЕНИЯХ ПРИ ИХ КОЛОНИЗАЦИИ АССОЦИАТИВНЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ

**Ветошкина Д.В.¹, Пиголева С.В.², Захарченко Н.С.², Чепурнова М.А.¹,
Лебедева А.А.², Ермошин А.А.³, Бурьянов Я.И.²**

¹Тульский государственный университет, Тула (Россия)

²Филиал Учреждения Российской академии наук Института биоорганической химии им. акад. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Пущино (Россия)

³Уральский государственный университет им. А.М.Горького, Екатеринбург (Россия)

E-mail: darja-vetoshkina@rambler.ru

Одним из сигнальных путей, приводящих к активации защитных систем растения, являются активные формы кислорода (АФК), образующиеся при действии на растения различных факторов окружающей среды. Известно, что колонизация растений полезными ассоциативными микроорганизмами повышает устойчивость растений к биотическим и абиотическим стрессовым факторам, за счет синтеза ими различных физиологических веществ.

Целью нашей работы было изучение влияния колонизации растений на некоторые компоненты НАДФН-оксидазной сигнальной системы, являющихся основной причиной окислительного взрыва. Среди АФК выделяют супероксид анион, уровень которого контролирует супероксиддисмутаза (СОД) и пероксид водорода, уровень которого контролируется каталазой. Для индукции АФК использовали токсичное соединение гербицид паракват (5 мкМ, в течение 20 часов) Для колонизации растений использовали ассоциативные микроорганизмы *Methylovorus mays* В-2221.

Проведенные эксперименты показали, что при обработке паракватом колонизированных растений активность СОД отличалась, по сравнению с не колонизированными растениями, что говорит о более активной нейтрализации супероксид аниона в колонизированных растениях в условиях окислительного стресса. Исследование активности каталазы у колонизированных растений была выше по сравнению с неколонизированными, что свидетельствует о разном уровне индукции каталазы пероксидом водорода в колонизированных и неколонизированных растениях в условиях окислительного стресса, вызванного паракватом.

Работа поддержана грантами РФФИ № 10-04-00037, № 11-04-00669, Программа «У.М.Н.И.К» (2011 г.).

ГЕНЫ UNIFOLIATA И TENDRILLED ACACIA-A УЧАСТВУЮТ В ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ СЛОЖНОГО ЛИСТА У ГОРОХА *PISUM SATIVUM* L.

Синюшин А.А., Зеленев А.Н.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
биологический факультет, Москва (Россия)

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт зернобобовых
и крупяных культур РАСХН, Орел (Россия)

E-mail: asinjushin@mail.ru

Развитие сложного листа регулируется множеством генов, и к настоящему моменту описано значительное число мутаций, нарушающих протекание этого процесса у различных видов, среди которых горох посевной (*Pisum sativum* L.) является наиболее удобной моделью. Одним из ключевых генов, вовлеченных в контроль развития листа у гороха, является *UNIFOLIATA* (*UNI*); мутация *uni* приводит к формированию однолисточкового листа. Гомозиготы по аллелю *uni*^{lac} обладают фенотипом «усиковая акация»: лист несет и листочки, и

усики, но рахис завершается листочком. В 2002 г. был выделен оригинальный спонтанный мутант, обладающий фенотипом, практически неотличимым от мутанта *uni^{tac}*, но не аллельный ему. Первоначально эта форма была обозначена символом *tac^A*, но сейчас предлагается переименовать ее в *uni2*.

Работа представляет результаты изучения фенотипа мутантов *uni^{tac}* и *tac^A*, в том числе на фоне мутации *afila* (*af*, повышает степень разветвленности рахиса и превращает листочки в усики). Аномалии у мутантов *uni^{tac}* проявляются уже на первых листьях (катафиллах), которые приобретают небольшую листовую пластинку. Одна из функций гена *UNI* предположительно связана с поддержанием пролиферативной активности примордиев рахиса и усиков. При этом прекращение пролиферации сопряжено с формированием бифациальной структуры. Именно поэтому у гомозигот по «жесткому» аллелю *uni* рахис рано прекращает пролиферацию и неизменно завершается единственным листочком. У гомозигот по более «мягкому» аллелю *uni^{tac}* успевают сформироваться примордии всех латеральных органов, кроме последней пары усиков, а терминальный примордий дает начало листочку. У мутантов *af tac^A* развивается сложный лист с рассеченными листочками, что, вероятно, также связано с подавлением пролиферации примордиев, их уплощением и слиянием.

Работа поддержана РФФИ (грант № 10-04-01480) и программой Президиума РАН «Ведущие научные школы».

ВЛИЯНИЕ ПРОЛИНА НА АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ *THELLUNGIELLA SALSUGINEA*

Сошинкова Т.Н., Королькова Д.В.

Учреждение Российской академии наук Институт физиологии растений
им. К.А.Тимирязева РАН, Москва (Россия)

E-mail: soshinkova@mail.ru

В растениях функционируют различные метаболические пути, позволяющие синтезировать множество низкомолекулярных соединений с антиоксидантными свойствами в ответ на действие неблагоприятных факторов. Причем аккумуляция этих соединений коррелирует с повышением устойчивости растений к действию абиотических стрессоров. В настоящее время остается мало изученным вопрос о взаиморегуляции высокомолекулярных и низкомолекулярных компонентов антиоксидантной системы. Экстремофильное растение *Thellungiella salsuginea* характеризуется высокими уровнями накопления такого низкомолекулярного антиоксиданта, как пролин в неблагоприятных условиях.

В связи с этим, целью данной работы была проверка предположения, что внутриклеточное содержание пролина в нормальных условиях культивирования у суспензионной культуры *Thellungiella* строго регулируется и его повышение вызывает изменение в активности антиоксидантных ферментов. Для этого в суспензионные культуры вносили концентрации экзогенного пролина в диапазоне от 0,2 до 5мМ. Пробы отбирали через 1ч, 6ч, 12ч и 24ч. Активности антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы и аскорбатпероксидазы повышались к 12 ч экспозиции. Значительные изменения в содержании внутриклеточного пролина отмечались при обработке этой аминокислотой в концентрации 2 и 5мМ при экспозиции 6ч. В первом случае содержание пролина резко увеличивалось, а во втором снижалось. Активность пролиндегидрогеназы, ключевого фермента катаболизма пролина, увеличивалась к 12 ч эксперимента. Этот факт свидетельствует о необходимости поддержания оптимального уровня метаболита. Через 12 ч во всех случаях происходило снижение интенсивности перекисного окисления липидов, которая через сутки совпадала с контролем. Возможно, в нормальных условиях культивирования пролин проявляет прооксидантные свойства, вызывая увеличение активности ферментов-антиоксидантов.

ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ЗАВИСИМОСТИ МЕЖДУ ФОТОСИСТЕМАМИ В ХОДЕ СИНХРОННОГО ИЗМЕРЕНИЯ ИНДУКЦИИ БЫСТРОЙ И ЗАМЕДЛЕННОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ

Патрин М.М.

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва (Россия)

E-mail: *octomax5@gmail.com*

В настоящее время актуальным является одновременное изучение процессов внутри фотосистемы II (ФСII) и фотосистемы I (ФСI). *ЛП*-тест является наиболее информативным методом изучения событий в донорной части ЭТЦ, с другой стороны, кинетику окислительно-восстановительных процессов в ФСI оценивают по изменению поглощения света при 820 нм (ΔA_{820}). Для одновременной регистрации кинетики быстрой и замедленной флуоресценции реакционного центра ФСII и кинетики окислительно-восстановительного потенциала реакционного центра ФСI (P700) у зеленой водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* использовали мультифункциональный анализатор эффективности растений M-PEA 2 (Hansatech, UK). В качестве объекта исследований использовали культуру *Chlamydomonas reinhardtii* Dang. Функциональная зависимость между фотосистемами оценивалась экспериментально при различных внешних условиях: интенсивность действующего света; наличие ингибиторов (DCMU и гидроксилламин); выращивание на среде без содержания сульфатов.

Ингибиторный анализ в условиях насыщающей интенсивности света (5000 мкЕ) позволил предположить активацию компенсаторных путей электронного транспорта между фотосистемами. Диурон и гидроксилламин оказывают ингибирующее воздействие на донорную часть ЭТЦ (ФС2), не затрагивая акцепторной части (ФСI). Наиболее выраженное ингибирование наблюдается при росте культуры в условиях «серного голодания», когда не наблюдается реокисления P700⁺. Дополнительное введение диурона в таких условиях вызывает быстрое накопление P700⁺. Описанная кинетическая модель учитывает функциональную зависимость между фотосистемами на основании данных о степени окисления реакционных центров фотосистем в различном временном диапазоне.

Синхронный анализ нескольких сигналов позволяет проводить комплексную оценку состояния фотосинтетической активности. Этот подход является дополнительным к другим методам исследованиям и позволяет получить количественные и качественные данные о взаимосвязи комплексов фотосистем. Написанная на основании экспериментальных данных модель может быть использована для задач экологического мониторинга.

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ПРОИЗРАСТАНИЯ И ФЕНОФАЗЫ НА СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛОВ В ЛИСТЬЯХ БРУСНИКИ

Березина Е.В., Хусаинова М.Ф.

Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского,

Нижний Новгород (Россия)

E-mail: *berezina_ek@52.ru*

Брусника обыкновенная (*Vaccinium vitis-idaea* L.) имеет важное пищевое и лекарственное значение, которое во многом обусловлено наличием в ней фенолов. Содержание фенолов зависит от условий обитания и фенофазы, поэтому знание особенностей биологии и экологии растений необходимо для сбора наиболее продуктивного сырья. В работе проводили сравнение содержания фенолов в листьях брусники в периоды цветения (июнь), плодоношения (сентябрь). Листья брусники собирали в Арзамасском и Балахнинском районах Нижегородской области; количество общих растворимых фенольных соединений (ОРФС), флавонолов, катехинов, антоцианов определяли спектрофотометрически (UV-1700 (Shimadzu)).

Содержание ОРФС (мг/г сырой массы) в июне в листьях брусники из Арзамасского и Балахнинского районов составило 96 и 75 соответственно; в сентябре – 131 и 150, т.е. увеличилось в 1,4 и 2 раза. Доля флавонолов в ОРФС к сентябрю также возросла: с 41% до 71% (Арзамасский район), с 53% до 80% (Балахнинский район). Аналогично, при переходе к плодоношению увеличилось содержание катехинов: для брусники Арзамасского района – в 1,7, Балахнинского – в 5 раз, причем в июне в листьях растений из Арзамасского района катехинов

было больше в 1,5 раза, чем в листьях из Балахнинского, а в сентябре – в листьях из Балахнинского в 2 раза больше. Наличие антоцианов выявлено только в осенних листьях брусники из Арзамасского района (0,03 мг/г сырой массы).

Статистически значимые отличия между двумя популяциями брусники отмечены для катехинов (в июне больше в Арзамасском районе, в сентябре наоборот), антоцианов (в сентябре больше в Арзамасском районе). В целом, балахнинская популяция брусники как более северная отличается от арзамасской значительным увеличением содержания ОРФС, флавонолов, катехинов, многие из которых являются ингибиторами роста, подготавливающими растения к периоду покоя.

ОБРАЗОВАНИЕ АУТОФАГОСОМ В КЛЕТКАХ КОРНЕЙ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ СТЕРИНОВОГО ИСТОЩЕНИЯ

Сулкарнаева А.Г., Пономарева А.А., Ишемгулова А.В., Рябовол В.В., Валитова Ю.Н., Минибаева Ф.В.

Казанский (Приволжский) федеральный университет; Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, Казань (Россия)

E-mail: *albinusik_89@mail.ru*

Стерины являются важными компонентами биологических мембран, оказывающими упорядочивающее воздействие на их структуру. Важной особенностью стериннов является высокое сродство к сфинголипидам, что способствует формированию ими липидных микродоменов (рафтов), на которых локализуются сигнальные комплексы. Истощение стериннов может приводить к нарушению структуры мембранных рафтов, целостности и функциональной активности мембран и приводить в результате к гибели клеток по пути аутофагии. Аутофагия («самопоедание» клеток) играет важную роль во многих физиологических процессах и поддержании гомеостаза. Аутофагия сопровождается образованием аутофагических вакуолей (аутофагосом), содержащих фрагменты цитоплазмы и органеллы.

Целью настоящего исследования явилось изучение процесса формирования аутофагосом в клетках корней пшеницы при истощении стериннов. Истощение стериннов в клетках корней достигалось действием полиенового антибиотика нистатина, который специфически связывается с эндогенными стеринами и образует в мембранах каналы, вызывая вытекание из клетки ионов, воды, аминокислот и белков. Для сравнения было взято две концентрации нистатина – 1 мкМ и 10 мкМ. Было показано, что с ростом концентрации нистатина в корнях обработанных интактных проростков пшеницы в течение 12 ч происходило увеличение содержания перекиси водорода, проницаемости мембран для ионов и образования аутофагосом, детектированных с применением специфического флуоресцентного красителя Lyso Tracker Red DND-99, а также снижение жизнеспособности корневых клеток. Методом ПЦР анализа в реальном времени было показано, что при 12 ч действии нистатина наблюдалась увеличение экспрессии генов пероксидаз в 6 раз по сравнению с контролем. Увеличение в 8-9 раз экспрессии аутофагических генов *atg4* и *atg6* происходило лишь к 24 ч действия антибиотика.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что индуцированное нистатином стеринное истощение и нарушение мембранной проницаемости клеток сопровождается окислительным стрессом и приводит к гибели клеток по пути аутофагии.

ДЕЙСТВИЕ NI НА РОСТ РАСТЕНИЙ-ГИПЕРАККУМУЛЯТОРОВ И ИСКЛЮЧАТЕЛЕЙ ИЗ РОДА *ALYSSUM* L.

Бакланов И.А.

Учреждение Российской академии наук Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН, Москва (Россия)

E-mail: *baklanov_ia@list.ru*

Одним из актуальных вопросов экофизиологии растений является изучение действия тяжелых металлов и устойчивости к ним. Растения отличаются по устойчивости к тяжелым металлам и способности к их накоплению. Brooks (1977) разделил растения на две основные группы: исключатели, накапливающие тяжелые металлы преимущественно в корнях, и аккумуляторы, способные накапливать их в надземных органах. Небольшую группу среди аккумуляторов составляют гипераккумуляторы, накапливающие, в случае Ni, более 1000 мкг/г сухой массы.

Изучали действия Ni на рост гипераккумуляторов и исключателей. Объектами исследования были растения из рода *Alyssum* L.: гипераккумуляторы *A. lesbiacum* и *A. obovatum* и исключатели *A. saxatile ssp. saxatile* и *A. saxatile ssp. orientale*. Растения выращивали на водной культуре с добавлением различных концентраций нитрата Ni (10-1000 мкМ для гипераккумуляторов, 3-50 мкМ для исключателей). Контролем служили растения, выращенные в отсутствие Ni. О действии Ni судили по изменению морфометрических показателей (длины побега и самого длинного корня, сухой и сырой массы листьев, стеблей и корней, числа листьев и площади их поверхности).

Установлено, что, в отличие от гипераккумуляторов, у исключателей при действии Ni в низких концентрациях (20-50 мкМ) сокращалась длина побега, сухая и сырая масса надземных органов. У гипераккумуляторов при 30-300 мкМ увеличивалось образование сырой массы. С увеличением концентрации Ni у гипераккумуляторов наблюдалось увеличение числа листьев и площади их поверхности, при 700 и 1000 мкМ значения данных показателей снижались. У исключателей они резко уменьшались при 20-50 мкМ.

Таким образом, гипераккумуляторы проявляют высокую устойчивость к действию Ni, который при невысоких концентрациях оказывает стимулирующее действие на их рост. Ni в значительно более низких концентрациях оказывает токсическое действие на исключатели и подавляет их рост. Это свидетельствует о более эффективных механизмах детоксикации Ni у гипераккумуляторов по сравнению с исключателями.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ 11-04-00513.

ОСОБЕННОСТИ ТКАНЕВОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ NI В РАСТЕНИЯХ-ГИПЕРАККУМУЛЯТОРАХ И ИСКЛЮЧАТЕЛЯХ ИЗ РОДА *ALYSSUM* L.

Бакланов И.А.

Учреждение Российской академии наук Институт физиологии растений им.

К.А.Тимирязева РАН, Москва (Россия)

E-mail: baklanov_ia@list.ru

Разные виды растений различаются по устойчивости к тяжелым металлам и способности к их накоплению. Большинство растений являются исключателями и накапливают металлы преимущественно в корнях. Небольшую группу составляют гипераккумуляторы, накапливающие металлы в побегах (Brooks, 1977). Для понимания и объяснения механизмов гипераккумуляции возможен сравнительный анализ близкородственных видов растений-гипераккумуляторов и исключателей.

Было изучено тканевое распределение Ni в растениях-гипераккумуляторах и исключателях. Объектами исследования были растения из рода *Alyssum* L.: гипераккумуляторы *A. lesbiacum* и *A. obovatum* и исключатели *A. saxatile ssp. saxatile* и *A. saxatile ssp. orientale*. Растения выращивали на водной культуре с добавлением 30 мкМ нитрата никеля. Контролем служили растения, выращенные в отсутствие Ni. Выявление Ni проводили с помощью диметилглиоксимного метода (Серегин и др., 2003). О присутствии Ni судили по малиново-красному окрашиванию, накопление определяли полуколичественно по интенсивности окрашивания. В контроле окрашивания тканей не наблюдалось.

В корнях гипераккумуляторов Ni присутствовал в апексах, а в средней части накапливался в клетках внутреннего слоя коры и выявлялся в центральном цилиндре. У исключателей Ni обнаруживался лишь в клетках внешнего слоя коры корня. В базальной и средней частях стебля *A. lesbiacum* Ni сосредотачивался в проводящих тканях и эпидерме. У *A. obovatum* Ni выявлялся в тех же тканях, но его было меньше. В листьях гипераккумуляторов Ni выявлялся в проводящих тканях и эпидерме. У *A. lesbiacum* наибольшее количество металла отмечалось в

эпидерме в области жилки листа. Накопление Ni происходило в основаниях и телах трихом, но не в их лучах. У *A. obovatum* накопление Ni в трихомах не отмечалось. У исключателей Ni не выявлялся в тканях побега.

Таким образом, разные виды гипераккумуляторов и исключателей различаются тканевой локализацией Ni. Способность гипераккумуляторов накапливать Ni в эпидерме побега определяет их устойчивость к действию Ni.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ 11-04-00513.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГАЛОТОЛЕРАНТНЫХ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ КАК СТИМУЛЯТОРА РОСТА РАСТЕНИЙ

Шаравин Д.Ю., Ковалевская Н.П.

Пермский государственный университет; Учреждение Российской академии наук
институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь (Россия)

E-mail: dima-sharavin@yandex.ru

В настоящее время увеличиваются масштабы вторичного засоления почв, которое лимитирует продуктивность сельскохозяйственных культур. Из различных стрессов, таких как засуха, засоление и экстремальные температуры, засоление оказывает наибольшее повреждающее действие на злаковые культуры. Условия азотного питания также оказывают сильное влияние на жизнедеятельность растений, наиболее очевидным результатом которого является разная стратегия ростовых процессов, а также способность к адаптации при действии стрессовых факторов.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния галотолерантных азотфиксирующих микроорганизмов на синтез фотосинтезирующих пигментов и развитие проростков пшеницы при хлоридном засолении. Накопительные культуры азотфиксирующих галотолерантных микроорганизмов получали при 2-х недельном культивировании на среде Гальченко с сукцинатом и 5% NaCl. Трехдневные проростки пшеницы обрабатывали суспензией бактериальных клеток с содержанием 0,5 и 1% NaCl.

При анализе спектров фотосинтезирующих пигментов было выявлено, что при солевом стрессе через 3 часа в верхних листьях пшеницы происходило увеличение концентрации фитофлуена. Через 3 суток в листьях был отмечен максимальный синтез каротиноидов, эффективно поглощающих свет длиной волны 433 и 465 нм. В обработанных микробными инокулятами проростках пшеницы при солевом стрессе был зафиксирован синтез каротиноида с максимумом поглощения света при длине волны 375 нм. ПЦР анализ нитрогеназной активности микрофлоры на корнях и листьях показал, что азотфиксирующие галотолерантные микроорганизмы в основном колонизируют поверхность корней. Причем с развитием наземной части растения происходило увеличение численности азотфиксаторов на корневых волосках пшеницы. Обработка проростков пшеницы галотолерантными азотфиксирующими микроорганизмами оказывала выраженный стимулирующий эффект на рост и развитие проростков в условиях солевого воздействия.

ИМПУЛЬСНО-МОДУЛИРОВАННАЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИЯ ХЛОРОФИЛЛА ЛИСТЬЕВ И ВОЗРАСТ ДЕРЕВЬЕВ

Калачёва Н.В., Н.В. Тарасова Н.В., Кашулин П.А.

Полярно-альпийский ботанический сад-институт Кольского научного центра РАН,
Апатиты (Россия)

E-mail: natty1000@yandex.ru

Для определения возраста деревьев традиционно используют метрические параметры, древесные годовые кольца. Это не всегда удобно для деревьев, сформированных в альпийских условиях, например, в березовом криволесье, для уникальных экземпляров и редких видов.

Исследована возможность использования для этой цели ассимиляционных органов деревьев. Изучали возрастные особенности утилизации ими световой энергии. Использовали поперечные, одновременные измерения флуоресцентных характеристик хлорофилла листьев у деревьев разных возрастных классов. В качестве индикаторного вида использовали экотипы березы *Betula pendula* Roth разного возраста, произрастающие в одинаковых условиях зелено-мошного березняка. Для измерения параметров флуоресценции хлорофилла нативных листьев использовали импульсно-модулированный с разрешением во времени флуориметр «Dual PAM-100» Heinz Walz GmbH, ФРГ. Измеряли индукционные световые кривые параметра «Fluo» - импульсную флуоресценцию при скорости считывания 1000 точек в сек. Каждые 20 с подавали световые импульсы длительностью 600 мс для светового насыщения фотосистем. Основные характеристики переменной флуоресценции, максимальную (F_m) и фоновую (F_0) определяли после 20 мин темновой адаптации. Через 40 с включали активирующий красный свет мощностью 126 μE на 4 мин. Интенсивность измеряющего света составляла 5 μE , а эффективная фотосинтетически активная радиация в период индукции - 131 μE . На основе кривых рассчитывали квантовые выходы ФС II, соответствующие фотохимической утилизации световой энергии $Y(II)$, её регулируемой $Y(NPQ)$ и нерегулируемой $Y(NQ)$ диссипации, параметры тушения qP , qN и qL .

Обнаружено, что некоторые из них отличается высокой возрастной вариабельностью. Максимальная и монотонная зависимость от возраста деревьев обнаружена для «Fluo», $Y(II)$ и qN . После калибровки их можно использовать для неповреждающего экспресс определения возраста дерева.

ФИТОРЕМЕДИАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ГИБРИДОВ РОДА *AMARANTHUS*: АНТАГОНИЗМ НИКЕЛЯ И ЖЕЛЕЗА

Черемисина А. И.

Учреждение Российской академии наук Институт физиологии растений
им. К.А. Тимирязева РАН, Москва (Россия)

E-mail: aicheremisina@mail.ru

Среди рудеральных растений, осваивающих загрязненные тяжелыми металлами (ТМ) территории свалок бытовых отходов, были найдены растения из рода *Amaranthus*, которые накапливали в листьях и в корнях повышенные концентрации Ni и сохраняли при этом высокий урожай зеленой массы. В последнее время представители этого рода стали активно исследоваться как перспективные для фитоэкстракции виды растений, широко используемые в медицине из-за их высокой антиоксидантной активности, и в озеленении городов как декоративные и устойчивые к ТМ виды. Основываясь на выше указанных физиологических показателях, нами была предпринята попытка исследовать это растение на устойчивость к загрязнению Ni. Одним из существенных факторов негативного влияния тяжелых металлов на рост растений является нарушение гомеостаза железа, что проявляется в виде хлороза молодых листьев в результате повреждения метаболизма и нарушения процесса фотосинтеза. Это делает актуальным изучение механизмов гомеостатирования железа в условиях загрязнения среды тяжелыми металлами, в частности никелем, поскольку позволяет не только понять, каким образом растения, способные интенсивно аккумулировать никель в надземной биомассе, но и сохранять высокую продуктивность.

Гибридные семена растений рода *Amaranthus*: *A. paniculatus* f. *cruentus* (Вишневым джем), *A. paniculatus* (Бронзовый век) и *A. caudatus* f. *viridis* (Изумруд) выращивали в камере фитотрона. Далее 6-недельные растения подвергали действию различных доз NiCl_2 : 0 (контроль), 50, 100, 150, 200, 250 мкМ на фоне низкой (2 мкМ) или высокой (100 мкМ) концентраций Fe и исследовали накопление в различных органах растения Ni и Fe, фотосинтетических пигментов и уровень окислительного стресса (СОД, МДА, пролин). Данное исследование показало, что для повышения фиторемедиационного потенциала растений для Ni, с одной стороны, требуется поддержание в клетках гомеостаза железа, а с другой – накопление совместимых метаболитов, способных снижать токсичность Ni.

СРАВНЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ У КЛЮКВЫ БОЛОТНОЙ И КРУПНОПЛОДНОЙ ЗА ДВА ВЕГЕТАЦИОННЫХ ПЕРИОДА

Хусаинова М.Ф., Березина Е.В.

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

E-mail: kamil2711@rambler.ru

В работе сравнивали количество фенольных соединений в листьях клюквы болотной и крупноплодной в период цветения и плодоношения за 2009-2010г.г. Объекты исследования – клюква крупноплодная (сорта Ранний черный (РЧ), Стивенс, Ховес) (Ботанический сад ННГУ), клюква болотная (Пустынский заказник). В листьях спектрофотометрически (UV-1700 (Shimadzu)) определяли общие растворимые фенольные соединения (ОРФС) и флавонолы (Фл).

В 2010 году количество ОРФС было больше, чем в 2009, в 1,5 раза у сортов РЧ, Стивенс; у сорта Ховес изменения были незначительными. В период исследования клюква крупноплодная обладала наибольшим количеством ОРФС (мг/г сырой массы): от 65,4 (при плодоношении, 2009) до 131,7 (при цветении, 2010). Клюква болотная уступала по данному показателю, однако, при плодоношении (2010) количество ОРФС в ней увеличилось до 95,4 мг/г сырой массы; в этот период она статистически не различается с сортовой клюквой.

Уровень флавонолов у окультуренного вида при цветении и плодоношении в оба года больше, чем у дикорастущей клюквы. В 2010 году количество Фл при плодоношении было больше, чем при цветении: у клюквы крупноплодной в 1,5-2 раза, у болотной в 6 раз. При цветении Фл составляли 66-76% (2009) и 49-58% (2010) ОРФС у клюквы крупноплодной, а при плодоношении они возрастали до 70-73% (2009) и 87-95% (2010). У клюквы болотной при переходе от цветения к плодоношению доля Фл увеличилась с 49 до 60% (2009) и с 32 до 63% (2010).

Итак, наибольшее количество ОРФС и Фл в листьях при цветении и плодоношении имеет клюква крупноплодная, наименьшее – болотная. У обоих видов увеличивается уровень флавонолов в листьях в период плодоношения, особенно в 2010 году у клюквы болотной. Это может быть связано с сухим и жарким летом, а также с приспособлением к более сложным условиям обитания.

РЕАКЦИЯ *TILIA CORDATA* И *MALANTHEMUM BIFOLIUM* НА РАДИАЦИОННОЕ ЗАГРЯЗНЕНИЕ

Чурюкин Р.С., Горшкова Т.А.

Обнинский институт атомной энергетики (ИАТЭ) Национального исследовательского ядерного университета (НИЯУ) «МИФИ», Обнинск (Россия)

E-mail: churukin_1990@mail.ru

Стабильность физиологического состояния растения можно оценить по асимметричности некоторых его морфологических структур (флуктуирующей асимметрии, ФА). В настоящем исследовании проведена попытка установить связь между радиоактивным загрязнением среды и изменением показателя ФА у двух растений – липы мелколистной (*Tilia cordata* Mill.) и майника двулистного (*Maianthemum bifolium* L) на территории ООПТ – Государственного природного заповедника «Калужские засеки» Ульяновского района Калужской области, затронутого радиоактивным следом после Чернобыльской катастрофы весной 1986 г.

Было обследовано несколько сходных по типу почвы, основным породам древостоя и видам травянистых растений растительных сообществ (учетных точек). Растительный материал собирали из расчета 50 листьев *Tilia cordata* и 30 листьев *Maianthemum bifolium* на точку, рассчитывали индекс ФА по результатам шести и пяти измерений соответственно. Для каждой точки были измерены радиационный фон в 1 м от земли (дозиметром Radix QUARTA) и содержание ¹³⁷Cs в почвенных пробах (на полупроводниковом γ -спектрометре). Данные по ФА липы переводили в значения классов качества среды по А.Б. Стрельцову.

Анализ результатов показал, что существует тенденция зависимости индекса ФА *Tilia cordata* от значения радиационного фона, а также класса качества, рассчитанного по ФА *Tilia cordata* от удельной активности ¹³⁷Cs (коэффициенты корреляции составляют соответственно

0,46 и 0,58). Коэффициент корреляции индекса ФА листьев *Maianthemum bifolium* и удельной активности ^{137}Cs в почве составляет 0,47. Слабая корреляция наблюдается между значениями радиационного фона и ФА майника (коэффициент корреляции равен 0,24).

Полученные данные свидетельствуют о возможности применения индекса ФА как интегрального показателя состояния этих растений и растительных сообществ в условиях радиационного загрязнения после проведения серии дополнительных исследований.

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ CLE В НОРМЕ И ПРИ ОТВЕТЕ НА ЦИТОКИНИН У ОПУХОЛЕОБРАЗУЮЩИХ И БЕЗОПУХОЛЕВЫХ ЛИНИЙ РЕДИСА

Юрлова Е.В., Додуева И.Е.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: angel.nobel@gmail.com

Семейство CLE-пептидов (CLAVATA3/ESR-related) является новым классом сигнальных молекул растений. Их объединяет наличие консервативного CLE-мотива, состоящего из 14 аминокислот. CLE-пептиды принимают важную роль в регуляции процессов регуляции и поддержания меристем: как регулярных (апикальная меристема корня и побега, прокамбий), так и нерегулярных (клубеньки, некоторые типы гиперплазий, индуцируемых патогенами). Избыточность CLE-лигандов в их рецепторов обеспечивает многообразие сигнальных путей. Показана роль CLE-пептидов в ближнем и дальнем сигналинге.

Объектом наших исследований являются инбредные линии редиса, характеризующиеся спонтанным опухолеобразованием. В последнее время предполагается, что у различных меристем, в том числе и нерегулярных, имеются сходные механизмы поддержания, в которых могут быть задействованы CLE-пептиды. Опухоли растений являются примером нерегулярных меристем. При анализе экспрессии CLE-генов у опухолевых и безопухолевых линий редиса методом ОТ-ПЦР в реальном времени были выявлены контрастные различия по экспрессии этих генов у родственных опухолевых и безопухолевых линий, а также показано влияние экзогенных цитокининов на их экспрессию. В связи с этим мы предполагаем, что CLE-пептиды могут быть задействованы в контроле развития нерегулярных меристем - опухолей.

Работа выполняется при поддержке грантов РФФИ 11-04-01687-а и НШ 7623.2006.04.

ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ КАДМИЯ НА ПРОРОСТКИ ПШЕНИЦЫ

Репкина Н.С., Таланова В. В., Топчиева Л. В.

Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск (Россия)

E-mail: nrt9@yandex.ru

В защитных реакциях растений на действие неблагоприятных факторов среды, в том числе тяжелых металлов, важную роль играют протеолитические ферменты, участвующие в деградации белковых молекул и реакциях ограниченного протеолиза. В данной работе исследовали динамику экспрессии генов, кодирующих хлоропластные протеиназы (*Clp*), цистеиновые протеиназы (*Cys*), АТФ зависимые протеиназы (*Lon*), а также ингибитор цистеиновых протеиназ (*incys*) при действии кадмия на проростки пшеницы. Эксперименты проводили в камерах искусственного климата на семидневных проростках яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Ленинградская, которые подвергали действию сернокислого кадмия (100 мкМ) в течение четырех суток при температуре 22⁰С, освещенности 10 клк, фотопериоде 14 часов. Уровень экспрессии генов в листьях пшеницы анализировали методом ПЦР в режиме реального времени (на приборе iQ5 BioRad, США). В ходе исследований установлено, что 1-часовое воздействие кадмия на проростки не вызывает значимых изменений уровня экспрессии генов протеиназ. При 5-часовой экспозиции экспрессия генов *Clp*, *Lon* и *incys* значительно возросла (в 2, 4 и 10 раз соответственно) по сравнению с исходным уровнем. При последующем воздействии кадмия (через 3–4 суток) экспрессия вышеуказанных генов снижалась практически до исходного уровня. В отличие от этого, на протяжении всего времени

воздействия кадмия отмечено ингибирование экспрессии гена *Sus*. Полученные данные могут свидетельствовать об участии протеолитических ферментов в защитных реакциях растений пшеницы в начальный период действия тяжелых металлов. Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 10-04-06550).

ВОЗДЕЙСТВИЕ ИМПУЛЬСНОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС ХЛОРОПЛАСТОВ ГОРОХА

Кальясова Е.А., Яшина Е.С.

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

E-mail: *katelyn@bk.ru*

Целью исследования было изучение изменения состояния перекисного гомеостаза хлоропластов в ответ на действие импульсного магнитного поля (ИМП).

Обработке магнитным полем подвергались целые 2-х недельные растения гороха *Pisum sativum* L., выращенные в лабораторных условиях. ИМП (пучки из 20 импульсов длительностью 227 мкс с амплитудой 1500 мкТл, следующих с частотой 15 Гц) создавали с помощью генератора фирмы Electro-Biology Inc. Длительность экспозиции 15, 30, 60 и 120 мин, контролем служили растения, выдержанные в течение экспозиции в условиях нормального геомагнитного поля. Оценивались параметры: содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) – диеновых конъюгатов (ДК) и оснований Шиффа (ОШ), активность супероксиддисмутазы (СОД), содержание аскорбиновой кислоты (АК).

15-ти минутное воздействие поля не изменяло содержание продуктов ПОЛ, а 30-ти минутное приводило к накоплению ДК (103% от контроля) и ОШ (135%). На 60-й минуте обработки уровень продуктов ПОЛ возвращался к контрольному, а на 120-й минуте содержание ДК составило 77% от контроля, тогда как уровень ОШ оставался вблизи контрольного. Активность СОД возрастала после 30-ти и 120-ти минутных обработок до 135% и 150% от контроля соответственно, тогда как после 15-ти и 60-ти минутных оставалась вблизи контроля. Уровень АК понижался до 80% относительно контроля (60-ти минутная экспозиция) с последующим увеличением до 130%.

Т.о. изменения содержания продуктов ПОЛ, по-видимому, активировали систему антиоксидантной защиты, выполняя сигнальную функцию. Следует отметить, что основные изменения в перекисном гомеостазе наблюдались после 30-ти минутной экспозиции, что может говорить о достижении некоего порога воздействия поля на изучаемые параметры.

ДЕЙСТВИЕ ИНГИБИТОРОВ КАРБОАНГИДРАЗ НА КАРБОАНГИДРАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ БЕЛКОВ ФОТОСИСТЕМЫ 2 ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Шитов А.В.¹, Побегуц О.В.¹, Смолова Т.Н.¹, Климов В.В.¹, Аллахвердиев С.И.^{1,2}

¹Учреждение Российской академии наук Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино (Россия)

²Учреждение Российской академии наук Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва (Россия)

E-mail: *aleksshitow@rambler.ru*

Известно, что фотосистема 2 (ФС-2) высших растений обладает карбоангидразной (КА) активностью и эта активность подавляется специфическими ингибиторами ацетазоламидом (АА) и этоксизоламидом (ЕА).

Выявлены четыре источника КА активности в субмембранных препаратах ФС-2 из гороха: внешние гидрофильные белки водоокисляющего комплекса (ВОК) ФС-2 с молекулярными массами 33 (белок PsbO), 24 (белок PsbP) и 18 кДа (белок PsbQ), а также источник КА-активности, остающийся связанным с препаратами ФС-2 после удаления трех гидрофильных белков. Показано, что КА активность препаратов ФС-2, лишённых белков ВОК в результате

солевой обработки, полностью подавляется АА и ЕА. Эти ингибиторы не подавляют КА активность изолированных белков ВОК как в отсутствие, так и в присутствии ионов Mn^{2+} (ионы Mn^{2+} увеличивают КА активность белков PsbO и PsbP).

Таким образом, препараты ФС-2 из высших растений обладают КА активностью, как чувствительной (ФС-2 без гидрофильных белков ВОК), так и нечувствительной (изолированные белки ВОК) к действию классических ингибиторов КА. Поскольку изолированные белки ВОК проявляют свойства, не характерные для типичных КА (необходимость присутствия Mn^{2+} , нечувствительность к ацетазоламиду и этоксизоламиду), и выявлены только у белков ФС-2, не исключено, что они представляют собой класс Mn-зависимых карбоангидраз, ассоциированных с ФС-2.

ВЛИЯНИЕ Mn-БИКАРБОНАТНЫХ КОМПЛЕКСОВ НА ТЕМНОВОЕ РЕВОССТАНОВЛЕНИЕ ФОТООКИСЛЕННЫХ РЕАКЦИОННЫХ ЦЕНТРОВ ТИПА II ИЗ АНОКСИГЕННЫХ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ: *RHODOBACTER SPHAEROIDES R-26, CHROMATIUM MINUTISSIMUM* И *CHLOROFLEXUS AURANTIACUS*

Терентьев В.В., Шкуропатов А.Я., Шкуропатова В.А., Шувалов В.А., Климов В.В.
Учреждение Российской академии наук Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино (Россия)

E-mail: v.v.terentyev@gmail.com

Фотосинтетическое образование O_2 происходит в результате фотоиндуцированного разложения H_2O в водоокисляющем комплексе фотосистемы 2 (ФС-2), содержащем неорганическое ядро (Mn-кластер), вопрос о путях эволюционного происхождения которого до сих пор не решен. Было предположено, что бактериальные предшественники первых O_2 -выделяющих организмов (в Архейский период) могли использовать в качестве доноров электронов Mn^{2+} -бикарбонатные комплексы ($[Mn(HCO_3)_2]$), которые затем сформировали примитивный тетра-Mn-кластер на донорной стороне реакционного центра (РЦ) аноксигенных бактерий.

Исходя из этого, целью данной работы было изучить влияние $[Mn(HCO_3)_2]$ на кинетику темнового ревосстановления фотоокисленного первичного донора электрона (P^+) РЦ типа II аноксигенных бактерий: *Rhodobacter sphaeroides R-26*, *Chromatium minutissimum* и *Chloroflexus aurantiacus*. О ревосстановлении P^+ судили по уменьшению амплитуды полосы выцветания при 865 нм или поглощения при 790 нм (для *Ch. minutissimum*) дифференциального спектра поглощения «свет-минус-темнота». В присутствии 0,5 мМ Mn^{2+} плюс 50 мМ HCO_3^- (рН 8,3), то есть при доминировании в растворе комплексов $[Mn(HCO_3)_2]$ с редокс-потенциалом (E_m) $Mn^{2+}=0,52$ В, было показано увеличение скорости ревосстановления P^+ ($E_m \approx 0,5$ В) *Rb. sphaeroides* (время полуспада $t_{1/2} \approx 100$ с) по сравнению с контролем, измеренным в отсутствие добавок ($t_{1/2} \approx 445$ с). Стимулирующий эффект пропадал при добавлении Mn^{2+} ($E_m(Mn^{2+}_{aq})=1,18$ В) или HCO_3^- к РЦ отдельно друг от друга, а также при замещении Mn^{2+} на Mg^{2+} или Ca^{2+} , или замещении бикарбоната на формиат, оксалат или ацетат, свидетельствуя о специфичности редокс-взаимодействия $[Mn(HCO_3)_2]$ с P^+ . В отличие от *Rb. sphaeroides*, добавление 0,5 мМ Mn^{2+} плюс 50 мМ HCO_3^- к РЦ из *Ch. minutissimum*, содержащих субъединицу цитохрома, затрудняющего взаимодействие Mn^{2+} с P^+ , или к РЦ *Cf. aurantiacus* с $E_m \approx 0,4$ В, не влияло на кинетику темнового ревосстановления P^+ . Полученные данные рассматриваются в качестве экспериментального подтверждения гипотезы о возможной ключевой роли Mn-бикарбонатных комплексов в эволюционном переходе от аноксигенного фотосинтеза к оксигенному.

ИЗУЧЕНИЕ АДСОРБЦИИ H^+ И OH^- ИОНОВ НА ХЛОРОФИЛЛЕ МЕТОДОМ ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКОГО ТИТРОВАНИЯ

Васильева Д.В., Петрова С.А., Хомутова О.С., Чухно А.С., Дмитриева И.Б.
Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия,
Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: khomchik1405@mail.ru

Исследования в области порфиринов и аналогичных молекул за последнее десятилетие развиваются стремительно. Порфирины являются скелетом молекул гемоглобинов и хлорофиллов. Любая органическая молекула, где бы она не находилась: в организме животного, растениях, обязана своим появлением тетрапиролам. Единственный существующий в природе путь превращения неорганических соединений углерода в органические – фотосинтез, протекающий в наземных растениях, водорослях при участии хлорофилла. Исследование адсорбции ионов H^+ и OH^- на хлорофилле позволит более полно описать процессы, происходящие в природе.

Целью данной работы является исследование влияния однозарядных электролитов (KCl , HCl) на адсорбции ионов H^+ и OH^- на хлорофилле в зависимости от их концентрации и рН дисперсной системы.

Адсорбцию H^+ и OH^- ионов на хлорофилле исследовали методом непрерывного потенциометрического титрования. К исходному раствору титрант добавляли порциями по 0,1 мл с интервалом в 1 мин. Далее строили кривые потенциометрического титрования в координатах рН-V, V- объем титранта (KOH или HCl). В ходе работы определили влияние адсорбата на исследуемую водную разбавленную дисперсию хлорофилла, а также влияние ее концентрации на значение рН_{тнз}. В работе была определена оптимальная концентрация дисперсий хлорофилла, необходимая для получения надежных результатов адсорбции. Она составила величину 10^{-3} моль/л.

В результате опытов были получены кривые потенциометрического титрования растворов KCl (с концентрацией - $1 \cdot 10^{-3}$, $1 \cdot 10^{-2}$, $1 \cdot 10^{-1}$ моль/л) с сорбентом и без. Найдены значения точек нулевого заряда рН_{тнз} хлорофилла. Подтверждено влияние концентрации солевого фона на величину адсорбции H^+ и OH^- ионов на хлорофилле. Установлено преобладание адсорбции OH^- . Значение рН_{тнз} водных разбавленных дисперсий хлорофилла смещается в кислую область с увеличением её концентрации и изменяется в диапазоне рН от 4,5 до 2,5.

ВЛИЯНИЕ КАДМИЯ И ЦИНКА НА РОСТ И ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ *SINAPIS ALBA*

Смирнова Ю.В.¹, Курамшина З.М.¹, Хайруллин Р.М.², Зарипова Л.Р.¹

¹Стерлитамакская государственная педагогическая академия им. Зайнаб Бишевой, Стерлитамак (Россия)

²Институт биологии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа (Россия)

E-mail: bh84@mail.ru

Токсическое действие тяжелых металлов (ТМ) может быть обусловлено образованием активных форм кислорода, которые воздействуют на клеточные процессы, связанные главным образом с функционированием мембранных систем. Показателем нарушения целостности мембран и степени развития окислительного стресса служит малоновый диальдегид – продукт перекисного окисления липидов. Одним из новых подходов в повышении устойчивости растений к различным неблагоприятным факторам, в том числе, к действию тяжелых металлов, является обработка семян клетками бактерий *Bacillus (B.) subtilis*.

Целью работы явилось изучение влияния предварительной обработки семян горчицы белой *Sinapis alba* клетками штаммов *B. subtilis* на рост растений и накопление малонового диальдегида (МДА) при воздействии ионов тяжелых металлов (кадмия, цинка). Исследования проводили в чашках Петри. Токсическое действие различных концентраций ТМ (1, 10, 20, 40 мг/л) оценивали по изменению сырой массы растений на пятые сутки от начала эксперимента. Перекисное окисление липидов в растительных тканях измеряли по содержанию веществ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой.

Показано закономерное подавление роста растений с увеличением концентрации ТМ. Биомасса растений, семена которых предварительно были обработаны бактериями, была выше, чем у необработанных. Увеличение концентрации цинка в растворе приводило к повышению содержания МДА в корнях и побегах горчицы. Кадмий вызывал окислительное повреждение

липидов в корнях растений только при концентрации 40 мг/л; содержание МДА в побегах с ростом концентрации металла уменьшалось. Растения, обработанные бактериями *B. subtilis*, имели более низкие показатели повреждения мембран в корнях и побегах, чем необработанные, что свидетельствует о меньшей степени развития окислительного стресса.

ВЫЯСНЕНИЕ РОЛИ МЕМБРАННЫХ РЕЦЕПТОРОВ ЦИТОКИНИНА В РЕГУЛЯЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ ХЛОРОПЛАСТНЫХ ГЕНОВ

Данилова М.Н., Кудрякова Н.В.

Учреждение Российской академии наук Институт физиологии растений
им. К.А. Тимирязева РАН, Москва (Россия)

E-mail: *mariadaniлова86@yandex.ru*

Цитокинины регулируют экспрессию генов растительного организма с участием двукомпонентной системы трансдукции сигнала, связываясь с мембранными рецепторами и запуская каскад передачи сигнала, приводящего к активации специфических цитокинин-чувствительных генов. У растений *Arabidopsis thaliana* выявлено три рецептора цитокинина: АНК2, АНК3 и АНК4. По своей природе это сенсорные гистидинкиназы, мультидоменные трансмембранные белки. Как показал анализ цитокинин-зависимой экспрессии химерной конструкции, содержащей ген глюкуронидазы под промотором гена одной из трех гистидиновых киназ, взрослые трехнедельные растения, выращенные в стандартных условиях освещения и содержавшие сформированные и активно функционирующие хлоропласты, отвечали на обработку экзогенным цитокинином (БАП, 10^{-6} М) усилением экспрессии *АНК3:GUS*. Данные по цитокинин-зависимой экспрессии *GUS*-генов были положены в основу тест-системы, использующей инсерционные мутанты по генам-рецепторам цитокининов. Анализ растений с нарушенной функцией одной из трех гистидиновых киназ позволял оценить влияние отсутствия этого рецептора на регуляцию транскрипции хлоропластных генов. Исследования интенсивности транскрипции проводили на материале розеточных листьев трехнедельных интактных растений *Arabidopsis* методом run-on транскрипции. Мутации по генам рецепторов цитокинина *АНК2*, *АНК3*, *АНК4* подавляли транскрипцию хлоропластных генов *rrn16*, *rbcL*, *atpB*, *psaB*, *psbA*, *psbD*. Наибольшее влияние оказывало отсутствие АНК3, что согласуется с доминирующей ролью этой киназы в рецепции цитокининового сигнала в листьях. Обработка листьев раствором цитокинина частично снимала этот эффект, то есть вызывала повышение уровня транскрипции исследуемых генов у всех трех мутантов с инактивированными генами гистидинкиназ. Таким образом, хотя АНК3 принадлежит ведущая роль в активации цитокинином транскрипции хлоропластных генов в листьях интактных растений, АНК2 и АНК4 также являются важными компонентами сигнальной системы, обеспечивающей восприятие гормонального сигнала и регуляцию транскрипции генов пластома.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ, грант №11-04-01008.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЭТИЛЕНА И ЦИТОКИНИНОВ В РЕГУЛЯЦИИ РОСТА ПОБЕГА И КОРНЕЙ И СООТНОШЕНИЯ ИХ МАССЫ РАСТЕНИЙ АРАБИДОПСИСА

Васинская А.Н., Коробова А.В.

Институт биологии Уфимского научного центра Российской академии наук,
Уфа (Россия)

E-mail: *link_87@mail.ru*

Фитогормон этилен играет важную роль в регуляции роста, развития и адаптации растений к условиям обитания, при этом он может взаимодействовать с другими гормонами. Взаимовлиянию этилена и цитокининов в регуляции физиологических процессов в растениях уделяется мало внимания. Целью нашей работы было выявление характера влияния этилена на рост корней в длину, накопление биомассы побега и корня и их соотношения, а также

возможной роли цитокининов в ростовой реакции растений на этилен. Объектом исследования служили четырехнедельные растения арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana*) дикого типа (*Columbia*) и их этиленнечувствительные мутанты (*etr-1*).

Корни мутантных растений были длиннее, чем у растений дикого типа, что согласуется с известным ингибирующим влиянием этилена на удлинение корней. Потеря чувствительности растений к этилену не влияла на накопление массы побегов, но приводила к ингибированию накопления массы корней по сравнению с растениями исходной формы. Таким образом, у нечувствительных к этилену растений наблюдалось увеличение соотношения массы побега и корня, что свидетельствует об относительной активации роста побега по сравнению с корнями у мутантных растений по сравнению с исходными. В корнях мутантных растений было зарегистрировано повышенное содержания цитокининов по сравнению с растениями дикого типа. Сделан вывод, что этилен необходим для поддержания накопления массы корней, и это может быть связано с его способностью ограничивать накопление цитокининов в растениях. С другой стороны, влияние цитокининов на накопление биомассы корней, по-видимому, не связано с этиленовым сигналингом.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 09-04-00942-а

ВЛИЯНИЕ РАЗНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ КАДМИЯ ($CdCl_2$) В ПОЧВЕ НА НАКОПЛЕНИЕ АНТИОКСИДАНТОВ В РАСТЕНИЯХ ИЗ СЕМЕЙСТВА ЗЛАКОВ

Масленников П.В., Фролов Е.М.

Балтийский федеральный университет им. И. Канта, Калининград (Россия)

E-mail: pashamaslennikov@mail.ru

Среди большого числа абиотических факторов, вызывающих стресс у растений, в последнее время все большее значение приобретает токсическое действие тяжелых металлов (ТМ). В связи с этим представляется крайне необходимым проведение исследований, направленных на изучение влияния высоких концентраций ТМ на растения и выяснение механизмов адаптации растений к экстремальным условиям. В качестве тест-объекта использовались листья 20-дневных растений озимой ржи (*Secale cereale L.*) сорта Пуховчанка, райграса пастбищного (*Lolium perenne L.*) сорта Margarita, овсяницы красной (*Festuca rubra L.*) сорта Maxima, мятлика лугового (*Poa pratensis L.*) сорта Valin, выращенных в установке ТКШ-1 Флора при постоянном освещении светом люминесцентных ламп ЛБУ-30 интенсивностью 7 Дж/м²с при комнатной температуре (18-22°C). Исследуемые растения выращивались на почве (легкий суглинок), содержащей различные концентрации $CdCl_2$ от фонового значения (контроль) до 100 ОДК. В данных растениях исследовалось формирование пула антоцианов, рутина, каротиноидов, аскорбиновой кислоты. Определялось суммарное содержание водорастворимых антиоксидантов (АОА) и фотосинтетических пигментов - хлорофилла *a* и *b*. Показано, что высокие концентрации кадмия в почве (100 ОДК) стимулируют накопление антоцианов, рутина, аскорбиновой кислоты, каротиноидов и способствуют снижению содержания водорастворимых антиоксидантов в листьях ржи, райграса, овсяницы и мятлика. Концентрация кадмия 10 ОДК в почве активировала накопление хлорофилла *a* и *b* в проростках исследуемых растений в 1,3 -1,8 раза по сравнению с контролем. Более высокие концентрации $CdCl_2$ (25-100 ОДК) снижали содержание зеленых пигментов в растениях. Предлагается использовать содержание антиоксидантов, как тест для оперативной биоиндикации загрязнений ТМ при экологическом мониторинге растительных сообществ на самых ранних этапах.

СОДЕРЖАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ В ЛИСТЬЯХ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ СОРТОВ РИСА

Ладатко В.А., Ладатко М.А., Ладатко Н.А.

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт риса, Краснодар (Россия)

E-mail: Valery.Ladatko@mail.ru

Пластидные пигменты, являясь акцепторами солнечной энергии, характеризуют фотосинтетическую продуктивность растения. Их количество в растении определяется как генотипом, так и условиями произрастания, и является одним из основных индикаторов степени адаптации растений к условиям произрастания.

Цель работы - изучить варьирование концентрации пластидных пигментов в листьях отечественных сортов риса.

Объект исследования – 70 сортов селекции ВНИИ риса. Исследования проводили на вегетационной площадке в сосудах ёмкостью 9 л. После прорезивания в фазу всходов оставляли по 10 растений на сосуд. В фазу цветения определяли линейные размеры и площадь листьев (LI-3100, LI-COR, США), и содержание в них фотосинтетических пигментов (спектрофотометрически в 96% этаноловых экстрактах с последующим расчётом по формулам Лихтенталлера (Lichtentaller Н.К., 1983).

Установлено, что изучаемые сорта, выведенные на протяжении 80 лет селекционной работ, существенно различаются по содержанию фотосинтетических пигментов в листьях. Определение их концентрации показало, что в среднем по сортам суммарное содержание хлорофиллов *a* и *b* во флаговых листьях составляет 2,83 мг/дм² (1,91 – 3,64), предфлаговых – 2,32 мг/дм² (1,41 – 2,99), предпредфлаговых - 1,83 мг/дм² (1,05 – 2,82) и листьях нижнего яруса - 1,38 мг/дм² (0,76 – 2,14). Содержание пигментов в расчёте на общую ассимиляционную поверхность растения варьировало от 1,42 мг/дм² у сорта Шарм до 2,84 мг/дм² у сорта Приморец при среднем значении 2,04 мг/дм². Значение хлорофилльного индекса также варьировало в широких пределах: от 4,2 мг/растение у сорта Талисман до 8,3 мг/растение у сорта Солярис при среднем значении - 5,9 мг/растение. В целом следует отметить, что в процессе селекции прослеживается тенденция к снижению содержания пластидных пигментов в единице площади листа и хлорофилльного индекса растений.

ВСТРАИВАНИЕ КАРОТИНОИДОВ В СВЕТОСОБИРАЮЩИЕ КОМПЛЕКСЫ ИЗ *ECTOTHIORHODOSPIRA HALOALKALIPHILA*

Ашихмин А.А.

Учреждение Российской академии наук

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино (Россия)

E-mail: alex-asch@rambler.ru

Фотосинтез – уникальный процесс в биосфере Земли, являющийся источником органического вещества для всех живых организмов. Его исследование является традиционным для физиологии и биохимии, однако, и в наши дни, в постгеномную эру, этот процесс также находится в центре внимания ученых. В процессах фотосинтеза участвуют пигменты хлорофиллового ряда и каротиноиды, большая часть которых расположена в светособирающих комплексах (ССК). Для изучения функций каротиноидов у фотосинтезирующих бактерий необходимо иметь образцы как с каротиноидами, так и без них. К настоящему времени было установлено, что получить полный набор бескаротиноидных светособирающих комплексов с сохранением их нативной структуры можно только у трех бактерий. Недавно в нашей лаборатории была выявлена еще одна подобная бактерия - *Ectothiorhodospira haloalkaliphila*. Основными каротиноидами в ССК LH2 являются спириллоксантин (37%) и ангидрородовибрин (33%), а в ССК LH1 - спириллоксантин (69%).

Цель работы – изучение возможности встраивания каротиноидов в бескаротиноидные ССК из данной бактерии. На первом этапе работы для встраивания был использован общий экстракт каротиноидов из этой же бактерии. Очищенную от БХл смесь каротиноидов добавляли к бескаротиноидным мембранам, обработанным додецилмальтозидом, контролируя спектр поглощения мембран. Затем эти мембраны разделяли на комплексы методом электрофореза в ПААГ. Комплексы элюировали из геля и концентрировали. Каротиноидный состав анализировали методом ВЭЖХ. Удалось добиться встраивания ~80% каротиноидов по сравнению с контролем. Не отмечено избирательного встраивания разных каротиноидов в структуры комплексов LH2 и LH1, как это происходит *in vivo*. В обоих комплексах со встроеными каротиноидами основными являлись родопин (23%), спириллоксантин (26%) и ангидрородовибрин (24%). Изучены основные спектральные характеристики полученных

комплексов (поглощение, флуоресценция, возбуждение флуоресценции, КД) и их фотоустойчивость.

Работа поддержана госконтрактом с Роснаукой № 02.740.11.0293 и грантом президента РФ НШ-4525.2008.4

ИНДУКЦИЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА ЛИСТЬЕВ ХЛОПЧАТНИКА, ВЫРАЩЕННОГО В УСЛОВИЯХ ВОДНОГО И СОЛЕВОГО СТРЕССА

Агишев В.С., Джолдасова К.Б

Институт физиологии и биофизики Академии наук Республики Узбекистан,
Ташкент (Узбекистан)

E-mail: *agishev_vlad@mail.ru*

С помощью индукции флуоресценции хлорофилла (ИФХ) изучалось влияние на фотосинтез в листьях хлопчатника водного и солевого стресса.

Эти работы проводились с целью отбора наиболее информативных характеристик ИФХ, а также их возможной комбинации.

Результаты экспериментов показали, что использование в качестве прогностического параметра только одного из многих возможных соотношений кривой индукции флуоресценции хлорофилла листьев хлопчатника, выращенного в условиях водного или солевого стресса, не позволяет получить статистически высокую надежность разделения различных видов стресса.

С целью «усиления» прогностического значения исследуемых параметров нами был опробован параметр представляющий объединение 3 исследуемых параметров в один по следующей формуле:

$$\frac{(F_p/F_t) * ((F_p - F_s) / \Delta t) * (((F_p - F_s) + (F_m - F_s)) / 2)}{(F_p/F_t) * ((F_p - F_s) / \Delta t) * (((F_p - F_s) + (F_m - F_s)) / 2)}$$

где:

- 1) F_p – интенсивность ИФХ в точке главного максимума;
- 2) F_m – интенсивность ИФХ в точке второго максимума;
- 3) F_t – интенсивность ИФХ в стационарном режиме;
- 4) F_s – интенсивность ИФХ в точке минимума, после первого максимума;
- 5) F_p/F_t – степень снижения флуоресценции хлорофилла;
- 6) $(F_p - F_s) / \Delta t$ – скорость P/S тушения электронтранспортной цепи;
- 7) $((F_p - F_s) + (F_m - F_s)) / 2$ коэффициент сглаживания PSM, характеризует глубину перепада между первым и вторым максимумом ИФХ.

Предлагаемые нами параметры для оценки построены таким образом, чтобы их значения с одной стороны определялись только их относительным изменением, а с другой стороны они должны максимально сильно изменяться в процессе эксперимента.

Показано, что в этом случае удается с вероятностью более 75% провести градацию между двумя видами стресса.

ОБРАЗОВАНИЕ СУПЕРОКСИДНОГО АНИОН-РАДИКАЛА ВНУТРИ ТИЛАКОИДНОЙ МЕМБРАНЫ ПРИ ВОССТАНОВЛЕНИИ КИСЛОРОДА В ХЛОРОПЛАСТАХ

Козулева М.А.

Учреждение Российской академии наук Институт фундаментальных проблем биологии
РАН, Пущино (Россия)

E-mail: *kozuleva@gmail.com*

Место образования супероксидного анион-радикала, $O_2^{\cdot-}$, при восстановлении кислорода в фотосинтетической электрон-транспортной цепи (ФЭТЦ) хлоропластов (в строме или тилакоидной мембране) имеет определяющее значение для выполнения им сигнальной и

деструктивной функций. Генерация супероксидов в тилакоидной мембране хлоропластов до сих пор не была показана.

В данной работе для регистрации $O_2^{\cdot-}$ был применен новый класс $O_2^{\cdot-}$ -детекторов на основе циклических гидроксиламинов (ЦГА), окисляющихся супероксидом с образованием стабильного нитроксильного радикала, который может быть зарегистрирован с помощью спектроскопии ЭПР. В работе использованы ЦГА, различающиеся липофильностью: гидрофильный DCP-H и липофильный TMT-H. При освещении суспензии тилакоидов в присутствии супероксиддисмутазы (СОД), водорастворимого фермента, предотвращающего реакцию супероксида с ЦГА в водной фазе, наблюдалось окисление TMT-H, но не DCP-H. Было установлено, что ЦГА не окисляются компонентами ФЭТЦ, тогда как продукт окисления ЦГА, нитроксильный радикал, может быть акцептором электронов в фотосинтетической электрон-транспортной цепи хлоропластов. Уменьшение концентрации TMT $^{\cdot}$ при освещении тилакоидов в анаэробных условиях свидетельствовало о восстановлении радикалов TMT $^{\cdot}$, тогда как восстановление DCP $^{\cdot}$ в аналогичных условиях не происходило. Это различие было в согласии с тем, что в аэробных условиях наблюдаемая скорость накопления TMT $^{\cdot}$ была меньше, чем скорость накопления DCP $^{\cdot}$. Полученные результаты хорошо объяснялись способностью липофильных молекул TMT-H, в отличие от гидрофильных DCP-H, реагировать с супероксидами внутри мембраны. Было найдено, что доля мембранных супероксидов составляет не менее 35% всех супероксидов, образующихся при освещении тилакоидов. Полученные результаты – первые прямые экспериментальные данные, свидетельствующие об образовании $O_2^{\cdot-}$ в тилакоидной мембране.

ВЛИЯНИЕ 2,4,6-ТРИНИТРОТОЛУОЛА НА РАЗВИТИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК *FAGOPYRUM TATARICUM* (L.) GAERTN

Науменко Е.А., Сибгатуллина Г.В., Наумова Р.П.

Казанский федеральный (Приволжский) университет; Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, Казань (Россия)

E-mail: enaumenko81@mail.ru

2,4,6-тринитротолуол (ТНТ) относится к широко распространенным компонентам взрывчатых смесей, применяемых со времени Первой мировой войны. С привлечением тест-организмов различного эволюционного уровня от бактерий до млекопитающих был выявлен токсический и мутагенный потенциал данного ксенобиотика. Агентство по защите окружающей среды США отнесло ТНТ к числу опасных загрязнителей биосферы. Сорные травы и культурные растения широко используются для удаления опасных органических загрязнений и токсичных металлов из промышленных сточных вод, а также в фиторемедиации загрязненных территорий. Применение каллусных культур для изучения ТНТ-трансформирующей активности растений позволяет исключить участие микроорганизмов, а также связывание ксенобиотика с гумусовыми соединениями в почве. Выявлено, что культивируемые клетки гречихи татарской *Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn трансформируют ТНТ по пути нитроредукции с образованием 2-амино-4,6-динитротолуола (2-АДНТ) и 4-амино-2,6-динитротолуола (4-АДНТ) в качестве мажорных метаболитов. Детектирование последних было возможно только после обработки клеток ультразвуком, что связано с их необратимым связыванием с компонентами растительных клеток. С применением метода ЭПР-спектроскопии и спектрофотометрического анализа выявлено, что ТНТ индуцирует образование экстраклеточных супероксид-аниона и гидроксильного радикала и, таким образом, индуцирует окислительный стресс в каллусной культуре. При увеличении концентрации ксенобиотика в системе наблюдали повышение уровня $O_2^{\cdot-}$. Данное наблюдение можно рассматривать как одно из доказательств выдвигаемой нами гипотезы об универсальности свободно-радикального механизма с образованием супероксида при переносе электрона с нитроанионного радикала ТНТ на кислород на раннем этапе аэробной биотрансформации ТНТ. С применением двойного флуоресцентного окрашивания было обнаружено увеличение проницаемости культивируемых клеток гречихи татарской при контакте с ТНТ, что вероятнее всего связано с увеличением уровня активных форм кислорода (АФК).

РОЛЬ АКВАПОРИНОВ В ТРАНСПОРТЕ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА И ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА В ХЛОРОПЛАСТАХ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Мубаракшина М.М.

Учреждение Российской академии наук Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино (Россия)

E-mail: *mashmabur@rambler.ru*

Пероксид водорода (H_2O_2) – одна из наиболее важных сигнальных молекул среди активных форм кислорода (АФК). Существенным фактором осуществления ретроградного сигнала (сигнала от органелл к ядру) является способность АФК диффундировать на значительные расстояния от места образования до места передачи сигнала. В данной работе были изучены как сама возможность диффузии H_2O_2 через мембраны оболочки хлоропласта, так и механизм этой диффузии. Методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) с применением гидрофильной спиновой ловушки ROBN, взаимодействующей с гидроксильным радикалом, генерируемым в H_2O_2 -зависимой реакции, было исследовано образование H_2O_2 в изолированных тилакоидах и интактных хлоропластах при освещении. Диффузия H_2O_2 из хлоропластов была исследована также с помощью конфокальной микроскопии с применением красителя Amplex Red, при реакции которого с H_2O_2 образуется флуоресцирующий продукт резофурин. Была зарегистрирована динамика появления флуоресценции резофурина вокруг хлоропластов в ответ на освещение. Полученные результаты свидетельствуют, что даже при низкой интенсивности света часть молекул H_2O_2 , образующихся внутри хлоропластов, способны диффундировать через мембраны хлоропластов.

Для выяснения механизма диффузии H_2O_2 из хлоропластов была исследована роль аквапоринов – белков, формирующих поры в хлоропластной мембране, через которые проходят молекулы воды. Используя ингибитор аквапоринов $AgNO_3$, методами ЭПР и конфокальной микроскопии было показано, что H_2O_2 диффундируют через оболочку хлоропласта с участием аквапоринов. Было также найдено, что и молекулы CO_2 проникают внутрь хлоропласта с участием этих белков.

Участие аквапоринов в транспорте H_2O_2 через оболочку хлоропластов позволяет рассматривать эти белки как важный элемент внутриклеточной сигнализации с участием АФК.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АММОНИЙНОГО АЗОТА В ОСЕННИЙ ПЕРИОД ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

Ходаницкий В.К., Швартау В.В.

Институт физиологии растений и генетики НАНУ, Киев (Украина)

E-mail: *xvk1@yandex.ru*

Урбанизация и деградация почв, производство биотоплива способствуют развитию продовольственного дефицита, который приводит к необходимости производить больше продукции на меньших площадях. Интенсификация производства растительной продукции основана на внедрении новых сортов и оптимизации схем внесения удобрений.

Для более полного использования продуктивности озимой пшеницы высокоинтенсивного типа необходимый высокий фон азота. Однако, повышение цен на удобрения и энергоносители усложняет обеспечение растений элементом. Проблема азота - важнейшая в минеральном питании пшеницы. В последнее время ведущие зернопроизводители Украины используют в осенний период аммиачную воду и безводный аммиак под озимую пшеницу, это позволяет механизировать транспортировку и внесение азота в почву и сокращает расходы при внесении элемента на больших площадях.

Существуют противоречивые данные относительно форм и способов внесения элемента.

В полевых опытах в сезоне 2010 г. на базе опытного сельскохозяйственного производства института на сорте озимой пшеницы Смуглянка нами доказано, что применение аммонийного азота осенью в дозе N_{120} на фоне $P_{90}K_{90}S_{20}$ способствует повышению урожая зерна до 60,3 ц/га, по сравнению с отдельным внесением аммиачной селитры – 45,3 ц/га и контролем – 30,1 ц/га. Увеличение дозы азота до N_{240} повышает урожайность, лишь до 62,0 ц/га, что может быть связано с неблагоприятными условиями вегетации – засуха и высокие температуры.

Урожайность возростала за счет большего количества и массы зерен главного и бокового колоса. Содержание белка в зерне возростало по сравнению с отдельным внесением и контролем.

Осенний метод внесения азотных удобрений перспективен для решения проблемы обеспечения пшеницы азотом на больших площадях. В дальнейших исследованиях нуждается определение уровней миграции азота в почвенном профиле, интенсивность усвоения элемента в течении вегетации и влияние аммония на доступность других ионов в почве и в растениях.

РОЛЬ ФОСФОРА И СЕРЫ ПРИ ВНЕКОРНЕВОЙ ОБРАБОТКЕ РАСТЕНИЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

Сандецкая Н.В., Михальская Л.Н., Швартау В.В.

Институт физиологии растений и генетики НАНУ, Киев (Украина)

E-mail: *Isnv@ukr.net*

Для получения высоких урожаев сельскохозяйственных культур необходимо ежегодно вносить в почву оптимальное количество минеральных удобрений, обеспечивающих потребности растений в питательных элементах. Вместе с тем, вносят значительно меньшее количество удобрений, особенно фосфорных и серных, что приводит к стрессовому состоянию растений, снижению урожайности сельскохозяйственных культур и качества конечной продукции. Однако практика показывает, что в последние годы вследствие технологических изменений производства фосфорных удобрений наблюдается значительный дефицит серы. Обеспеченность почвы усваиваемыми формами фосфора является одним из важных признаков ее плодородия, влияющего на продуктивность сельскохозяйственных культур и в целом на эффективность системы удобрения. Результаты многих исследований свидетельствуют о тесной взаимосвязи между накоплением в почве доступных фосфатов и урожаем сельскохозяйственных культур. В настоящее время, целесообразным путем преодоления дефицита питательных элементов для растений (в т.ч. макро- и микроэлементов) является внекорневая подкормка сельскохозяйственных культур доступными формами удобрений.

Целью нашей работы было исследовать особенности состояния растений озимой пшеницы при внекорневого внесения удобрений. В условиях полевых опытов 2010г. было установлено, что растения озимой пшеницы сорта Переяславка в условиях длительного периода высоких температур лучше реагировали на внекорневое внесение удобрений по сравнению с растениями сорта Смуглянка. Для изучения действия внекорневой подкормки азотом, фосфором и серой на урожай зерна растений проводили 3-разовую листовую подкормку в дозах $N_{30}P_{10}K_{10}S_5$. В результате замены почвенных подкормок на листовую, урожайность сортов озимой пшеницы Переяславка и Смуглянка увеличилась на 3,0-5,0 ц/га. Проведение внекорневых подкормок растений серой способствует повышению урожайности и качества зерна сортов озимой пшеницы Смуглянка и Переяславка. Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности внесения удобрений способом внекорневых подкормок.

ХИМИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ ПИГМЕНТОВ КОМПЛЕКСА ЯДРА ФОТОСИСТЕМЫ 2 ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Вишнёв М.И., Шкуропатова В.А.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино (Россия)

E-mail: *vmax85@list.ru*

Сильное перекрытие оптических полос поглощения хромофоров затрудняет исследования спектральных и функциональных свойств реакционных центров фотосистемы 2 (РЦ ФС2) окислительного фотосинтеза. Перспективным подходом к решению этой проблемы является модификация РЦ ФС2 химическими методами с целью замещения нативных пигментов их аналогами, различающимися по структурным, спектральным и окислительно-восстановительным свойствам. Значительные успехи в этом направлении были достигнуты при исследовании изолированных РЦ ФС2. Однако препараты такого типа не содержат хинонных акцепторов электрона, не способны к фотоокислению воды, и их свойства могут быть частично

нарушены в процессе выделения. Данная работа направлена на поиск способов селективной химической модификации пигментов в составе более нативных, функционально активных комплексов ФС2. С этой целью получены высокоочищенные препараты комплексов ядра ФС2, способные как к первичному разделению заряда, так и к фотосинтетическому выделению кислорода. Показана возможность химической модификации пигментного состава этих комплексов обработкой боргидридом натрия (NaBH_4). Получены стабильные, очищенные препараты, в которых молекулы хлорофилла *a* и феофитина *a* заменены их производными, 13¹-деоксо-13¹-гидроксихлорофиллом *a* и 13¹-деоксо-13¹-гидроксифеофитином *a* соответственно. Молекулы каротиноидов также подвергаются модификации или частично удаляются из структуры комплексов. Исследованы фотохимические реакции в модифицированных комплексах, а также их спектральные свойства, при комнатной и криогенной (100 К) температуре. Полученные результаты представляют значительный интерес для выяснения вклада индивидуальных пигментов в оптические спектры комплексов ФС2, а также для изучения их роли в динамике и механизме переноса энергии и электрона.

РЕГУЛЯТОРНАЯ РОЛЬ ЭПИБРАССИНОЛИДА В ТЕМНОТЕ И НА СЕЛЕКТИВНОМ СВЕТУ

Ковтун И.С.

Томский государственный университет, Томск (Россия)

E-mail: kovtunirina@sibmail.com

Уникальная способность растений поглощать и преобразовывать солнечную энергию обусловлена сложными биохимическими процессами, происходящими в течение всей жизни растения. Однако, при прорастании, растение не всегда получает свет и, как следствие, не происходит синтеза хлорофилла и формирования хлоропластов. Результатом этиоляции являются проростки с длинным зародышевым стеблем (гипокотилем) и мелкими неокрашенными семядолями. При деэтиоляции наблюдается изменение не только внешнего вида проростка, но и уровня фотосинтетических пигментов. Этим обусловлена сигнальная функция света в жизни растений. В реализацию программы фотоморфогенеза активно включаются фитогормоны.

Мы провели ряд экспериментов по изучению влияния эпибрасинолида (ЭБЛ, 0,01 мкМ) на ростовые показатели, массу и содержание пигментов в 5-суточных проростках *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh экотипа Columbia. ЭБЛ относится к брассиностероидам (БС). Данные фитогормоны представляют интерес, поскольку существуют сведения об их возможном участии в передаче светового сигнала.

В темноте ЭБЛ обуславливал незначительное увеличение осевых органов проростка. Размеры семядолей оставались неизменными, при этом отмечено появление хлорофилла *a*, увеличение содержания хлорофилла *b* и каротиноидов под влиянием экзогенного ЭБЛ.

На синем (СС) и зеленом свете (ЗС) ЭБЛ вызывал увеличение размеров гипокотилей и корней. Значительного изменения площади семядолей не наблюдалось. Содержание пигментов в расчете на 1 проросток снижалось на СС и повышалось на ЗС. Гормон стимулировал накопление сырой массы на селективном свете, особенно данный эффект выражен на ЗС.

Появление хлорофилла *a*, а также увеличение содержания других пигментов можно интерпретировать как «запускание» в темноте процессов свойственных деэтиоляции. БС способны оказывать влияние на проростки не только в темноте, но и на селективном свете.

Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы (П1369).

АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА РАЙОНИРОВАННЫХ СОРТОВ РИСА ПРИМОРСКОГО КРАЯ

Цой Е.А., Жукова Н.И.

ГОУ ВПО Уссурийский государственный педагогический институт,

Уссурийск (Россия)

E-mail: tsoy_el@mail.ru

Пищевая ценность зерновки риса зависит от биохимического состава, который колеблется в зависимости от многих факторов. Основным запасным полисахаридом является крахмал (90% сухой массы), состоящий из амилозы и амилопектина. Ранее нами был исследован количественный состав амилозы и амилопектина зерновок, районированных в Приморском крае сортов риса: Дальневосточный, Дарий 23, Луговой, Приозерный 61, Ханкайский 52 и Ханкайский 429. Настоящее исследование посвящено изучению активности главных ферментов распада крахмала – амилазы (КФ 3.2.1.2) и фосфорилазы (КФ 2.4.1.1). Объектом изучения были зерновка и проростки 6 сортов риса, селекционированных в Приморском научно-исследовательском институте сельского хозяйства РАСХН, урожая 2008 года. Выяснили, что наибольшей амилазной и фосфорилазной активностью обладают зерновки сорта Дальневосточный и Ханкайский 52 (11, 74 и 10, 54; 0, 30 мг/мг белка/час и 0, 46 мг P/100г ткани, соответственно). Исключение составляет активность фосфорилазы в зерновке риса сорта Ханкайский 429. Ферменты наиболее активны в растворе, поэтому при хранении сухого зерна их действие проявляется слабо. В процессе прорастания семян активность ферментов углеводного обмена резко возрастает в результате процессов гидролиза и фосфоролиза крахмала на более простые сахара. Однако эти процессы ферментативного распада крахмала могут происходить самопроизвольно (автолиз), особенно в условиях приморского влажного климата, при неправильном хранении риса. Автолитическая активность указанных ферментов в зерновке риса отрицательно влияет на качество зерна. При хранении зерна необходимо обращать внимание на сорта риса с повышенной ферментативной активностью, т. к. рыхлые набухшие крахмальные зёрна поддаются действию амилазы и фосфорилазы. Таким образом, показатели активности ферментов углеводного обмена: амилазы и фосфорилазы могут быть использованы для оценки качества зерна риса. Дальнейшие исследования биохимических показателей районированных в Приморском крае сортов риса продолжаются нами совместно с ПримНИИСХ РАСХН.

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ УГЛЕВОДОВ В РАСТЕНИЯХ В РАЗНЫХ УСЛОВИЯХ ПРОИЗРАСТАНИЯ

Никитина Е.В.

Научно-производственный Центр «Ботаника» Академии наук Республики Узбекистан,
Ташкент (Узбекистан)

E-mail: elenanik722008@rambler.ru

Цель работы заключалась в сравнительном изучении содержания углеводов у растений в разных условиях произрастания. Концентрацию углеводов определяли в листьях, генеративных органах, подземной части. Для проведения экспериментальных исследований объекты были взяты с контрольного участка территории Ботанического сада города Ташкента и экспериментального участка, расположенного в Мирзочуле Баяутского района Ташкентской области с хлоридно-сульфатным типом засоления почвы.

Уровень растворимых углеводов определяли фотометрическим методом с антроном. Исследования проводились в течение всего вегетационного периода с апреля по сентябрь 2010 года. Объектами исследований являлись лекарственные и перспективные кормовые виды.

Опыты показали, что хлоридно-сульфатное засоление почвы на территории Мирзочуль способствует увеличению растворимых углеводов в растениях. Так, максимальное содержание углеводов у *Mentha piperita* L. – 3-4% на абс. сух. вес, у *Rubia tinctorum* L. – до 4%, *Glycyrrhiza glabra* L. – 12-18%, *Galega officinalis* – 7-8%, *Amaranthus caudatus* – до 6%, *Hibiscus esculentus* – до 5%, *Stachys lanata* – до 7%, что на 40-60% выше по сравнению с содержанием сахаров на контрольном участке. Высокое содержание углеводов у видов, произрастающих на почве с хлоридно-сульфатным засолением показывает, что накопление водорастворимых углеводов является одним из механизмов физиологической адаптации к засолению.

Содержание сахаров также зависит и от генетических особенностей растений. Наибольшим количеством суммы углеводов отличаются *Glycyrrhiza glabra* и *Galega officinalis* из семейства *Fabaceae*, *Stachys lanata* из семейства *Lamiaceae*.

ВЗАИМОСВЯЗЬ АТТРАГИРУЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ КОЛОСА И ИНТЕНСИВНОСТИ ФОТОСИНТЕЗА У РАСТЕНИЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

Крупа Н.Н., Киризий Д.А.

Институт физиологии растений и генетики НАН Украины, Киев (Украина)

E-mail: krupa.natalja@yandex.ua

Как известно, аттрагирующая способность акцепторов стимулирует активность фотосинтетического аппарата, что в свою очередь обеспечивает повышение ассимиляции CO_2 и, следовательно, общей продуктивности растительного организма. Между интенсивностью функционирования фотосинтетического аппарата растений пшеницы и особенностями донорно-акцепторных отношений органов побега существуют регуляторные связи, которые играют важную роль в продукционном процессе и формировании зерновой продуктивности, но их характер остается малоисследованным и дискуссионным.

Целью нашей работы было изучение взаимосвязи аттрагирующей способности колоса и интенсивности фотосинтеза флагового листа у контрастных по продуктивности и интенсивности фотосинтеза сортов озимой пшеницы Володарка (новый, короткостебельный, высокопродуктивный) и Мироновская 808 (старый, высокорослый, менее продуктивный).

О наличии у колоса значительной аттрагирующей силы, стимулирующей работу фотосинтетического аппарата, свидетельствуют результаты измерения углекислотного газообмена флаговых листьев главных побегов растений, у которых в период молочной спелости был удален колос и все боковые побеги. У растений обоих сортов, вовлеченных в этот опыт, наблюдалось уменьшение интенсивности фотосинтеза, причем у Мироновской 808 оно было выражено сильнее, чем у Володарки (соответственно на 40 и 31%). Одновременно увеличилась интенсивность фотодыхания, что обычно наблюдается при уменьшении запроса на ассимиляты со стороны акцептора. При этом в листьях растений сорта Мироновская 808 наблюдалось существенное повышение содержания суммы растворимых сахаров, тогда как у Володарки – лишь тенденция к этому.

Таким образом, можно сделать вывод, что аттрагирующая функция колоса оказывает значительное стимулирующее влияние на активность фотосинтетического аппарата листьев. Растения пшеницы высокопродуктивного сорта, колос которых имел большее количество зерновок (а следовательно и аттрагирующую способность), характеризовались более высокой интенсивностью фотосинтеза флаговых листьев в течение периода налива зерна и зерновой продуктивностью, чем старый менее продуктивный сорт.

ВЛИЯНИЕ ВНЕКОРНЕВОЙ ОБРАБОТКИ ЯНТАРНОЙ КИСЛОТОЙ НА РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ ПРИ АДАПТАЦИИ В УСЛОВИЯХ EX VITRO

Красинская Т.А.

РУП «Институт плодоводства», пос. Самохваловичи (Беларусь)

E-mail: krasinskaya@tut.by

Цель исследования – изучить влияние внекорневой обработки янтарной кислотой (ЯК) на адаптационные процессы растений рода *Prunus* L. после культуры *in vitro* на примере клонового подвоя черешни GiSelA 5. Адаптацию проводили в 2 этапа: этап адаптации длительностью 8 недель – на ионообменном субстрате БИОНА-112, этап постадаптации длительностью 4 недели – на торфяном субстрате (соотношение торф:песок равно 3:1). Обработку раствором янтарной кислоты концентрацией 1; 10 и 100 мг/л проводили дважды: в момент посадки растений в субстрат и на третий день с момента посадки.

В результате опытов было достоверно отмечено, что ЯК в концентрации 1 и 10 мг/л повышала приживаемость растений-регенерантов подвоя: доля прижившихся растений составила 84,8 и 84,5% соответственно ($p < 0,05$). Без обработки доля прижившихся растений составила 75,1%, высокая концентрация 100 мг/л ингибировала адаптационные процессы в результате чего приживаемость растений составила 69,7%.

На морфологические показатели (длина корней, количество корней, длина побега и количество листьев) на 1 этапе адаптации обработка ЯК существенно не влияла (длина стебля варьировала с 3,5 до 4,8 см). Биохимический анализ фотосинтетических пигментов показал, что

достоверно максимальное содержание хлорофиллов а+b (434,4 мг/100 г) и минимальное каротиноидов (10,8 мг/100 г) отмечалось у растений в опыте с обработкой 1 мг/л ЯК. На 2 этапе адаптации было отмечено поствлияние ЯК на дальнейший рост растений: длина стебля растений после обработок 1 и 10 мг/л ЯК была выше, чем в контроле и при обработке 100 мг/л ЯК и составила 15,0 и 17,4 см соответственно.

Таким образом, для практического использования ЯК с целью повышения выхода нормально развитых растений после адаптации к условиям *ex vitro* рекомендуется внекорневая обработка янтарной кислотой в концентрации 1 мг/л.

ОГЛАВЛЕНИЕ

СЕКЦИЯ «Молекулярная биология»

ИССЛЕДОВАНИЕ НОВЫХ ГРАНИЦ В ВITНОРАХ КОМПЛЕКСЕ У <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> НА НАЛИЧИЕ ЭНХАНСЕР-БЛОКИРУЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ Ивлиева Т.А., Кырчанова О.В., Георгиев П.Г.	3
МОДУЛЬНЫЕ ТОКСИНЫ ПАУКОВ Василевский А.А., Гришин Е.В.	3
ВЛИЯНИЕ АМИНОКИСЛОТНЫХ ЗАМЕН В РАЙОНЕ FORK-LOOP 2 РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ <i>ESCHERICHIA COLI</i> НА УЗНАВАНИЕ РЕГУЛЯТОРНЫХ СИГНАЛОВ Пупов Д.В., Кульбачинский А.В.	4
МЕХАНИЗМЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ <i>ESCHERICHIA COLI</i> С ПРИРОДНЫМИ И СИНТЕТИЧЕСКИМИ ДНК-ЛИГАНДАМИ Есюнина Д.М., Пупов Д.В., Кульбачинский А.В.	4
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО С-КОНЦЕВОГО ДОМЕНА АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИНА ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ МЕТОТРЕКСАТА Яббаров Н.Г., Василенко Е.А., Позднякова Н.В.	5
ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ХРОМАТИН-ОРГАНИЗУЮЩИХ БЕЛКОВ В РАБОТЕ ИНСУЛЯТОРНОГО КОМПЛЕКСА Шаповалов И.С., Головнин А.К.	6
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ БЕЛКОВ TOUTATIS И СТВР НА ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМАХ <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> IN VIVO Игнатъева М.А.	6
ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ СРЕДЫ НА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА IGF2 В РАННИХ ЭМБРИОНАХ МЫШИ Климов Е.А., Ростамзаде Д., Головатенко-Абрамов П.К., Платонов Е.С.	7
ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОВ (Lr19, Lr24) УСТОЙЧИВОСТИ К БУРОЙ И СТЕБЛЕВОЙ (Sr24, Sr25) РЖАВЧИНЕ В СОРТАХ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ЮГА Галаев А.В., Сиволап Ю.М.	7
ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ALU- ИНСЕРЦИИ СОПРЯЖЕННОЙ С ГЕНОМ DSCAM НА СТЕПЕНЬ ТЯЖЕСТИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ УМСТВЕННОЙ ОТСТАЛОСТИ Тахирова З.Р., Исламгулов Д.В., Хуснутдинова Э.К.	8
ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ АНТИСМЫСЛОВЫЕ РНК В ГЕНОМАХ <i>BACILLUS SUBTILIS</i> И <i>CORYNEBACTERIUM GLUTAMICUM</i> Киселев С.С., Озолинь О.Н.	8
ВНУТРИКЛЕТОЧНАЯ ЛОКАЛИЗАЦИЯ, ПОИСК БЕЛКОВ-ПАРТНЕРОВ И ЭКСПРЕССИЯ SelV В ПРОЦЕССЕ СПЕРМАТОГЕНЕЗА И ОНТОГЕНЕЗА КРЫСЫ Варламова Е.Г.	9
СВОЙСТВА МУТАНТНЫХ ВАРИАНТОВ БЕЛКОВ FUS И TDP-43 Шелковникова Т.А., Хританкова И.В., Нинкина Н.Н., Бухман В.Л., Бачурин С.О.	10
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЦР-ПДРФ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ХОЗЯЙСТВЕННО-ЦЕННЫХ ПРИЗНАКОВ СВИНЕЙ Бояринцева И.С., Климов Е.А.	10
ВЛИЯНИЕ СВЕРХЭКСПРЕССИИ pfr1-ГЕНА НА ПРОДУКЦИЮ ПИОВЕРДИНА Кулешова Ю.М., Феклистова И.Н.	11

ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИДОКСИНА С КАТАЛИТИЧЕСКОЙ ТРИАДОЙ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ Аюпов Р.Х., Акберова Н.И., Тарасов Д.С.	11
ВОЗМОЖНОСТЬ ЭФФЕКТИВНОГО КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ И ОЧИСТКИ РЕКОМБИНАНТНЫХ АЛЬФАВИРУСОВ ДЛЯ ПОСЛЕДУЮЩЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ГЕН Хуторной В.В., Заякина А.В., Козловская Т.М.	12
ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ И РИЗОБИЙ НА СТАДИИ РАЗВИТИЯ СИМБИОТИЧЕСКИХ ОРГАНЕЛЛ Рычагова Т.С., Борисов А.Ю., Санхуан Х., Тихонович И.А.	13
RECOMBINANT ALPHAVIRUSES COULD BE EFFICIENTLY CONCENTRATED AND PURIFIED FOR USE IN GENE THERAPY Hutornojs V., Zajakina A., Kozlovska T.	13
ПОЛУЧЕНИЕ, АФФИННАЯ ОЧИСТКА И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗЫ 6 (GPx6) МЫШИ Соловьев Е.А., Варламова Е.Г.	14
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧИСЛЕННОСТИ ПОЧВЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ НА РАДИОАКТИВНО ЗАГРЯЗНЕННЫХ ТЕРРИТОРИЯХ Павлова Н.Н., Казаченко М.В., Кулиш Ю.В.	15
БИОДИАГНОСТИКА ПОЧВ В РАЙОНЕ РАЗМЕЩЕНИЯ РАДИОАКТИВНО ОПАСНЫХ ОТХОДОВ Павлова Н.Н., Дмитриева Н.В., Кулиш Ю.Д.	15
ВНУТРЕННЯЯ НЕУПОРЯДОЧЕННОСТЬ В БЕЛКАХ СЕМЕЙСТВА S100 Исмаилов Р.Г., Vin Xue, Денесюк А.И., Уверский В.Н., Пермьяков С.Е.	16
МИКРОСАТЕЛЛИНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ КЕТЫ (<i>ONCORHYNCHUS KETA</i> W.) РЕК ЧУКОТКИ Шитова М.В., Хохлов Ю.Н.	16
ВЫЯВЛЕНИЕ ВИРУСНОГО ЗАРАЖЕНИЯ МЕДОНОСНОЙ ПЧЕЛЫ <i>APIS MELLIFERA</i> РНК-СОДЕРЖАЩИМИ ВИРУСАМИ Калашников А.Е., Малькова С.А., Кривцов Н.И., Удина И.Г.	17
РОЛЬ CHD1 ВО ВКЛЮЧЕНИИ ВАРИАНТНОГО ГИСТОНА H3.3 В ХРОМАТИН ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ <i>D. MELANOGASTER</i> Метельская Д.Н., Конев А.Ю.	18
АМИЛОИДООБРАЗОВАНИЕ ГИБРИДНЫМ БЕЛКОМ ТИОРЕДОКСИН-АЛЬБЕБЕТИН Егорова А.Г., Балобанов В.А., Ильина Н.Б., Черткова Р.В., Долгих Д.А., Бычкова В.Е.	18
КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ГЛЮКОАМИЛАЗ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ПРОДУЦЕНТОВ Холявка М.Г., Макарова Е.Л., Ковалева Т.А., Артюхов В.Г., Кожокина О.М., Битюцкая Л.А.	19
ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ГЕНОВ, ВОВЛЕЧЕННЫХ В МЕТАБОЛИЗМ ЦИТОКИНИНОВ, В ОПУХОЛЕОБРАЗОВАНИИ У РЕДИСА Васильев Р.В., Осипова М.А., Лутова Л.А.	20
МИКРОРНК-ОПОСРЕДОВАННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ МРНК ШАПЕРОНА МЕДИ CCS1 И CU/ZN СОД CSD1,2 В РАСТЕНИЯХ <i>THELLUNGIELLA SALSUGINEA</i> Пашковский П.П.	20
УЗНАЮЩИЕ И ДНК-СВЯЗЫВАЮЩИЕ СВОЙСТВА ЭНДОНУКЛЕАЗЫ F-TflI ФАГА T5 Якунина М.В., Ксензенко В.Н., Крутилина А.И.	21

ОСОБЕННОСТИ БИОСИНТЕЗА ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ПРОТЕИНАЗ <i>SERRATIA GRIMESII</i> Бондырева Н.М., Долгова Е.В., Марданова А.М.	21
ФАКТОР [PIN+] ДРОЖЖЕЙ <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> ВЛИЯЕТ НА ФЕНОТИПИЧЕСКОЕ ПРОЯВЛЕНИЕ ДЕТЕРМИНАНТА [NSI+] Нижников А.А., Лада А.Г., Сайфитдинова А.Ф., Инге-Вечтомов С.Г., Галкин А.П.	22
ФЕНОТИПИЧЕСКОЕ ПРОЯВЛЕНИЕ ДЕТЕРМИНАНТА [NSI+] ДРОЖЖЕЙ <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> ОПОСРЕДОВАНО ГЕНАМИ SUP35 и SUP45 Нижников А.А., Магомедова З.М., Рубель А.А., Инге-Вечтомов С.Г., Галкин А.П.	23
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕПОРТОРНОЙ КОНСТРУКЦИИ GFP-SUP35МС ДЛЯ АНАЛИЗА АГРЕГАЦИИ БЕЛКОВ Антонец К.С., Коржова В.В., Галкин А.П., Рубель А.А.	23
РАСПРЕДЕЛЕНИЕ АЦЕТИЛИРОВАННОГО ГИСТОНА H3 И МЕТИЛИРОВАННОЙ ДНК СЕГМЕНТ- И СТАДИОСПЕЦИФИЧНО НА МЕТАФАЗНЫХ ХРОМОСОМАХ Лежнина Ю.Г., Тихонов А.В., Галембо И.А., Ефимова О.А., Пендина А.А., Чиряева О.Г., Петрова Л.И., Садик Н.А., Дудкина В.С., Кузнецова Т.В., Баранов В.С.	24
ИЗУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАЦИОННЫХ ХАРАКТЕРИСТИК БЕЛКА RAD51 ИЗ <i>PICCHIA ANGUSTA</i> МЕТОДАМИ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ Шалгуев В.И.	24
СПЕЦИФИЧНОСТЬ ЛОКАЛИЗАЦИИ СКАР ДНК В ГЕНОМНЫХ ИЗОХОРАХ ЦЫПЛЕНКА Сизова Т.В., Карпова О.И., Богданов Ю.Ф.	25
ВЫБОР РЕФЕРЕНТНЫХ ГЕНОВ КУКУРУЗЫ (<i>ZEA MAYS</i>) Сафина А.Ф., Горшков В.Ю., Топоркова Я.Ю., Ю.В. Гоголев Ю.В.	26
ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ СОСТАВА БЕЛКОВ МИКРОСПОРОЦИТОВ <i>HIBISCUS SYRIACUS</i> L. (<i>MALVACEAE</i>) В ПРОЦЕССЕ ИХ РАЗВИТИЯ Аллабердиев Р.Х.	26
РОЛЬ ГЕНА CUR1 В ПРИОНИЗАЦИИ БЕЛКА SUP35 И ТЕРМИНАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ У <i>S. CEREVISIAE</i> Пашковская Н.А., Землянко О.М., Журавлева Г.А.	27
РАЗРАБОТКА МЕТОДА ПОЛУЧЕНИЯ УЛУЧШЕННЫХ АГОНИСТОВ WNT/FRIZZLED СИГНАЛЬНОГО КАСКАДА Навурулин В.О., Благодатский А.С., Катанаев В.Л.	27
АНАЛИЗ НУКЛЕОТИДНЫХ И АМИНОКИСЛОТНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ HSP70 У ДВУХ ВИДОВ СЕМЕЙСТВА <i>STRATIOMYIDAE (DIPTERA)</i> Юшенова И.А., Зацепина О.Г., Пржиборо А.А., Евгеньев М.Б., Гарбуз Д.Г.	28
ГЕНЫ ЕСМ23 И GIC2 СНИЖАЮТ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ШТАММОВ <i>S. CEREVISIAE</i> , НЕСУЩИХ МУТАЦИИ В ГЕНЕ SUP45 Аскинази О.Л., Мурина О.А., Москаленко С.Е., Журавлева Г.А.	29
ФРАГМЕНТ-АНАЛИЗ МИКРОСАТЕЛИТНЫХ ЛОКУСОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ СОРТОВ ЯЧМЕНЯ УКРАИНЫ Холявицкая И.Л., Бальвинская М.С., Сиволап Ю.М.	29
РАСПРЕДЕЛЕНИЕ W-ТРЕКОВ И S-ТРЕКОВ В ГЕНОМАХ УМЕРЕННО GC-БОГАТЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ Киселев С.С., Комаров В.М., Масулис И.С., Озолинь О.Н.	30

ВЛИЯНИЕ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ НА ЭРИТРОЦИТЫ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ХОЛОДОВОГО ШОКА Маркова К.В., Семенченко А.Ю.	30
ИССЛЕДОВАНИЕ ХРОМОСОМНОГО ПОЛИМОРФИЗМА ШТАММОВ <i>ACREMONIUM CHRYSOGENUM</i> Думина М.В., Домрачева А.Г., Новак М.И., Бартошевич Ю.Э., Эльдаров М.А., Жгун А.А.	31
НОВЫЕ БЕЛКОВЫЕ КОМПОНЕНТЫ ИНСУЛИРУЮЩИХ КОМПЛЕКСОВ <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> Стахов В.Л., Максименко О.Г., Георгиев П.Г., Бончук А.Н., Кырчанова О.В., Сахарова Т.А.	31
ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ARG72PRO TP53 ГЕНА ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К РАЗВИТИЮ РАКА ЖЕЛУДКА В УЗБЕКИСТАНЕ Убайдуллаева М.И., Турдикулова Ш.У.	32
ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ДОМЕНА I РИБОСОМНОГО БЕЛКА L1 В ВЫПОЛНЕНИИ ЦЕЛЫМ БЕЛКОМ ЕГО ФУНКЦИЙ Баженова М.В., Костарева О.С., Никонова Е.Ю., Корепанов А.П, Тищенко С.В., Гарбер М.Б.	32
СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ БАЗОВОГО РЕПЛИКОНА ПЛАЗМИДЫ БИОДЕГРАДАЦИИ НАФТАЛИНА pFME5 (INCP-7) Волкова О.В., Кошелева И.А.	33
МИКРОБНЫЕ АССОЦИАЦИИ, ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ ЗАГРЯЗНЁННОЙ НАФТАЛИНОМ ПОЧВЫ Панов А.В., Кошелева И.А.	34
ЭКСПРЕССИЯ МЕМБРАННЫХ МАРКЕРОВ ЭФФЕКТОРНЫХ И РЕГУЛЯТОРНЫХ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У РАБОТНИКОВ ПО «МАЯК» Лукьянова Т.В., Кириллова Е.Н., Егоров А.Н.	34
РАЗРАБОТКА IN VITRO ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ОЦЕНКИ ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ АРИТМОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ Антипина Е.И., Садовников С.В., Ямиданов Р.С., Вахитова Ю.В.	35
АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ НЕКОДИРУЮЩЕЙ ТРАНСКРИПЦИИ НА АКТИВНОСТЬ ЭНХАНСЕРОВ <i>D. MELANOGASTER</i> Давыдова А.И., Четверина Д.А., Ерохин М.М, Георгиев П.Г.	35
ИЗУЧЕНИЕ САЙЛЕНСЕР-БЛОКИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ WARI-ИНСУЛЯТОРА <i>D. MELANOGASTER</i> Ерохин М.М., Четверина Д.А., Георгиев П.Г.	36
АНАЛИЗ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ 1A2- И WARI-ИНСУЛЯТОРОВ С ПРОМОТОРАМИ ГЕНОВ YELLOW И WHITE <i>D. MELANOGASTER</i> Четверина Д.А., Ерохин М.М., Давыдова А.И., Георгиев П.Г.	37
СОЗДАНИЕ ВАРИАНТА ГЕНА СВИНОГО α -ИНТЕРФЕРОНА С ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬЮ, ОПТИМИЗИРОВАННОЙ ДЛЯ ЭКСПРЕССИИ В <i>E. COLI</i> Потапович М.И., Прокулевич В.А.	37
ДИНАМИКА ПОТЕРИ ФАКТОРА ДРОЖЖЕВОГО ПРИОНА [PSI+] ПОД ВЛИЯНИЕМ МУТАЦИЙ В N-ДОМЕНЕ БЕЛКА Sup35 Бондарев С.А., Трубицина А.П., Каява А.В., Журавлева Г.А.	38
АНАЛИЗ ГГХ-ЗАВИСИМОЙ НОНСЕНС-СУПРЕССИИ В КЛЕТКАХ <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> , НЕСУЩИХ ГЕН-ГОМОЛОГ ERF3 ИЗ <i>MUS MUSCULUS</i> Широколобова Е.Д., Тарасов О.В., Журавлева Г.А.	38

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ НОВЫХ ПРОТООНКОГЕНОВ Фаттахова Д.Х., Крючков М.В., Аверков В.С., Плешкова Н.А., Катанаев В.Л.	39
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ХИМЕРНЫХ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА «SH3-БЕРЖЕРАК» Долгушин К.В., Гущина Л.В., Филимонов В.В.	40
МОДЕЛЬ ДЛЯ АНАЛИЗА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПЕПТИДА А β И PRION PROTEIN В ДРОЖЖАХ <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> Коржова В.В., Антонец К.С., Сайфитдинова А.Ф., Галкин А.П., Рубель А.А.	40
ТРАНСПОРТИРОВКА РЕКОМБИНАНТНОГО ГЕНОМА ВИРУСА ЛЕСА СЕМЛИКИ IN VITRO И IN VIVO Василевская Е., Скрастиня Д., Плотницева А., Дубурс Г., Козловская Т., Заякина А.	41
НЕРАВНОВЕСНОЕ ПЛАВЛЕНИЕ МУТАНТНЫХ ФОРМ GFP Поварницына Т.В., Мельник Т.Н., Глухов А.С., Мельник Б.С.	42
ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ГЕНОВ KNAT1 И WOX5 В ОПУХОЛЕОБРАЗОВАНИИ У РЕДИСА Творогова В.Е., Осипова М.А., Лутова Л.А.	42
ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ ПРОМЕЖУТОЧНОГО СОСТОЯНИЯ АПОМИОГЛОБИНА Дудина М.А., Глухов А.С., Мельник Б.С.	43
ИДЕНТИФИКАЦИЯ В ГЕНОМЕ ЧЕЛОВЕКА cRSS, ИМЕЮЩИХ ТАКОЙ ЖЕ СТРУКТУРНЫЙ ПРОФИЛЬ КАК RSS ГЕНОВ Ig И TCR Губский А.Ю.	43
ДИЗАЙН И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ СЕМЕЙСТВА ХИМЕРНЫХ БЕЛКОВ НА ОСНОВЕ СПЕКТРИНОВОГО SH3-ДОМЕНА Ратникова Н.М., Гущина Л.В., Габдулхаков А.Г., Филимонов В.В.	44
СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МНОГОДОМЕННЫХ КОМПЛЕКСОВ МОТИВ-СПЕЦИФИЧЕСКИХ БЕЛКОВ И ДНК С УЧАСТИЕМ ГОМЕОДОМЕНОВ Желтухин Е.И.	44
СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ КЛАССИФИКАЦИЯ ГОМОЛОГИЧНЫХ ГОМЕБОКСОВЫХ ГЕНОВ В ГЕНОМАХ ЖИВОТНЫХ Желтухин Е.И.	45
ОЛИГОМЕРИЗАЦИЯ БЕТА2-МИКРОГЛОБУЛИНОВ ЧЕЛОВЕКА С УКОРОЧЕННЫМИ АМИНОКИСЛОТНЫМИ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЯМИ Федорова Я.В., Поляков Д.С.	45
ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА DM NXF1 У <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> Гинанова В.Р., Голубкова Е.В.	46
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АЛЬБУМИН-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА В ТЕСТ- СИСТЕМЕ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИКРОАЛЬБУМИНУРИИ Бормотова Е.А., Гупалова Т.В.	47
ИННОВАЦИОННЫЕ ПОДХОДЫ К УЛУЧШЕНИЮ РЕКОМБИНАНТНОГО ПРОИЗВОДСТВА WNT- ЛИГАНДОВ Плешкова Н.А., Крючков М.В., Благодатский А.С., Катанаев В.Л.	47
СОЗДАНИЕ КОЛЛЕКЦИИ ТРАНСГЕННЫХ МУШЕК <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> , ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ПРОТООНКОГЕНЫ ЧЕЛОВЕКА Визерова К.В., Крючков М.В., Катанаев В.Л.	48

РАСПРОСТРАНЁННОСТЬ МЕДЬСОДЕРЖАЩИХ ОКСИДАЗ СРЕДИ БАКТЕРИЙ – ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА <i>STREPTOMYCES</i> Юревич Л.И., Леонтьевский А.А.	49
ПАТТЕРНЫ ЭКСПРЕССИИ AIF И CGRP В ЭПИФИЗЕ ПРИ СТАРЕНИИ Катанугина А.С., Линькова Н.С.	49
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ <i>ORIGANUM VULGARE L.</i> И <i>HYPERICUM PERFORATUM L.</i> Чижовкина Е.С., Колосов Л.А., Бельтюкова Н.Н., Боронникова С.В.	50
ОСОБЕННОСТИ ИЗУЧЕНИЯ РЕГУЛЯТОРНЫХ ГЕНОВ ВИЧ-1 С ПОМОЩЬЮ АМПЛИФИКАЦИИ Рыжов К.А., Алешкина М.А., Носик М.Н.	50
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СООТНОШЕНИЯ 25S/18S РРНК КАК КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ ПОКАЗАТЕЛЬ СТАБИЛЬНОСТИ РРНК Насонов А.И., Степанов И.В., Плотников В.К.	51
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ RAPD-АНАЛИЗА ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ДВУХ ВИДОВ ФАСОЛИ Головань Л.В.	52
СТРУКТУРНО-КИНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МУТАНТНОЙ ФОРМЫ РИБОСОМНОГО БЕЛКА L1 СО СПЕЦИФИЧЕСКИМ ФРАГМЕНТОМ Сарских А.В., Костарева О.С., Никонова Е.Ю., Габдулхаков А.Г., Сычева А.М., Тищенко С.В., Невская Н.А., Никонов С.В., Гарбер М.Б.	52
АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ВО ВКУСОВОЙ ТКАНИ ГЕНОВ КАЛЬЦИЙ-ЗАВИСИМЫХ ХЛОРНЫХ КАНАЛОВ Абрамов И.С.	53
КЛОНИРОВАНИЕ, ЭКСПРЕССИЯ И СТРУКТУРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА С-КОНЦЕВОГО ФРАГМЕНТА БЕЛКА УВ-1 Кретов Д.А., Гурьянов С.Г., Молочков Н.В., Котова Н.В., Овчинников Л.П.	54
ЭУКАРИОТИЧЕСКИЙ РИБОСОМНЫЙ БЕЛОК P0 ИЗ <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> Митрошин И.В., Никонова Е.Ю., Шкляева А.А., Кравченко О.В., Никонов С.В., Гарбер М.Б.	54
РАЗЛИЧИЕ ГЕННЫХ СЕГМЕНТОВ, КОДИРУЮЩИХ АУТОАНТИТЕЛА ПРОТИВ ИФН- γ У БОЛЬНЫХ РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ И ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ Вихрова М.А.	55
ПРЕДПОЧТИТЕЛЬНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕННЫХ СЕГМЕНТОВ ПРИ ИММУННОМ ОТВЕТЕ ЧЕЛОВЕКА НА БЕЛОК P35 ОРТОПОКСВИРУСОВ Хлусевич Я.А.	55
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ В ИЗУЧЕНИИ ФЕНОМЕНА ВОЗНИКНОВЕНИЯ Токмаков С.В., Дубина Е.В., Мухина Ж.М.	56
КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА РИБОСОМНОГО БЕЛКА L1 ИЗ БАКТЕРИИ <i>AQUIFEX AEOLICUS</i> Шкляева А.А., Никонова Е.Ю., Тищенко С.В., Габдулхаков А.Г., Гарбер М.Б.	57
МОДУЛЬНЫЕ ПРЕДШЕСТВЕННИКИ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ ПШЕНИЦЫ <i>TRITICUM</i> <i>KIHARAE</i> Уткина Л.Л., Пухальский В.А., Андреев Я.А.	58
МУЛЬТИФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ БЕЛОК УВ-1 СПОСОБЕН ОБРАЗОВЫВАТЬ АМИЛОИДОПОДОБНЫЕ ФИБРИЛЛЫ Гурьянов С.Г., Кретов Д.А., Никулин А.Д., Селиванова О.М., Овчинников Л.П.	58

ИССЛЕДОВАНИЕ РЕГУЛЯТОРНЫХ СВОЙСТВ АРХЕЙНОГО РИБОСОМНОГО БЕЛКА L4 Михайлина А.О., Сарских А.В., Тищенко С.В., Гарбер М.Б.....	59
ВЛИЯНИЕ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ НА ЭРИТРОЦИТЫ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ХОЛОДОВОГО ШОКА Маркова К.В., Семенченко А.Ю.	59
ПОЛУЧЕНИЕ ХИМЕРНОГО ФЕРМЕНТА ДНК-МЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ HNAI-GFP Тарлачков С.В., Шевчук Т.В., Дьяченко О.В., Бурьянов Я.И.	60
ИЗУЧЕНИЕ ЛОКАЛИЗАЦИИ БЕЛКА TOUTATIS В КЛЕТКАХ <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> Покровский Д.К.	60
ТРАНСФЕКЦИЯ ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ КЛЕТОК IN VITRO СИНТЕЗИРОВАННОЙ РНК Вежане А.В., Алексеева Е.В., Дубурс Г., Плотнищева А.В., Тимофеева И.А., Козловская Т.М.....	61
СПОСОБЕН ЛИ БЕЛОК ИЗ <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> ОБРАЗОВЫВАТЬ ФИБРИЛЛЯРНЫЕ СТРУКТУРЫ? Мурина В.Н., Селиванова О.М., Гарбер М.Б., Никонов С.В., Никулин А.Д.	62
ВЛИЯНИЕ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ ИНКУБАЦИИ В РАСТВОРАХ ГЛИЦЕРИНА НА ГИПЕРТОНИЧЕСКИЙ ГЕМОЛИЗ ЭРИТРОЦИТОВ БЫКА Александрова Д.И., Писаренко Н.А., Нипот Е.Е., Ершов С.С., Шпакова Н.М.	62
С-КОНЦЕВОЙ ДОМЕН ФАКТОРА ТРАНСКРИПЦИИ TNRA НЕОБХОДИМ ДЛЯ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С ГЛУТАМИНСИНТЕТАЗОЙ И БЕЛКОМ GLNK Федорова К.П., Каюмов А.Р., Ильинская О.Н., Тарасов Н.В., Шарафутдинов И.С.....	63
КЛАССИЧЕСКАЯ И ОБРАТНАЯ ГЕНЕТИКА В ИЗУЧЕНИИ СИМБИОТИЧЕСКИХ ГЕНОВ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (<i>PISUM SATIVUM</i> L.) Жуков В.А., Неманкин Т.А., Рычагова Т.С., Жернаков А.И., Титов В.С., Сулима А.С., Штарк О.Ю., Борисов А.Ю., Тихонович И.А.....	63
ИЗУЧЕНИЕ QTL, АССОЦИИРОВАННЫХ С ФОТОПЕРИОДИЧЕСКИМ ЦВЕТЕНИЕМ ХЛОПЧАТНИКА НА ОСНОВЕ ГИБРИДОВ F2 И F3 ПОКОЛЕНИЙ Кушанов Ф.Н., Тураев О.Я. Дармонов М., Носирова З.Г., Буриев З.Т., Абдукаримов А., Абдурахмонов И.Ю.....	64
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ БЕЛКОВ ЯДРЫШКА SURF-6 И V23 В КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА Кордюкова М.Ю., Торопыгин И.Ю., Зацепина О.В., Ползиков М.А.	64
БЕЛОК DmNXF1 УЧАСТВУЕТ В ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОМ ТРАНСПОРТЕ мРНК ПО ЭЛЕМЕНТАМ ЦИТОСКЕЛЕТА В НЕЙРОНАХ У <i>D. MELANOGASTER</i> Никулина А.О., Мамон Л.А.....	65
DmNXF1 – ЯДЕРНО-ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИЙ ЭКСПОРТЕР мРНК – ВЫЯВЛЯЕТСЯ В ВИДЕ ГРАНУЛ В ТЕЛЕ И ОТРОСТКАХ НЕЙРОНОВ У ДРОЗОФИЛЫ Никулина А.О., Мамон Л.А.....	66
ДИССОЦИАЦИЯ БЕЛКА HP1 α ИЗ ЦЕНТРОМЕРНЫХ ОБЛАСТЕЙ НЕ ПРИВОДИТ К ИХ ДЕКОМПАКТИЗАЦИИ Величко А.К., Кантидзе О.Л., Разин С.В.....	66
ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ КЭП-СТРУКТУРЫ ПРИ ОБРАЗОВАНИИ ВИРУСНЫХ РИБОНУКЛЕОПРОТЕИДОВ IN VITRO Петрова Е.К., Никитин Н.А., Сушко А.Д., Архипенко М.В.....	67

ФЕНОТИПИЧЕСКИЙ И ГЕНОТИПИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ПОДВИДОВ <i>CULEX PIPIENS</i> L. (<i>DIPTERA: CULICIDAE</i>) В РЕСПУБЛИКЕ МОЛДОВА Шулешко Т.М., Мовилэ А.А.	67
АНАЛИЗ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА PRKAG3 В ЛОКАЛЬНОЙ ПОПУЛЯЦИИ СВИНЕЙ Лопухова Е.Н.	68
ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА СИНТЕЗА ПЕПТИДА CGRP Линькова Н.С.	69
ПЕПТИДНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ТИМОЦИТОВ Линькова Н.С., Полякова В.О., Дудков А.В.	69
РАЗРАБОТКА СТРУКТУРНОЙ КЛАССИФИКАЦИИ БЕЛКОВ, СОДЕРЖАЩИХ β -УГОЛКИ Бошкова Е.А., Гордеев А.Б., Ефимов А.В.	70
СЕКЦИЯ «Общая и функциональная биохимия» МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ЛИПИДНАЯ ПОРА, ИНДУЦИРОВАННАЯ ЖИРНЫМИ КИСЛОТАМИ: СВОЙСТВА И ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ Белослудцев К.Н.	71
НОВАЯ ГРУППА ЭНДОГЕННЫХ БИОРЕГУЛЯТОРОВ, КАК ОСНОВА ДЛЯ СОЗДАНИЯ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ Краснов М.С.	72
КОНФОРМАЦИОННЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПСИХРОФИЛЬНОЙ ПРОТЕИНАЗЫ ИЗ ПСИХРОТОЛЕРАНТНОГО МИКРООРГАНИЗМА <i>SERRATIA PROTEAMACULANS</i> Гришкова М.В., Румш Л.Д., Михайлова А.Г., Горленко В.А., Гринберг В.Я., Гринберг Н.В., Бурова Т.В.	75
БЕЛОК RAD51 ИЗ <i>CHLAMYDOMONAS REINHARDTII</i> В РЕАКЦИИ IN VITRO Шалгуев В.И., Сизова И.А.	76
ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРЫ АКТИВНОГО ЦЕТРА МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ-2 ТКАНИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ Мотрук Н.В.	76
ВЛИЯНИЕ ЗАПАСОВ РЕТИНОИДОВ В ПЕЧЕНИ НА ГИДРОКСИЛАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ ЦИТОХРОМА P-450 Копильчук Г.П., Шмараков И.А., Бучковская И.М.	77
МОЛЕКУЛЯРНО-МНОЖЕСТВЕННЫЕ ФОРМЫ ЗАПАСНЫХ БЕЛКОВ СЕМЯН ТРИТИКАЛЕ ПРОДОВОЛЬСТВЕННОГО НАЗНАЧЕНИЯ Погонец Е.В., Шаяхметов И.Ф., Цоголова Ю.Н.	78
ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ЦИТОХРОМОВ В ТРАНСФОРМИРОВАННОЙ ТКАНИ КРЫС ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЕЙ Волошук О.Н., Мудрак М.	78
ПРИМЕНЕНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ИНДИКАТОРА AMPLEX RED ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ Белова С.П., Мурзаева С.В.	79
ВЛИЯНИЕ НИЗКОДОЗОВОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА СООТНОШЕНИЕ УБИХИНОН/УБИХИНОЛ В МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ФРАКЦИИ ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ КРЫС С ТРАНСПЛАНТИРОВАННОЙ КАРЦИНОМОЙ ГЕРЕНА Волошук О.Н., Биндяк Л.	80

СВЯЗЫВАНИЕ СИНТЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА ОКТАРФИНА С НЕОПИОИДНЫМ РЕЦЕПТОРОМ БЭТА-ЭНДОРФИНА МЕМБРАН ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫСЫ Некрасова Ю.Н., Садовников В.Б., Наволоцкая Е.В.	80
ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ БИОКОМПЛЕКСА ЛЕКТИН-ЭКДИСТЕРОИД К ФИТОПАТОГЕНАМ Нургалева Э.З., Султанова А.А.	81
ИНГИБИТОРЫ ПРОТЕИНАЗ <i>ECHINACEAE PURPUREA</i> ПРОЯВЛЯЮТ АНТИКОАГУЛЯНТНУЮ АКТИВНОСТЬ Иванов О.А., Красненкова Т.П., Афонин В.Ю., Домаш В.И.	81
ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ NADH-ЦИТОХРОМ В5-РЕДУКТАЗЫ МИКРОСОМНОЙ ФРАКЦИИ ПЕЧЕНИ КРЫС-ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЕЙ Кеца О.В., Винничук С.М.	82
ВЛИЯНИЕ СИМБИТЕРА® НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ГЛУТАТИОНОВОЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ ЖЕЛУДОЧНОЙ ГИПОАЦИДНОСТИ Короткий А.Г., Тимошенко М.А., Пилипенко С.В., Гайда Л.Н., Кравченко О.А.	83
ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССОВ АДСОРБАЦИИ Н И ОН ИОНОВ НА ДЕКСТРАНЕ ПРИ ЗНАЧЕНИИ pH РАВНЫЙ ТРЁМ Белякова И.С., Мартынов Д.В., Чухно А.С.	83
СТРУКТУРА И СВОЙСТВА УГЛЕВОДНЫХ ФРАГМЕНТОВ ФЛАГЕЛЛИНА ПОЛЯРНОГО ЖГУТИКА БАКТЕРИЙ <i>AZOSPIRILLUM BRASILENSE</i> Бурыгин Г.Л., Беляков А.Е., Селиванов Н.Ю., Матора Л.Ю., Щёголев С.Ю.	84
ИССЛЕДОВАНИЕ ПОВЕРХНОСТНОГО НАТЯЖЕНИЯ АМИНОКИСЛОТ И БЕЛКОВ Латий Л.Г., Петрова Т.Н., Чухно А.С., Дмитриева И.Б.	84
ВЛИЯНИЕ ГИПОКСИЧЕСКОГО СТРЕССА НА СОДЕРЖАНИЕ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА В РАЗЛИЧНЫХ КОМПАРТМЕНТАХ КЛЕТОК РАСТЕНИЙ СОИ Бердникова О.С., Ершова А.Н.	85
МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИНАМИКА САМООРГАНИЗУЮЩИХСЯ ИОННЫХ ПЕПТИДОВ (RADA) ₄ – КОМПОНЕНТОВ ИСКУССТВЕННОГО МАТРИКСА Шадрина Т.Е., Данилкович А.В., Тихонов Д.А., Соболев Е.В., Удовиченко И.П.	86
ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРОВ НА АКТИВНОСТЬ РАЗНЫХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ФОРМ β-ГЛЮКОЗИДАЗЫ РАСТЕНИЙ ГОРОХА Баркалова О.Н., Фатуллаева А.С., Ершова А.Н.	86
СОДЕРЖАНИЕ ЛИПОПРОТЕИНОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ КРЫС ПРИ ГИПОТЕРМИИ Маяхи Мохаммед Т. Джабер, Кличханов Н.К.	87
ВЛИЯНИЕ ГИПОТЕРМИИ НА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В МОЗГЕ КРЫС Магомедов К.Г., Исмаилова Ж.Г., Дибиргаджиева П.Ш., Раджабова З.Г., Сулейманова П.И., Мейланов И.С., Кличханов Н.К.	88
ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ СИНТЕЗА И РАСПАДА ГЕМА В ПЕЧЕНИ КРЫС С ТРАНСПЛАНТИРОВАННОЙ КАРЦИНОМОЙ ГЕРЕНА Кеца О.В., Зла А.В.	88
АКТИВНОСТЬ И ИЗОФЕРМЕНТНЫЙ СОСТАВ ИЗОЦИТРАТЛИАЗЫ В СЕМЕНАХ АМАРАНТА РАЗНЫХ СОРТОВ Сальников А.В., Епринцев А.Т., Ассиль М. Хаба, Хамвитала Макмиллан	89

АКТИВНОСТЬ ГЕКСОКИНАЗЫ, ФОСФОФРУКТОКИНАЗЫ, ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ И Na,K-АТФАЗЫ В ЭРИТРОЦИТАХ ПРИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА Тихонова Л.А., Белоушко Е.Е., Каминский Ю.Г., Косенко Е.А.	89
ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ УГЛЕРОДА НА СТРУКТУРНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ КЛЕТКИ Бордей Н.С., Дмитриева И.Б., Соболева Е.Н., Чухно А.С.	90
ПРИМЕНЕНИЕ ТЕРМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОПТИМАЛЬНЫХ ТЕМПЕРАТУР ХРАНЕНИЯ КРОВЕЗАМЕНИТЕЛЕЙ Сорокина А.С., Токарева К.А., Бахолдина Л.А, Чухно А.С.	91
ЛИПИДНЫЙ ОБМЕН ТИМОЦИТОВ ПРИ ИСКУССТВЕННОМ ГИПОБИОЗЕ КРЫС Быкова О.В., Маркевич Л.Н., Коломийцева И.К.	91
ИЗОФЕРМЕНТНЫЙ СОСТАВ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ИЗ КУЛЬТУРЫ БАКТЕРИЙ <i>SPHAEROTILUS NATANS</i> ШТАММ Д-507 Ву Т.Л., Селиванова Н.В., Федорин Д.Н., Епринцев А.Т.	92
СОРБЦИЯ ЭЛЕКТРОЛИТОВ И СЛОЖНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ Кергенцев А.А., Эрдни-Гаряев С.Э., Дмитриева И.Б., Чухно А.С.	93
ОЛИГОМЕРНЫЕ ФОРМЫ МАЛОГО БЕЛКА ТЕПЛОВОГО ШОКА <i>ACHOLEPLASMA LAIDLAWII</i> Вишняков И.Е., Левицкий С.А., Снигиревская Е.С., Комиссарчик Я.Ю., Борхсениус С.Н.	93
ЗАМЕДЛЕНИЕ РОСТА КРЫС, ВЫЗВАННОЕ СОЛЯМИ СЕРЕБРА, ДОБАВЛЕННЫМИ В КОРМ Ильичева Е.Ю.	94
ШАПЕРОННЫЕ СВОЙСТВА РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА ІВРА ИЗ МИКОПЛАЗМЫ Вишняков И.Е., Рунов А.Л., Борхсениус С.Н.	94
СДВИГИ В СОСТАВЕ НЕЙТРАЛЬНЫХ ЛИПИДОВ ХРОМАТИНА ПРИ in vivo ВОЗДЕЙСТВИИ ЦИСПЛАТИНА Оганесян А.Г., Акопян Н.Р., Хачатрян Г.Н., Явроян Ж.В., Геворкян Э.С.	95
РНК-АПТАМЕРЫ К ДНК-ПОЛИМЕРАЗЕ ЙОТА КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ АГЕНТЫ ДИАГНОСТИКИ И ТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОГО ПЕРЕРОЖДЕНИЯ Лахин А.В., Казаков А.А., Макарова А.В., Тарантул В.З., Генинг Л.В.	96
АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ СОЕДИНЕНИЙ, СОДЕРЖАЩИХ 2-АЗАСПИРО[4,5]ДЕКАНОВЫЙ ФРАГМЕНТ Свиридецкая Е.А., Аникина Л.В.	96
АДСОРБЦИЯ ЭЛЕКТРОЛИТОВ И СЛОЖНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ НА УГЛЕ Давыдова В.Л., Смирнова М.А., Дмитриева И.Б., Чухно А.С.	97
ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ И ИЗОФЕРМЕНТНЫЙ СОСТАВ ФУМАРАТГИДРАТАЗЫ ПРИ ПРОРАСТАНИИ СЕМЯН КУКУРУЗЫ Селиванова Н.В., Федорин Д.Н., Селезнева Е.А., Потемкина Н.А., Махмуд Али С.	97
ТРАНСПОРТ ИОНОВ КАК ФАКТОР РЕГУЛЯЦИИ РАЗОБЩАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ Марчик Е.И., Рыбакова С.Р., Самарцев В.Н.	98
ВЛИЯНИЕ АДРЕНАЛЭКТОМИИ НА МЕТАБОЛИЗМ МЕДИ В ПЕЧЕНИ И ПОЧКАХ Василенко Ю.А., Ильичева Е.Ю.	99
РАЗЛОЖЕНИЕ МОНО- И ДИГИДРОКСИЛИРОВАННЫХ БЕНЗОЙНЫХ КИСЛОТ ШТАММОМ <i>RHODOCOCCLUS OPACUS</i> 1СР Субботина Н.М., Коломыцева М.П., Головлева Л.А.	99

ПРИМЕНЕНИЕ КОНДУКТОМЕТРИИ И ТЕРМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ С ИОНАМИ МЕДИ Морозова В.А., Бахолдина Л.А., Чухно А.С.	100
ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СПЕКТР ЛИПИДОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ КРЫС ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ГИПОАЦИДНОМ СОСТОЯНИИ Сенин С.А., Дворщенко Е.А., Береговая Т.В., Остапченко Л.И.	100
ПОКАЗАТЕЛИ УГЛЕВОДНОГО И ПУРИНОВОГО ОБМЕНА В ПЛАЗМЕ КРЫС ПРИ СТРЕССЕ, ВЫЗВАННОМ ГИПОКСИЕЙ И СКЭНАР-ВОЗДЕЙСТВИЕМ Вечканов Е.М., Сорокина И.А., Лукаш А.И., Булгакова А.А., Парибек И.М., Алилуев И.А.	101
ВЛИЯНИЕ ПРЕДИСТОРИИ ПОПУЛЯЦИИ НА СВОЙСТВА МЕТАЛЛОТИОНЕИНОВ КАРАСЯ ПРИ ДЕЙСТВИИ НА ОРГАНИЗМ ХЛОРОРГАНИЧЕСКОГО БИОЦИДА Фальфушинская Г.И., Гнатишина Л.Л., Осадчук О.И., Шулдик О.А., Турта О.А., Бажура Я.В., Грицай И.И., Жук М.В., Столяр О.Б.	102
ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНАЯ СИСТЕМА ЭРИТРОЦИТОВ В ДИНАМИКЕ ЗИМНЕЙ СПЯЧКИ СУСЛИКОВ Абдуллаев В.Р., Мамедова Э.М.	102
РАСПРЕДЕЛЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ – НЕЙРОМЕДИАТОРОВ В СУБКЛЕТОЧНЫХ ФРАКЦИЯХ МОЗГА СУСЛИКОВ ПРИ ЗИМНЕЙ СПЯЧКЕ Абдуллаев В.Р., Абдуллаев Р.А.	103
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОДЕЛИ Ag-ГРЫЗУНОВ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ МЕХАНИЗМОВ ТРАНСПОРТА ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА ЦИСПЛАТИНА Затуловский Е.А., Скворцов А.Н.	103
ДЕЙСТВИЕ ЦИСПЛАТИНА НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПЕЧЕНИ КРЫС Мельникова-Шарова М.А., Арцруни И.Г., Матинян К.С., Саркисян Э.Г., Геворкян Э.С.	104
ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА НА ПРОЦЕСС ТЕРМОАГРЕГАЦИИ РЕКОМБИНАНТНОЙ АСПАРТАТАМИНОТРАНСФЕРАЗЫ Бондарюк Е.В., Салем А.Э.	105
ВЛИЯНИЕ ШАПЕРОНОВ GROEL НА ПРОЦЕСС ТЕРМОАГРЕГАЦИИ РЕКОМБИНАНТНОЙ АСПАРТАТАМИНОТРАНСФЕРАЗЫ Бондарюк Е.В.	105
ИЗОФОРМЫ ЛАККАЗЫ ГРИБА <i>CERRENA UNICOLOR</i> ВКМ F-3196 – ПРОДУКТЫ РАЗНЫХ ГЕНОВ Лисова З.А., Лисов А.В., Леонтьевский А.А.	106
ЭСТЕРАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ АЛЬБУМИНА ПО Р-НИТРОФЕНИЛАЦЕТАТУ И ЕГО ВКЛАД В ДЕТОКСИКАЦИЮ ЗОМАНА Шмурак В.И., Надеев А.Д., Прокофьева Д.С., Гончаров Н.В.	106
МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА К ПРОПЕПТИДУ В, КОМПОНЕНТУ ПРЕДШЕСТВЕННИКА ЭНДОПЕПТИДАЗЫ $AlpV$, СЕКРЕТИРУЕМОЙ <i>LYSOBACTER SP.</i> Сухаричева Н.А., Видягина Е.О., Шувалова О.П., Красовская Л.А., Степная О.А., Руденко Н.В.	107
СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ НАХОДЯЩИХСЯ НА ХРОНИЧЕСКОМ ГЕМОДИАЛИЗЕ Поляков Д.С.	107
ИЗУЧЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ КОМПЛЕКСА МЕЖДУ БЕЛКОМ И АЗОЛОМ Мартынов Д.В., Чухно А.С.	108

АКТИВНОСТЬ ГЛУТАТИОНРЕДУКТАЗЫ В РАЗНЫХ ОРГАНАХ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ИНСУЛЬТА Торгало Е.А., Остапченко Л.И.	109
РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ИЗОФЕРМЕНТОВ ПИРУВАТКИНАЗЫ БИОФЛАВОНОИДАМИ IN VITRO Губич О.И., Исачкин О.В., Посредник Д.В.	109
АНАЛОГИ ПРОСТАГЛАНДИНОВ ГРУППЫ В КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ЦИТОПРОТЕКТОРНЫЕ СРЕДСТВА Губич О.И., Шевчук Е.С.	110
УРОВЕНЬ РЕГУЛЯТОРНЫХ ПЕПТИДОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ СПОРТСМЕНОВ ПРИ ФИЗИЧЕСКОЙ РАБОТЕ Соловьев В.Б., Юматова Е.В., Бегутов М.М., Киселев М.А., Пчеляков А.В.	111
ИЗУЧЕНИЕ МЕТАБОЛИЗМА РЕГУЛЯТОРНЫХ ПЕПТИДОВ В МАТОЧНОМ МОЛОЧКЕ И ЛИЧИНКАХ ПЧЕЛ Соловьев В.Б., Юматова Е.В., Бегутов М.М., Киселев М.А., Пчеляков А.В.	111
МЕТАБОЛИЗМ ВИТАМИНА С В ОРГАНАХ ЧЕРНОМОРСКИХ МИДИЙ <i>MYTILUS GALLOPROVINCIALIS</i> ПОД ДЕЙСТВИЕМ ЛИПОЕВОЙ КИСЛОТЫ Скупой С.А., Толкаченко Д.С.	112
СЕКРЕЦИЯ БЕЛКА ТЕПЛОВОГО ШОКА HSP90 КЛЕТОЧНЫМИ КУЛЬТУРАМИ ВНК-21 И VERO Красикова Л.С., Снигирева А.В., Скарга Ю.Ю., Врублевская В.В., Моренков О.С.	112
СЕКЦИЯ «Биофизика клетки, органов и систем» ДЕЙСТВИЕ ПРЕПАРАТА «ДИМЕФОСФОН» НА ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ЭРИТРОЦИТОВ ГОЛУБЯ ПРИ РАЗВИТИИ АПОПТОЗА Грузнов М.А., Девяткин А.А., Ревин В.В.	114
ЭКЗОГЕННЫЙ БЕЛОК ТЕПЛОВОГО ШОКА БТШ70 ЗАЩИЩАЕТ КЛЕТКИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ОТ ДЕЙСТВИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПАТОГЕНОВ Антонова О.Ю., Юринская М.М., Винокуров М.Г.	114
СЕКРЕЦИЯ МЕДИАТОРА ПО ТИПУ KISS-AND-RUN В НЕРВНО-МЫШЕЧНОМ СИНАПСЕ ЛЯГУШКИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ГИПЕРОСМОТИЧЕСКИХ РАСТВОРОВ Григорьев П.Н.	115
ВЛИЯНИЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО УЛЬТРАЗВУКОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ПРОНИЦАЕМОСТЬ БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕМБРАН ЛЕЙКОЦИТОВ Овчинникова С.О., Садилова П.Ю.	115
КЛАССИФИКАЦИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ПРОСТРАНСТВЕННЫХ СТРУКТУР G-БЕЛОК СОПРЯЖЕННЫХ РЕЦЕПТОРОВ Новиков Г.В., Сивожелезов В.С.	116
ТЕРМОДЕНАТУРАЦИЯ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ СИНАПТИЧЕСКИХ МЕМБРАН МОЗГА КРЫС Тикра Х.М., Джафарова А.М., Кличханов Н.К., Мейланов И.С.	117
ΔpCl-ЗАВИСИМЫЙ ПЕРЕНОС ПРОТОНОВ ЧЕРЕЗ МЕМБРАНЫ КЛЕТОК КОРНЯ ГАЛОФИТА <i>SUAEDA ALTISSIMA</i> Шувалов А.В., Орлова Ю.В.	117
РАСЧЕТ СПЕКТРОВ МРН ДЛЯ МОДЕЛЕЙ СУПЕРНУКЛЕОСОМНОЙ СТРУКТУРЫ ХРОМАТИНА Илатовский А.В., Лебедев Д.В., Филатов М.В., Григорьев М., Петухов М.Г., Исаев-Иванов В.В.	118

ГЕНЕРАЦИЯ РЕЦЕПТОРНЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ ВЫСШИМИ РАСТЕНИЯМИ НА ПРИМЕРЕ ПРОРОСТКОВ ТЫКВЫ (<i>CUCURBITA PEPO</i> L.) Неруш В.Н.....	119
АНАЛИЗ ИНГИБИТОРНОГО ВЛИЯНИЯ АСПАРАГИНОВОГО ПРОИЗВОДНОГО 1,4-НАФТОХИНОНА НА АКТИВНОСТЬ Na ⁺ , K ⁺ -АТФАЗЫ ЗАРОДЫШЕЙ ВЬЮНА Генега А.Б., Мандзинец С.М., Бура М.В., Новиков В.П., Маринцова Н.Г., Санагурский Д.И.	119
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЗАРЯЖЕННЫХ МИКРОКАПСУЛ С ФАГОЦИТАМИ Кочеткова О.Ю., Юринская М.М., Дубровский А.В., Шабарчина Л.И., Винокуров М.Г.	120
ВЛИЯНИЕ МАЛЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ТРИТЕРПЕНОВОГО ГЛИКОЗИДА КУКУМАРИОЗИДА A2-2 НА ИОННУЮ ПРОВОДИМОСТЬ МЕМБРАНЫ МАКРОФАГОВ Соколов Р.А., Асташев М. Е., Аминин Д.Л.	121
ВЛИЯНИЕ НЕОРГАНИЧЕСКОГО ПОЛИФОСФАТА НА Ca ²⁺ ГОМЕОСТАЗ В КЛЕТКАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА МЛЕКОПИТАЮЩИХ Баев А.Ю., Левицкая Ю.В., Абрамов А.Ю.	121
ЦИТОТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ИОНОВ УРАНИЛА Гармаш С.А., Гудков С.В.....	122
ВЛИЯНИЕ ЭМИ КВЧ НА СТРУКТУРУ ХРОМАТИНА ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ И ПЕРИТОНЕАЛЬНЫХ НЕЙТРОФИЛОВ МЫШИ ПРИ ВОСПАЛЕНИИ Романова Н.А., Гапеев А.Б.	122
УГНЕТАЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ ГИПОХЛОРИТА НАТРИЯ НА АКТИВНОСТЬ Na ⁺ , K ⁺ -АТФАЗЫ ЗАРОДЫШЕЙ <i>MISGURNUS FOSSILIS</i> L. Зынь А., Головчак Н., Мандзинец С., Бура М., Санагурский Д.	123
ВЗАИМОВЛИЯНИЕ БЛОКАТОРОВ NMDA РЕЦЕПТОРОВ С РАЗНЫМ МЕХАНИЗМОМ ДЕЙСТВИЯ Нагаева Э.И., Барыгин О.И., Тихонов Д.Б.	123
КСАНТОЗИН ПРОЯВЛЯЕТ РАДИОЗАЩИТНЫЕ СВОЙСТВА ПРИ ВВЕДЕНИИ ЕГО МЫШАМ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ Асадуллина Н.Р., Гудков С.В., Брусков В.И.....	124
РОЛЬ ДОЛГОЖИВУЩИХ РАДИКАЛОВ БЕЛКА В ПРОДЛЕНИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА IN VIVO ПРИ ДЕЙСТВИИ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ Карп О.Э., Гудков С.В., Брусков В.И.	124
ПЕРСПЕКТИВА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА РАДИОБИОЛОГИЧЕСКОГО ХРАНИЛИЩА ТКАНЕЙ Слукинова Ю.В., Ревина В.С.....	125
ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ АЦЕТАМИДА НА СТАТИСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭЭГ КРЫС ПРИ ГИПОТЕРМИИ Ибрагимова У.Н., Абдурахманов Р.Г., Пашаева З.Г., Мейланов И.С.....	125
АНАЛИЗ СПЕКТРАЛЬНОЙ ПЛОТНОСТИ ЭЭГ КРЫС ПРИ ГИПОТЕРМИИ Джамалудинова К.Д., Рабаданова З.Г., Абдурахманов Р.Г., Мейланов И.С.....	126
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ LA ³⁺ И ZN ²⁺ С ЭРИТРОЦИТАМИ ЧЕЛОВЕКА Поповичева А.Н., Левин Г.Я., Шереметьев Ю.А.	127
ИЗУЧЕНИЕ РЕЛАКСАНТНОГО ДЕЙСТВИЯ 1-О-БЕНЗОИЛНАПЕЛЛИНА НА СОКРАТИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК ТРАХЕИ КРЫС Бегдуллаева Г.С., Усманов П.Б., Султанходжаев М.Н.	127

ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕПЛОЙ ДЕНАТУРАЦИИ АЦЕТИХОЛИНЭСТЕРАЗЫ СИНАПТИЧЕСКИХ МЕМБРАН МОЗГА СУСЛИКОВ ПРИ ЗИМНЕЙ СПЯЧКЕ Джафарова А.М., Мейланов И.С., Кличханов Н.К., Тикра М.Х.	128
МЕХАНИЗМЫ САМОРАЗРУШЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ВИХРЕЙ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ С ПРЯМОЙ И L-ОБРАЗНОЙ НИТЯМИ В МИОКРДЕ Жалимов В.К., Темнов А.А., Кукушкин Н.И.	128
АКТИН-СВЯЗЫВАЮЩИЙ БЕЛОК КОРТАКТИН РЕГУЛИРУЕТ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫЕ НАТРИЕВЫЕ КАНАЛЫ ПРИ УЧАСТИИ КОМПЛЕКСА ARP2/3 Илатовская Д.В., Павлов Т.С., Левченко В.В., Негуляев Ю.А. и Старущенко А.В.	129
ДЕПОЛИМЕРИЗАТОР МИКРОТРУБОЧЕК НОКОДАЗОЛ МОДУЛИРУЕТ ЭФФЕКТ ГЛУТОКСИМА НА ТРАНСПОРТ Na ⁺ В КОЖЕ ЛЯГУШКИ Мельницкая А.В., Крутецкая З.И., Лебедев О.Е., Крутецкая Н.И., Бутов С.Н., Антонов В.Г.	130
ИССЛЕДОВАНИЕ СОКРАТИТЕЛЬНЫХ ОТВЕТОВ ГМК ПРЕПАРАТОВ АОРТЫ КРЫСЫ ПРИ НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ Насиров К.Э., Есимбетов А.Т., Маматова З.А., Усманов П.Б.	130
ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ ЛЕБЕТАЗЫ НА СОКРАТИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ГМК АОРТЫ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ Насиров К.Э., Есимбетов А.Т., Маматова З.А., Усманов П.Б.	131
ПРЕПАРАТ МОЛИКСАН ВЫЗЫВАЕТ РЕОРГАНИЗАЦИЮ АКТИНОВЫХ ФИЛАМЕНТОВ В МАКРОФАГАХ Курилова Л.С., Крутецкая З.И., Лебедев О.Е., Крутецкая Н.И., Войцехович К.О.	132
УЧАСТИЕ ТИРОЗИНКИНАЗ В ДЕЙСТВИИ ПРЕПАРАТА МОЛИКСАН НА ВНУТРИКЛЕТОЧНУЮ КОНЦЕНТРАЦИЮ Ca ²⁺ В МАКРОФАГАХ Курилова Л.С., Крутецкая З.И., Лебедев О.Е., Крутецкая Н.И., Наумова А.А.	132
ТЕРМОМЕТРИЯ ПОВЕРХНОСТИ ТЕЛА ЧЕЛОВЕКА Тарасова А.В.	133
ВЛИЯНИЕ ИМПУЛЬСНО-ПЕРИОДИЧЕСКИХ РЕНТГЕНОВСКОГО И МИКРОВОЛНОВОГО ИЗЛУЧЕНИЙ НА СОСТОЯНИЕ МИТОХОНДРИЙ Жаркова Л.П., Керя А.В.	133
ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО КАЛЬЦИЯ В ТРОМБОЦИТАХ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ Наджимова Х.К., Чернова Л.А., Насиров К.Э., Усманов П.Б.	134
ДЕЙСТВИЕ 1-О-БЕНЗОИЛНАПЕЛЛИНА НА ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО КАЛЬЦИЯ Чернова Л.А., Наджимова Х.К., Насиров К.Э., Усманов П.Б., Джахангиров Ф.Н., Султанходжаев Н.М.	135
КОЛЕБАНИЯ КАЛИЕВОГО ПОТОКА В МИТОХОНДРИЯХ, СВЯЗАННЫЕ С РАБОТОЙ АТФ- ЗАВИСИМОГО КАЛИЕВОГО КАНАЛА Горбачёва О.С., Венедиктова Н.И.	135
РОЛЬ АКТИНОВОГО ЦИТОСКЕЛЕТА И ЛИПИДНЫХ РАФТОВ В РЕГУЛЯЦИИ МЕХАНОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ ИОННЫХ КАНАЛОВ Чубинский-Надеждин В.И., Морачевская Е.А.	136
ЗАКОНОМЕРНОСТИ ГАММА-ОБЛУЧЕНИЯ ХЛОРЕЛЛЫ ПРИ РАЗНЫХ УСЛОВИЯХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ Ляпунова Е.Р., Комарова Л.Н.	136

ЛОКАЛИЗАЦИЯ МОЛЕКУЛ ФЛАВОНОИДОВ И ИХ МЕТАЛЛОКОМПЛЕКСОВ В ФОСФОЛИПИДНЫХ МЕМБРАНАХ Ягольник Е.А., Музафаров Е.Н., Нарманова Р.А., Тараховский Ю.С., Ким Ю.А.....	137
СРАВНЕНИЕ МЕТОДОВ РЕГИСТРАЦИИ ЭКЗОЦИТОЗА В КЛЕТКАХ АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА Сабырбек Ж.Б.	138
РЕКОМБИНАНТНЫЙ ЦИТОКИН LIF И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА ЛИПИДНЫЙ БИСЛОЙ Борисова М.П., Петрова Р.Р., Межевикина Л.М.	138
РАСПРЕДЕЛЕНИЕ Zn ²⁺ В ЭРИТРОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА IN VITRO ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ЦИНКОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ Гармаза Ю.М., Тамашевский А.В., Лукьяненко Л.М., Козлова Н.М.	139
ПРОИЗВОДНЫЕ КИНАЗОЛИНА – ИНГИБИТОРЫ АНОМАЛЬНОГО КАЛЬЦИЕВОГО ОТВЕТА ПРИ БОЛЕЗНИ ХАНТИНГТОНА Вигонт В.А., Зимина О.А., Глушанкова Л.Н., Казначеева Е.В.	139
ВЛИЯНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РАЗГРУЗКИ НА СОДЕРЖАНИЕ ДЕСМИНА И АЛЬФА- АКТИНИНА–2 В ВОЛОКНАХ КАМБАЛОВИДНОЙ МЫШЦЫ КРЫСЫ Мирзоев Т.М., Огнева И.В.....	140
СЕКЦИЯ «Физиология животных и биомедицина» GTP-СВЯЗЫВАЮЩИЕ БЕЛКИ И НУКЛЕОЗИДДИФОСФАТКИНАЗА. ВОЗМОЖНЫЙ МЕХАНИЗМ БЫСТРОЙ АКТИВАЦИИ G БЕЛКА ФОТОРЕЦЕПТОРОВ СЕТЧАТКИ ТРАНСДУЦИНА Орлов Д.Н., Бурштейн Э.А., Орлова Т.Г., Фрейдин А.А., Кимура Н., Орлов Н.Я.....	142
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КЛЕТОК НЕРВНОЙ И ИММУННОЙ СИСТЕМ В МОЗГЕ Годухин О.В.....	143
КОРРЕЛЯЦИЯ МЕЖДУ АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ <i>LACTOBACILLUS CASEI</i> IMB В- 7280 IN VITRO И IN VIVO Бабенко Л.П., Мокрозуб В.В., Лазаренко Л.Н., Шинкаренко Л.Н., Воронкова О.С., Науменко И.В., Спивак Н.Я.	143
ВЛИЯНИЕ <i>LACTOBACILLUS CASEI</i> IMB В-7280 НА ИММУННЫЙ ОТВЕТ ПРИ ИНТРАВАГИНАЛЬНОЙ СТАФИЛОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ У МЫШЕЙ Бабенко Л.П., Мокрозуб В.В., Лазаренко Л.Н., Шинкаренко Л.Н., Воронкова О.С., Науменко И.В., Спивак Н.Я.	144
ИНДУЦИРОВАННЫЕ ПЛЮРИПОТЕНТНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ ДЛЯ ТЕРАПИИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ Салафутдинов И.И., Масгутов Р.Ф., Масгутова Г.А., Федотова В.Ю., Ризванов А.А.....	145
ПРИМЕНЕНИЕ МОДЕЛИ EX VIVO ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕХАНИЗМОВ ДЕЙСТВИЯ ДВУХ ГЕРОПРОТЕКТОРОВ Аркадьева А.В., Михельсон В.М., Спивак И.М.....	145
ЗДОРОВЬЕ ШКОЛЬНИКОВ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ ОБРАЗОВАНИЯ Ширей В.О., Казакова Т.И., Лысенко Т.Г., Ковалёва О.А.....	146
ВЛИЯНИЕ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ НА НЕВРОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС ПОТОМСТВА КРЫС Аверина О.А.....	147
ДИФФЕРЕНЦИРОВКА ЭСК МЫШИ В УСЛОВИЯХ ПРОЛОНГИРОВАННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ С РЕКОМБИНАНТНЫМ БЕЛКОМ LIF Петрова Р.Р., Межевикина Л.М.....	147

ДИНАМИКА МЕТАБОЛИТОВ ОКСИДА АЗОТА В ОРГАНИЗМЕ ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЯ ПРИ РАЗВИТИИ АСЦИТНОЙ ГЕПАТОМЫ ЗАЙДЕЛЯ Наумов А.А. Хайретдинова М.М. Поцелуева М.М.....	148
МЕТОДИКА ВЫЯВЛЕНИЯ АНТАГОНИСТОВ КАИНАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ Баль Н.В., Кононов А.В., Зинченко В.П.....	149
ИССЛЕДОВАНИЕ РЕПАРАТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ПРИ СТАРЕНИИ Якупова Г.С., Захарчук А.Г., Спивак Д.Л., Спивак И.М.	149
ВЛИЯНИЕ КОМПОНЕНТОВ МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА НА КУЛЬТУРУ КЛЕТОК ДЕРМАЛЬНОЙ ПАПИЛЛЫ Мягкова Е.П.	150
МИТОХОНДРИАЛЬНО-АДРЕСОВАННЫЕ АНТИОКСИДАНТЫ ПРЕДОТВРАЩАЮТ РАЗВИТИЕ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ПРИ ИШЕМИИ/РЕПЕРФУЗИИ Янкаускас С.С., Плотников Е.Ю., Певзнер И.Б., Зоров Д.Б.	151
КОМПЛЕКСНОЕ ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ СОДЕРЖИМОГО ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА У ЖИВОТНЫХ Ксенофонтов Д.А.....	151
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖЕЛЕЗОСВЯЗЫВАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЯ Хайретдинова М.М., Наумов А.А., Сухомлин Т.К., Поцелуева М.М.	152
ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙРОН-ГЛИАЛЬНЫХ СЕТЕЙ IN VITRO В УСЛОВИЯХ ГЛЮКОЗНОЙ ДЕПРИВАЦИИ Балашова А.Н., Ведунова М.В., Мухина И.В.	153
ВЛИЯНИЕ ВАЗОПРЕССИНА АВП(6-9) НА ПОВЕДЕНИЕ БЕЛЫХ КРЫС Угрина А.П.....	153
ЭФФЕКТ ХОЛЕСТЕРОЛ ОКСИДАЗЫ НА СЕКРЕЦИЮ МЕДИАТОРА ИЗ ДВИГАТЕЛЬНЫХ НЕРВНЫХ ОКОНЧАНИЙ ЛЯГУШКИ И МЫШИ Тараканова О.И., Зефиоров А.Л.	154
УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ДОФАМИНА НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ Парнышкова Е.Ю.	154
ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ АМРА-РЕЦЕПТОРОВ В ГИППОКАМПЕ КРЫС С НАСЛЕДСТВЕННОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬЮ К СУДОРОГАМ Савина Т.А., Щипакина Т.Г.....	155
СПОСОБЫ ИНДУКЦИИ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ НЕЙРОНОВ К β -АМИЛОИДУ Коканова Н.А.	156
ИНДУКЦИЯ ГИБЕЛИ РАКОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА СИСТЕМОЙ CD/UPRT/5-FC ПОД КОНТРОЛЕМ РАЗЛИЧНЫХ ПРОМОТОРОВ Кузьмин Д.В., Кузьмич А.И., Виноградова Т.В., Копанцев Е.П., Свердлов Е.Д.....	156
ПРОЯВЛЕНИЕ ПЛАСТИЧНОСТИ НЕЙРОНОВ ПРИ ИХ ЧАСТИЧНОЙ ДЕАФФЕРЕНТАЦИИ И ДОПОЛНИТЕЛЬНЫХ СЕНСОРНЫХ НАГРУЗКАХ Григорьева Е.Е.....	157

МЕЖСТРУКТУРНЫЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ В ОТДЕЛАХ ЛИМБИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ И ЧАСТОТНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИХ ПОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ Асташева Е.В.	158
ЭФФЕКТЫ СЕРОВОДОРОДА НА СЕКРЕЦИЮ МЕДИАТОРА В УСЛОВИЯХ ИЗМЕНЕНИЯ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО Ca^{2+} КОФЕИНОМ И РИАНОДИНОМ Герасимова Е.В., Хаертдинов Н.Н., Яковлева О.В., Валиуллина Ф.Ф., Имукова А.А.	158
СЕРОТОНИН И FMRFAMIDE В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ ЦЕРКАРИИ <i>TRICHOILHARZIA SZIDATI</i> NEUHAUS, 1951 (<i>TREMATODA</i>) Рудакова Е.А., Толстенков О.О., Осипова О.С., Теренина Н.Б.	159
ВЛИЯНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА ТЕЧЕНИЕ ПИЕЛОНЕФРИТА У КРЫС Рогачева Н.В., Певзнер И.Б., Сухих Г.Т., Зоров Д.Б., Плотников Е.Ю.	160
СЕРОТОНИНЕРГИЧЕСКИЕ КОМПОНЕНТЫ В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ МЕТАЦЕРКАРИИ <i>MICROPHALLUS PIRIFORMIS</i> ODHNER, 1905 (<i>TREMATODA</i>) Рудакова Е.А., Осипова О.С., Толстенков О.О., Теренина Н.Б.	160
НАРУШЕНИЯ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ПАМЯТИ КРЫС, ВЫЗВАННЫЕ ВВЕДЕНИЯМИ ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 β В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ Трофимов А.Н.	161
РАЗРАБОТКА И ИССЛЕДОВАНИЕ НОВОГО КЛАССА АНТИОКСИДАНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ НАНОКРИСТАЛЛИЧЕСКОГО ДИОКСИДА ЦЕРИЯ Попов А.Л.	161
«ОТСТАВЛЕННАЯ» ПОЛОЖИТЕЛЬНАЯ ИНОТРОПНАЯ РЕАКЦИЯ ПРИ АКТИВАЦИИ β_2 -АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ ИЗОЛИРОВАННЫХ ПРЕДСЕРДИЙ МЫШИ Одношвикина Ю.Г., Петров А.М.	162
ВЛИЯНИЕ ШТАММОВ ЛАКТО- И БИФИДОБАКТЕРИЙ НА ПРОДУКЦИЮ ОКСИДА АЗОТА МАКРОФАГАМИ ПЕРИТОНЕАЛЬНОГО ЭКСУДАТА <i>IN VITRO</i> Мокрозуб В.В., Бабенко Л.П., Лазаренко Л.М., Воронкова О.С., Шинкаренко Л.Н., Спивак Н.Я.	163
ВЛИЯНИЕ НАБЛЮДЕНИЯ ЗА СОВЕРШЕНИЕМ ФИЗИЧЕСКОЙ РАБОТЫ НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ ПОСЛЕ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ Дейнекина Т.С., Князева В.М.	163
НАРУШЕНИЕ БЕТА-АДРЕНЕРГИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ МИОКАРДА В ГЕНЕТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА Леушина А.В., Мухамедьяров М.А.	164
ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ГИРУДОТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ КЛИМАКТЕРИЧЕСКОГО СИНДРОМА Васильева Е.А.	165
ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ИНФРАКРАСНОГО СВЕТА, МОДУЛИРОВАННОГО ЧАСТОТОЙ 101 ГЦ, НА МЫШАХ И ИХ ПОТОМКАХ Дюкина А.Р.	165
ВНЕЛЕГОЧНЫЕ ЭФФЕКТЫ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНГАЛЯЦИИ МАЛЫХ ДОЗ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЛИПОПОЛИСАХАРИДА Фролов Д.М.	166
ИССЛЕДОВАНИЕ СВЯЗИ ПРОЦЕССА ЦЕНТРАЛЬНОГО УТОМЛЕНИЯ И ПРОЦЕССОВ НЕПРОИЗВОЛЬНОГО ВНИМАНИЯ Князева В.М., Дейнекина Т.С.	166
ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ СЕТЕЙ КУЛЬТУРЫ НЕЙРОНОВ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ	

Корягина Е.А., Пимашкин А.С., Казанцев В.Б., Мухина И.В.	167
ВОЗМОЖНОСТИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ НАПРАВЛЕННОСТИ НА МОДЕЛЯХ IN VITRO Ковалёв Р.А.	168
ВЛИЯНИЕ 7-ми СУТОЧНОГО АНТИОРТОСТАТИЧЕСКОГО ВЫВЕШИВАНИЯ НА СОСТОЯНИЕ ПЕРЕДАЧИ ВОЗБУЖДЕНИЯ С НЕРВА НА СКЕЛЕТНЫЕ МЫШЦЫ Тяпкина О.В.	168
СВЯЗЬ ИЗМЕНЕНИЯ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ПРОВОДЯЩЕЙ СИСТЕМЫ СЕРДЦА С РАЗВИТИЕМ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ Мазитов Т.М., Нигматуллина Р.Р., Исламов Р.Р.	169
ВЛИЯНИЕ ВЫСОКОГО УРОВНЯ АНТИТЕЛ К ФАКТОРУ РОСТА НЕРВОВ У САМОК МЫШЕЙ НА РАЗВИТИЕ ИХ ПОТОМСТВА В ПОСТНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД Родионов А.Н., Лобанов А.В., Мурашев А.Н.	169
ПОКАЗАТЕЛИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ЭКЗАМЕНАЦИОННОМ СТРЕССЕ И ИХ КОРРЕКЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫМИ ТРАВАМИ Геворкян Э.С., Минасян С.М., Адамян Ц.И., Абрамян Э.Т.	170
ВЛИЯНИЕ Ас-D-SPRG НА ВЫРАБОТКУ УСЛОВНОГО РЕФЛЕКСА АКТИВНОГО ИЗБЕГАНИЯ БОЛЕВОГО РАЗДРАЖИТЕЛЯ Белякова А.С., Воскресенская О.Г., Каменский А.А.	171
МУТАЦИИ В ГЕНЕ БЕЛКА ПРЕСЕНИЛИН-1 И НАРУШЕНИЕ ДЕПО-УПРАВЛЯЕМОГО КАЛЬЦИЕВОГО ВХОДА Рязанцева М.А., Поздняков И.А., Глушанкова Л.Н., Казначеева Е.В.	171
ОЦЕНКА ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ МЕТОДОМ ПРОСВЕТНОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ИМИДЖИНГА НА ПРИМЕРЕ ПОРФИРАЗИНОВОГО КОМПЛЕКСА ИТТЕРБИЯ Леканова Н.Ю., Балалаева И.В., Клапшина Л.Г., Лермонтова С.А., Ширманова М.В., Загайнова Е.В.	172
АНАЛИЗ ПРЕДСТАВИТЕЛЬСТВА ПОТЕНЦИАЛ-ЗАВИСИМЫХ Ca ²⁺ -КАНАЛОВ В НЕРВНО-МЫШЕЧНОМ КОНТАКТЕ ХОЛОДНОКРОВНЫХ Нуруллин Л.Ф.	173
СПОСОБНОСТЬ ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА МОДУЛИРОВАТЬ ЭФФЕКТЫ РАДИАЦИИ IN VIVO Гудков С.В., Карп О.Э., Брусков В.И.	173
ВЛИЯНИЕ L-ФЕЛИНИНА НА РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ МЫШЕЙ И КРЫС Маланьина Т.В., Клинов А.Б.	174
О РОЛИ СТЕРОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ, ЭКСПРЕССИРОВАННЫХ В ВЫСТИЛКЕ ВОМЕРОНАЗАЛЬНОГО ОРГАНА ДОМОВОЙ МЫШИ Вознесенская А.Е., Кваша И.Г.	174
ВИЗУАЛИЗАЦИЯ БИОФИЗИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ СОСТОЯНИЯ СЫВОРОТКИ КРОВИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ Шафорост А.С.	175
РЕСПИРАТОРНЫЕ ЭФФЕКТЫ МИКРОИНЪЕКЦИЙ GRP НА УРОВНЕ ЯДРА СОЛИТАРНОГО ТРАКТА Алиев А.А.	175
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВЕКТОРОВ НА ОСНОВЕ ЛЕНТИВИРУСОВ В ГЕННО-КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА Мухаметова Л., Черенкова Е.	176
ИНСУЛИН - РЕГУЛЯТОР ЦИРКАДИАННОГО РИТМА ЛОКОМОТОРНОЙ АКТИВНОСТИ У КРЫС	

Мистрюгов К.А.....	177
ЛОКАЛИЗАЦИЯ МУСКАРИНОВЫХ ХОЛИНОРЕЦЕПТОРОВ М1-ПОДТИПА В НЕРВНО-МЫШЕЧНОМ СИНАПСЕ КРЫСЫ	
Маломуж А.И., Архипова С.С., Никольский Е.Е.	177
РЕСПИРАТОРНЫЕ РЕАКЦИИ НА МИКРОИНЪЕКЦИИ СОМАТОСТАТИНА В ЯДРО СОЛИТАРНОГО ТРАКТА	
Петряшин И.О.....	178
ХРОНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЦИРКАДИАННОГО РИТМА У ПОДРОСТКОВ	
Алексейчук И.В.	178
ИНГИБИРОВАНИЕ ЭКСПРЕССИИ ПРИОНА IN VIVO С ПОМОЩЬЮ АНТИСЕНС-ОЛИГОДЕЗОКСИНУКЛЕОТИДОВ	
Иваницкая Л.А., Козак М.Р., Кушкевич М.В., Олийнык А.В., Заиченко О.С., Влизло В.В.....	179
БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРИРОДНЫХ ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ	
Готовцева В.Ю., Борисова Н.А., Бибикина М.В.	179
ВЛИЯНИЕ СИСТЕМНОГО ВВЕДЕНИЯ ЭНДОМОРФИНА-2 НА СПОНТАННОЕ ПОВЕДЕНИЕ САМЦОВ И САМОК БЕЛЫХ КРЫС	
Иванова Е.А., Мальшев А.В., Сарычева Н.Ю., Дубынин А.В.....	180
ИЗУЧЕНИЕ СТРЕСС-ПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ АКТГ-ПОДОБНЫХ ПЕПТИДОВ	
Ковалицкая Ю.А., Садовников В.Б., Наволоцкая Е.В.	181
ВЛИЯНИЕ АЦЕТАТА СВИНЦА НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНУЮ СТРУКТУРУ ГЕПАТОЦИТОВ ПРИ СВИНЦОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ	
Шиндёнкова С.И., Овечкина А.П., Кузьмичева Л.В.	181
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВЕКТОРОВ НА ОСНОВЕ АДЕНОАССОЦИИРОВАННЫХ ВИРУСОВ В ГЕННОЙ ТЕРАПИИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ	
Усманов Р.Х., Патрушев Ю.В., Черенкова Е.Е.....	182
ПОВЫШЕНИЕ ДОЛИ МУТАНТНОЙ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК У ПАЦИЕНТОВ С РАКОМ ЛЕГКИХ	
Стрелкова И.Ю., Безлепкин В.Г.....	182
КОНСТРУИРОВАНИЕ МУЛЬТИЦИСТРОННЫХ ВЕКТОРОВ ДЛЯ ГЕННО-КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА	
Черенкова Е.Е., Ризванов А.А.	183
РАДИОЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ БИОПОЛИМЕРА ХИТОЗАНА ПРИ ПРОФИЛАКТИКЕ ЛУЧЕВОЙ БОЛЕЗНИ	
Ешкова О.Ю., Таламанова М.Н., Корягин А.С.....	184
ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА MTHFR НА РАЗВИТИЕ И ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ МИГРЕНИ С АУРОЙ	
Коробейникова Л.А., Азимова Ю.Э., Сергеев А.В., Климов Е.А., Табеева Г.Р.....	184
НОВЫЙ МЕТОД КУЛЬТИВИРОВАНИЯ IN VITRO ТКАНЕЙ ГЛАЗА КРЫСЫ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ СОСТОЯНИЯ ТКАНЕЙ ПРИ ПАТОЛОГИЯХ IN VIVO	
Новикова Ю.П.	185
СУБМИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОЧКИ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ЭНДОТОКСИКОЗЕ	
Сорока Ю.В., Лисничук Н.Е., Демкив И.Я., Кулицкая М.И.....	185
ВЛИЯНИЕ ПАРАФАРМАЦЕВТИКА «ЛОНГОЛАЙФ-ИВМЕД» НА ПРОЦЕССЫ ОБУЧЕНИЯ И ПАМЯТИ У КРЫС	
Масловская Е.В., Кадималиев Д.А., Коваленко А.П.....	186

ВЛИЯНИЕ ЭМОЦИОНАЛЬНО-БОЛЕВОГО СТРЕССИРОВАНИЯ НА МОРФОЛОГИЮ ПИРАМИДНЫХ НЕЙРОНОВ ГИППОКАМПА КРЫС ДВУХ ЛИНИЙ Левина А.С.	187
ИССЛЕДОВАНИЕ ТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК Полякова И.А., Гусев А.А., Емельянов А.В., Ткачев А.Г.	187
ФЕРМЕНТЫ ОБМЕНА АММИАКА В ПЕЧЕНИ И ОТДЕЛАХ МОЗГА ПРИ ОСТРОМ ОТРАВЛЕНИИ АММИАКОМ Белоушко Е.Е., Тихонова Л.А., Косенко Е.А., Каминский Ю.Г.	188
ВЛИЯНИЕ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ-ГИПЕРКАПНИИ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЭРИТРОЦИТОВ Сладкова Е.А., Забиняков Н.А.	188
ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ЮНОШЕЙ И ДЕВУШЕК ГОРОДА СТЕПАНАКЕРТА Галстян А.Г.	189
МЕХАНИЗМЫ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ БЕТА-АМИЛОИДНЫХ ПЕПТИДОВ Соломадин И.Н., Тихонова Л.А., Косенко Е.А.	190
АПОПТОЗ-ИНДУЦИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ КОМБИНАЦИЙ СИСТЕМНЫХ КОРТИКОСТЕРОИДОВ С ЦИТОЗИНАРАБИНОЗИДОМ НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ Багина У.С., Курмышкина О.В.	190
ПЛОТНОСТЬ КАПИЛЛЯРНОЙ СЕТИ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ В НОРМЕ И У ПАЦИЕНТА С ХАН ПОСЛЕ ПОВТОРНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК Мавликеев М.О., Табанакова А.В., Трондин А.А., Певнев Г.О., Плотников М.В., Максимов А.В., Калигин М.С., Ёылмаз Т.С., Газизов И.М., Гумерова А.А., Киясов А.П.	191
ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПРОТИВОРАКОВОГО ЦИТОКИНА TRAIL И ЕГО МОДИФИЦИРОВАННОЙ ФОРМЫ IN VITRO Долгих Н.В., Фадеев Р.С., Чеканов А.В., Акатов В.С.	191
ЭКСПРЕССИЯ БЕЛКОВ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА И CDK5 В ОТДЕЛАХ МОЗГА ЯКУТСКИХ СУСЛИКОВ НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ГОДОВОГО ЦИКЛА Волкова Е.П., Сергунькина М.А., Яковлев А.А., Онуфриев М.В., Семенова Т.П.	192
ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА МОДЕЛИ ФЛУОРЕСЦИРУЮЩЕЙ ОПУХОЛИ Малеханова Е.А., Леканова Н.Ю., Крутова И.В., Балалаева И.В., Деев С.М.	193
АНТИСИНЕГНОЙНАЯ АКТИВНОСТЬ БАКТЕРИОЦИНОПОДОБНЫХ ВЕЩЕСТВ БАКТЕРИЙ РОДА <i>PSEUDOMONAS</i> Балко А.Б., Авдеева Л.В.	193
ВЛИЯНИЕ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ Михеева Э.Р., Плескова С.Н., Горшкова Е.Н., Пудовкина Е.Е.	194
ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ ЛЕБЕТАЗЫ НА АГРЕГАЦИЮ ТРОМБОЦИТОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА Алланазарова И.А., Чернова Л.А., Насиров К.Э. Усманов П.Б.	195
АМИЛОИДНЫЕ СВОЙСТВА ГЛАДКОМЫШЕЧНОГО БЕЛКА СМИТИНА Окунева А.Д., Бобылёва Л.Г., Бобылёв А.Г., Шпагина М.Д., Вихлянцев И.М., Фрейдина Н.А., Подлубная З.А.	195
СОСТОЯНИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ЭНДОТОКСИКОЗЕ Лисничук Н.Е., Демкив И.Я., Кулицкая М.И.	196

ГЕМОКОАГУЛЯЦИОННЫЕ ЭФФЕКТЫ НЕКОТОРЫХ НПВС С ЛЕБЕТОКСОВЫМ ТЕСТОМ ПРИ ЭВМК Аллоназарова И., Наджимова Х.К., Насиров К.Э., Усманов П.Б.....	196
ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ СИНТЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ТРИТЕРПЕНОИДОВ НА КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК SREV Шевченко И.К., Аникина Л.В., Вихарев Ю.Б.	197
ТИРЕОИДНЫЕ ГОРМОНЫ И АДАПТАЦИОННЫЕ СПОСОБНОСТИ КРЫС ПРИ ХОЛОДОВОЙ АККЛИМАЦИИ Венцковская Е.А., Шило А.В., Бабийчук Г.А.	198
ИЗУЧЕНИЕ ЗАЩИТНЫХ СВОЙСТВ RHNSP70 ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНОМ СЕПСИСЕ У КРЫС Сапронова А.А. Остров В.Ф.	198
ВОЗДЕЙСТВИЕ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА РАКОВЫЕ КЛЕТКИ В ПРИСУТСТВИИ ЗОЛОТЫХ НАНОЧАСТИЦ Елагин В.В., Брилкина А.А., Сергеева Е.А., Южакова Д.В., Надточенко В.А., Загайнова Е.В.	199
ИДЕНТИФИКАЦИЯ БИОМИШЕНЕЙ «НООПЕПТА» КАК ОСНОВА ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В КАЧЕСТВЕ МУЛЬТИЦЕЛЕВОГО АНТИДЕМЕНТНОГО ПРЕПАРАТА Фаткуллина У.Ш., Салимгареева М.Х., Вахитова Ю.В., Островская Р.У.	200
ПОЯВЛЕНИЕ FMRF-ЕРГИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ В ЦЕРЕБРАЛЬНОМ ГАНГЛИИ РЕГЕНЕРИРУЮЩИХ ХВОСТОВЫХ ФРАГМЕНТОВ <i>GIRARDIA TIGRINA</i> Толстенков О.О., Крещенко Н.Д.	200
РЕАКЦИЯ ТКАНЕЙ МОЛЛЮСКОВ <i>LYMNAEA AURICULARIA</i> НА РАЗВИВАЮЩИХСЯ ЛИЧИНОК <i>ORIENTOBILHARZIA TURKESTANICA</i> (SKRJABIN, 1913) Шакарбаев У.А., Акрамова Ф.Д., Хакбердиева Д.М.	201
РОЛЬ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ПАЛЬМИТАТ/Са ²⁺ -ИНДУЦИРОВАННОЙ ПОРЫ В МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ГЛУТАМАТОМ Трудовишников А.С., Белослудцев К.Н., Белослудцева Н.В.	202
НАБЛЮДЕНИЕ ПРОЦЕССОВ РЕГЕНЕРАЦИИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА ПОСЛЕ ЛАЗЕРНОЙ ФРАКЦИОННОЙ ОБРАБОТКИ МЕТОДОМ КП ОКТ Карабут М.М., Киселева Е.Б., Гладкова Н.Д., Фомина Ю.В., Евдокимова О.С., Снопина Л.Б., Фельдштейн Ф.И.	202
ВЕЩЕСТВА, СПЕЦИФИЧЕСКИ СВЯЗЫВАЮЩИЕ БЕЛОК GARDH, СНИЖАЮТ УРОВЕНЬ АГРЕГАЦИИ ХАНТИНГТИНА В МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ ХАНТИНГТОНА Василенко Ю.А., Лазарев В.Ф., Казначеева А.В., Ипполитова М.В., Гужова И.В., Маргулис Б.А.	203
РАСПРОСТРАНЕНИЕ ФИЛЯРИАТ МЛЕКОПИТАЮЩИХ И ИХ ПРОМЕЖУТОЧНЫХ ХОЗЯЕВ В УЗБЕКИСТАНЕ Дадаев С.Д., Сапаров К.А., Бобокулов А.Д.	204
ПОИСК НОВЫХ АЛЬГЕТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ПОЛИПЕПТИДНЫХ МОДУЛЯТОРОВ TRPV1 РЕЦЕПТОРА ИЗ МОРСКОЙ АНЕМОНЫ НЕТЕРАСТ Дьяченко И.А.	204
ИССЛЕДОВАНИЕ ДОРМАНТНЫХ ФОРМ <i>Mycobacterium tuberculosis</i> НА НОВОЙ МОДЕЛИ ЛАТЕНТНОГО ТУБЕРКУЛЕЗНОГО ПРОЦЕССА У МЫШЕЙ Шрамко П.А., Потапов В.Д., Грищенко Н.С., Рудницкая Т.И.	205
СТРУКТУРНЫЕ СВОЙСТВА И БИОМЕДИЦИНСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ЦЕРИЯ Гребенюк А.А., Антонюк М.Н., Маринин А.И., Олишевский В.В.	205

СООТНОШЕНИЕ ФАЗ МИТОЗА В ТРЕХ ОБЛАСТЯХ ТЕЛА У ИНТАКТНЫХ, НЕ РЕГЕНЕРИРУЮЩИХ ПЛАНАРИЙ Крещенко Н.Д., Толстенков О.О.....	206
ИЗУЧЕНИЕ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК К ДЕЙСТВИЮ ЦИТОКИНА TRAIL Фадеев Р.С., Чеканов А.В., Акатов В.С.....	207
ГИДРОЛИЗАТЫ ЯИЧНОГО СЫРЬЯ СТИМУЛИРУЮТ ЗАЖИВЛЕНИЕ МЕХАНИЧЕСКИХ ТРАВМ У ЖИВОТНЫХ Шулюпин М.О., Шулюпин О.К.	207
ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ БЕЛКОВОГО КОМПЛЕКСА SP-2 НА ШТАММЕ МЕЛАНОМА В16 Береснева Ю.В., Ибрагимов Ф.А., Киреев Г.В., Юсупова А.А.	208
СПЕКТРАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭЭГ КРЫС ПРИ ГИПОТЕРМИИ Рабаданова З.Г., Джамалудинова К.Д., Абдурахманов Р.Г., Мейланов И.С.....	208
ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ И ФЕНОТИП ГРАНУЛОЦИТОВ У БЕРЕМЕННЫХ С ИНФЕКЦИОННЫМ РИСКОМ И ИХ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ Ломова Н.А., Беляева А.С.....	209
СЕКЦИЯ «Математические проблемы биологии» МНОГОУРОВНЕВЫЙ ПАРАЛЛЕЛИЗМ ВЫЧИСЛЕНИЙ В ЗАДАЧАХ МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ МЕТОДОМ МОНТЕ-КАРЛО Теплухин А.В.....	210
МОДЕЛИРОВАНИЕ КАЛЬЦИЕВЫХ «ЧАСОВ» В КЛЕТКАХ ВОДИТЕЛЕЙ СЕРДЕЧНОГО РИТМА Рывкин А.М., Москвин А.С.....	210
МОДЕЛИРОВАНИЕ ИММУННОГО ОТВЕТА В ЦЕЛИАКИИ И ДЕЙСТВИЯ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ Демин О.О., Соколов В.В., Смирнов С.В., Кукурулл-Санчес Л., Пикардо-Альмарза Ц., Флорес В., Бенсон Н., Демин О.В.	211
ПРИМЕНЕНИЕ МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ДЕЙСТВИЯ ПРОТИВОАСТМАТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ZILEUTON Карелина Т.А., Демин О.В., Жуденков К.В., Светличный Д.В., Демин О.О., Фэйрмэн Д., Агорам Б.....	211
ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ РАКОМ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ТЕХНОГЕННОМ ОБЛУЧЕНИИ В ДЕТСКОМ ВОЗРАСТЕ Мартиненко И.А.	212
МОДЕЛИРОВАНИЕ И АНАЛИЗ МАГНИТОЭНЦЕФАЛОГРАММ Рыкунов С.Д., Сычев В.В., Устинин М.Н.	213
ИЗМЕНЕНИЯ ЧАСТОТЫ STR-ЛОКУСОВ АЛЛЕЛЕЙ В ГЕНОФОНДЕ КОРЕННОГО НАСЕЛЕНИЯ УЗБЕКИСТАНА Курганов С.К.....	213
ИССЛЕДОВАНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ КОМПЛЕКСОВ ПЕПТИДОВ (RADA)4 МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ Соболев Е.В., Данилкович А.В., Тихонов Д.А., Шадрина Т.Е., Удовиченко И.П.	214
РАСЧЕТ И АНАЛИЗ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ ДНК-СВЯЗЫВАЮЩИХ БЕЛКОВ ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ ДАННЫХ НЕЙТРОННОГО РАССЕЯНИЯ Швецов А.В., Гармай Ю.П., Лебедев Д.В., Петухов М.Г., Исаев-Иванов В.В.	214
ИЗУЧЕНИЕ ДИМЕРОВ ИОННЫХ ПЕПТИДОВ (RADA)4 МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ Шадрина Т.Е., Данилкович А.В., Тихонов Д.А., Соболев Е.В., Удовиченко И.П.	215

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ СОПРОЦЕССОРОВ ДЛЯ УСКОРЕНИЯ ВЫЧИСЛЕНИЯ ДИНАМИЧЕСКИХ КОНТАКТНЫХ КАРТ Лихачев И.В., Балабаев Н.К.	215
ГИДРОДИНАМИЧЕСКАЯ АКТИВАЦИЯ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ В СТЕНОЗИРОВАННЫХ СОСУДАХ. ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ Рухленко А.С., Дудченко О.А., Гурия Г.Т.	216
РАСЧЕТНЫЕ МЕТОДИКИ И ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТИ МАЛЫХ БЕЛКОВ Кондратьев М.С., Кабанов А.В., Самченко А.А., Комаров В.М., Хечинашвили Н.Н.	217
АНАЛИЗ ПОДВИЖНОСТИ АТОМОВ В ПРОЦЕССЕ СВОБОДНОГО КРИСТАЛЛОГРАФИЧЕСКОГО УТОЧНЕНИЯ СТРУКТУРЫ МАКРОМОЛЕКУЛ Соболев О.В.	218
ПРИМЕНЕНИЕ КОМПЬЮТЕРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МИОКАРДА Рахматов Ф.А., Холмуродов М.Х. Хушматов Ш.С. Усманов П.Б.	218
СЕКЦИЯ «Теоретическая и прикладная экология» БИОЛОГИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И ЕГО ДИНАМИКА: СПОСОБЫ И МЕТОДЫ ОЦЕНКИ Ханина Л.Г.	220
СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ОСЕТРОВОДСТВА И ПУТИ СОХРАНЕНИЯ БИОРАЗНООБРАЗИЯ ОСЕТРОВЫХ РЫБ В КРАСНОДАРСКОМ КРАЕ Кулаева Е.Н., Мазурова С.С.	223
ВЫБОР ИНФОРМАТИВНЫХ КРИТЕРИЕВ ПРИ ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО РАДИАЦИОННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ Союзова Е.Ю., Новикова Д. А.	223
СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПУТИ СОХРАНЕНИЯ БИОРАЗНООБРАЗИЯ ОСЕТРОВЫХ РЫБ В ВОДОЕМАХ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ Мазурова С.С., Кулаева Е.Н.	224
ВЛИЯНИЕ КЛИМАТИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ НА ОБЛИК <i>GALIUM GLAUCUM</i> L. СЕЙЧАС И В НЕДАВНЕМ ПРОШЛОМ Борисюк А.А.	225
ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ВОДНЫХ МАКРОФИТОВ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО РАДИАЦИОННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ Сотникова Н.А., Назарова Е.С., Рассказова М.М.	226
УМЕНЬШЕНИЕ ПОДВИЖНОСТИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ИЗБЫТОЧНОМ АКТИВНОМ ИЛЕ Нечаев А.И., Вольхин В.В.	226
ХАРАКТЕРИСТИКИ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЫ РАСТИТЕЛЬНОГО ПОКРОВА НА МЕСТЕ МАССОВЫХ ВЕТРОВАЛОВ КОСТРОМСКОЙ ОБЛАСТИ Петухов И.Н.	227
КОМПЛЕКСНОЕ БИОТЕСТИРОВАНИЕ ПОЧВ ГОРОДА САРАТОВА Трояновская Е.С., Юдина Ю.В., Абросимова О.В.	228
К ХАРАКТЕРИСТИКЕ НОВОГО ВИДА ДРОКА С КАМЕНИСТЫХ ОБНАЖЕНИЙ СРЕДНЕГО ДОНА В ВОЛГОГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ Бурим О.О.	228
НОВЫЕ, НЕДАВНО ОПИСАННЫЕ ВИДЫ РАСТЕНИЙ ИЗ БУКАНТАУ (КЫЗЫЛКУМ) Серекеева Г.А.	229

<i>FERULA SYREITSCHIKOWII</i> KOSO-POL. НА ГИПСОВОЙ ПУСТЫНЕ КАРАКАЛПАКСКОЙ ЧАСТИ УСТЮРТА Тажетдинова Д.М.	229
СВЯЗЬ ВЫСОТЫ РАСТЕНИЙ С ЭКОЛОГО-МОРФОЛОГИЧЕСКИМИ ПАРАМЕТРАМИ ИХ ЛИСТЬЕВ В ТИПИЧНЫХ СООБЩЕСТВАХ АЛЬПИЙСКИХ ЛУГОВ Богатырев В.А.	230
РЕДКИЕ ВИДЫ ОДНОДОЛЬНЫХ ГЕОФИТОВ ФЕРГАНСКОЙ ДОЛИНЫ Каримов Ф.И.	230
ВЛИЯНИЕ ЭКОТОКСИКАНТОВ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ ТЕСТ-ОБЪЕКТЫ Забродина З.А., Чемаркин Д.А.	231
ПАСПОРТИЗАЦИЯ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ПЧЕЛ ПРИ ПОМОЩИ АНАЛИЗА МИКРОСАТЕЛИТНЫХ ЛОКУСОВ (STR) Калашников А.Е., Бородачев А.В., Кривцов Н.И., Удина И.Г.	231
РЕАКЦИИ ВИДОВ ТРАВЯНО-КУСТАРНИЧКОВОГО ЯРУСА НА ФИТОГЕННОЕ ПОЛЕ ЕЛИ В СОСНЯКАХ-ЗЕЛЕНОМОШНИКАХ Киричок Е.И., Терешина Т.С.	232
СРАВНЕНИЕ НУКЛЕОТИДНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ГЕНА COI МТДНК РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ ЖЕМЧУЖНИЦ РОДА <i>MARGARITIFERA</i> Буханова А.Л., Артамонова В.С., Махров А.А.	233
НАСЛЕДУЕМОЕ СНИЖЕНИЕ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ <i>SPIROSTOMUM AMBIGUUM</i> ПОСЛЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО РАДИОЧАСТОТНОГО ВОЗДЕЙСТВИИ Иголкина Ю.В.	233
К КОНСОРТИВНЫМ СВЯЗЯМ ВОДЯНОГО ОРЕХА (<i>TRAPA NATANS</i>) НА ТЕРРИТОРИИ ВОЛГОГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ Жигачёва О.И., Сагалаев В.А.	234
ДИНАМИКА ДРЕВЕСНОЙ РАСТИТЕЛЬНОСТИ ПОСЛЕ МАССОВОГО ВЕТРОВАЛА НА ТЕРРИТОРИИ ЗАПОВЕДНИКА «КАЛУЖСКИЕ ЗАСЕКИ» Стаменов М.Н., Бобровский М.В.	234
ПРИМЕНЕНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ РЕЗУЛЬТАТОВ T-RFLP-АНАЛИЗА МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ КИШЕЧНИКА БРОЙЛЕРОВ Никонов И.Н., Лаптев Г.Ю.	235
ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ ПЕСТИЦИДОВ НА ТРОФИЧЕСКИЕ ГРУППЫ ПОЧВЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ Копча Н.Н.	236
ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ РЕЧНОГО БОБРА НА СООБЩЕСТВА РАИФСКОГО УЧАСТКА ВКГПБЗ МЕТОДОМ ФИТОИНДИКАЦИИ Назаров Н.Г.	236
АНАЛИЗ ОСОБЕННОСТЕЙ ЗАРАСТАНИЯ БРОШЕННЫХ ЛУГОВ И ПАШЕН НА ТЕРРИТОРИИ ЗАПОВЕДНИКА «КАЛУЖСКИЕ ЗАСЕКИ» Москаленко С.В.	237
СОДЕРЖАНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ТКАНЯХ РЫБ, ВЫЛОВЛЕННЫХ В РАЗЛИЧНЫХ ВОДОЕМАХ ДАГЕСТАНА Абдуллаева Н.М., Абдуллев В.Р.	238
ВИДОВАЯ СПЕЦИФИКА АККУМУЛЯЦИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ ЛИСТЬЯМИ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ РОДА <i>POPULUS</i> ГОРОДА ПАВЛОДАР Есенжолова А.Ж.	238

БИОИНДИКАЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ ЛИСТЬЕВ <i>SALIX ALBA</i> L. ГОРОДА АСТАНЫ Есильканов Г.М., Есенжолова А.Ж.	239
БИОИНДИКАЦИОННАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ ГОРОДА СЕМЕЙ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА ЛИСТЬЕВ <i>BETULA PENDULA</i> ROTH Есильканов Г.М., Есенжолова А.Ж., Торопов А.С.	239
ДОЖДЕВЫЕ ЧЕРВИ В ТЕМНОГУМУСОВЫХ ПОЧВАХ ЗАПОВЕДНИКА «КАЛУЖСКИЕ ЗАСЕКИ» Шашков М.П.	240
ЦИНК И МЕДЬ В ЛИСТЬЯХ ДРЕВЕСНЫХ И КУСТАРНИКОВЫХ РАСТЕНИЙ ГОРОДА КАРАГАНДЫ Есенжолова А.Ж.	241
СПОСОБНОСТЬ ВИТРОФИРОВ К АДСОРБЦИИ СВИНЦА И МЕДИ Торопов А.С.	241
РАСПРЕДЕЛЕНИЕ КАДМИЯ И ЦИНКА В ПОДЗЕМНЫХ ВОДАХ БЫВШЕГО СЕМИПАЛАТИНСКОГО ИСПЫТАТЕЛЬНОГО ЯДЕРНОГО ПОЛИГОНА Торопов А.С.	242
ПЕРСПЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ФАРМАКОПЕЙНЫХ РАСТЕНИЙ ВО ВНУТРЕННЕЙ СРЕДЕ ПОМЕЩЕНИЙ ПАНСИОНА ВОСПИТАНИЦ МОРФ Крестинина Н.В., Сгибнева А.А., Афонина В.Е.	243
ИЗМЕНЕНИЕ РАСТИТЕЛЬНОГО ПОКРОВА НА ТЕРИТОРИИ МОРШИНСКОЙ ВОЗВЫШЕННОСТИ Позыныч И.С., Савицкая А.Г.	243
БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА С АНТИСТРЕССОВЫМИ И ИММУНОПРОТЕКТОРНЫМИ СВОЙСТВАМИ Андриянова Ю.М., Власов Д.А., Гусакова Н.Н.	244
МОДЕЛИРОВАНИЕ ЭКОСИСТЕМ В ЛАБОРАТОРИИ С ПОМОЩЬЮ МИКРОКОСМОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛИЯНИЯ НА НИХ АНТРОПОГЕННЫХ ФАКТОРОВ Махрова Е.Г., Руденко С.С.	245
ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ СЕГЕТАЛЬНОЙ ФИТОБИОТЫ В АГРОЦЕНОЗАХ ПШЕНИЦЫ Стародуб В.И., Ткач Е.Д.	245
ОНТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ЦЕНОПОПУЛЯЦИИ КЕДРА СИБИРСКОГО В КРУПНОПАПОРОТНИКОВЫХ ЛЕСАХ БАССЕЙНА РЕКИ Б. ПОРОЖНЯЯ Алейников А.А., Ефименко А.С., Лазников А.А.	246
ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНА <i>rbcl</i> ХЛОРОПЛАСТОВ ИНДИКАТОРНЫХ ВИДОВ ФИТОПЛАНКТОННЫХ ОРГАНИЗМОВ Сабиров М.С.	246
ЭКОЛОГИЯ И РАСПРОСТРАНЕНИЕ ПРЯМОКРЫЛЫХ (<i>ORTOPTERA</i>) НАСЕКОМЫХ В КАРАКАЛПАКИИ (УЗБЕКИСТАН) Медетов М.Ж., Нуржанов Ф.А., Нуржанов А.А.	247
ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ГЕНА 16S рРНК МИТОХОНДРИЙ ИНДИКАТОРНЫХ ЗООПЛАНКТОННЫХ ОРГАНИЗМОВ Ломаев Д.В.	248
ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ЛЕСНОГО МАССИВА В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ: ПОИСК ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ Хукаленко Е.С., Горшкова Т.А.	248
СПОСОБ ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ ОТХОДОВ ЖИВОТНОВОДСТВА И ПОЛУЧЕНИЕ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОГО БИОПРЕПАРАТА ДЛЯ РАСТЕНИЕВОДСТВА	

Блинова П.А.	249
ВОЗДЕЛЫВАНИЕ ОДНОЛЕТНИХ ТРАВ С УЧЕТОМ ПОЧВЕННЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ БЕЛОРУССКОГО ПОЛЕСЬЯ Шепелюк Ю.С., Сорока А.В.	250
ВИДОВОЙ СОСТАВ ИХТИОФАУНЫ ПРУДОВ БАССЕЙНА РЕКИ КАМА Шелепаев О.А.	250
МНОГОЛЕТНИЙ АНАЛИЗ ПИТАНИЯ УШАСТОЙ СОВЫ (<i>ASIO OTUS</i> L.) НА МОДЕЛЬНОЙ ЗИМОВКЕ В Г. МОСКВЕ Макарова Т.В., Шариков А.В.	251
ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ МЕЛКОДИСПЕРСНЫХ ЧАСТИЦ В ВЫХЛОПАХ ДИЗЕЛЬНОГО ТОПЛИВА Чудинова М.А. , Аликина Е.Н., Уланова Т.С.	251
ОСОБЕННОСТИ НЕКОТОРЫХ БИОТИЧЕСКИХ КОМПОНЕНТ АГРОЭКОСИСТЕМЫ В УСЛОВИЯХ АДАПТИВНО-ЛАНДШАФТНОГО ЗЕМЛЕДЕЛИЯ Николаева Т.Г.	252
ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА ПОВЕДЕНИЯ И ЕГО СИНХРОНИЗАЦИИ У КРОЛЬЧАТ В ПРЕПУБЕРТАТНЫЙ ПЕРИОД ПРИ СОДЕРЖАНИИ С МАТЕРЬЮ И БЕЗ Федосов Е.В.	252
СУТОЧНАЯ И СЕЗОННАЯ АКУСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СЕРОЙ НЕЯСЫТИ И ВОРОБЬИНОГО СЫЧА В ЮЖНОМ ПОДМОСКОВЬЕ Шеховцов С.М, Шариков А.В.	253
ФОРМИРОВАНИЕ ПАСТБИЩНЫХ ТРАВСТОЕВ В ПЕРВЫЙ ГОД ЖИЗНИ НА ПОЧВАХ С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ ЗАБОЛОЧЕННОСТИ Сорока А.В., Казимирчик З.А.	254
БИОИНДИКАЦИОННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПОЧВЕННЫХ ПРО- И ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ ВОДРОСЛЕЙ Темралеева А.Д.	254
НЕКОТОРЫЕ ДЕМОГРАФИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ СЕВЕРНОЙ БОРМОТУШКИ (<i>HIPPOLAIS CALIGATA</i>) В СЕВЕРО-ЗАПАДНОЙ ЗОНЕ АРЕАЛА Федотова С.Е.	255
ХАРАКТЕР РАСПРЕДЕЛЕНИЯ МЕЛКИХ СОКОЛОВ И ЧЕРНОЛОБОГО СОРОКОПУТА В ПОЛУПУСТЫННОМ ЗАВОЛЖЬЕ Сухолозов Е.А.	255
ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ПРОБЛЕМА ФИЛОГЕНОГЕОГРАФИИ ТИХООКЕАНСКОГО ЛОСОСЯ (КЕТЫ) Животовский Л.А., Малинина Т.В., Трахолисова М.А.	256
ВЛИЯНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МИКРОКЛИМАТА НА ЗДОРОВЬЕ РАБОТНИКОВ ПРЕДПРИЯТИЯ (НА ПРИМЕРЕ СВИНОВОДЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА) Дутова А.Н.	256
ВЛИЯНИЕ УПРУГО-ДЕФОРМАЦИОННЫХ СВОЙСТВ ГУСТОСШИТЫХ ПОЛИМЕРОВ НА ЭКОЛОГИЧНОСТЬ ИХ ПЕРЕРАБОТКИ Косарев А.В.	257
ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ЗЕЛЕННЫХ НАСАЖДЕНИЙ ВОДООХРАННОЙ ЗОНЫ ВОРОНЕЖСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА Михеева М.А.	258

РЕАЛИЗАЦИЯ БИОМАТЕМАТИЧЕСКОГО ПОДХОДА ДЛЯ ЭКСПРЕСС-ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ БИОЦЕНОЗА АКТИВНОГО ИЛА Балымова Е.С., Ахмадуллина Ф.Ю., Закиров Р.К.	258
ОСОБЕННОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЗЕМЕЛЬ ГНЕЗДЯЩИМИСЯ КУЛИКАМИ НА ЕВРОПЕЙСКОМ СЕВЕРЕ РОССИИ Дубкова Е.В.	259
ВЛИЯНИЕ ПЛАЗМЕННО-РАДИОВОЛНОВОЙ ОБРАБОТКИ НА ПОЛЕВУЮ ВСХОЖЕСТЬ СЕМЯН ЗЕРНОБОБОВЫХ КУЛЬТУР Антонюк А.С.	259
ОПЫТ ВЫРАЩИВАНИЯ НЕКОТОРЫХ ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ ВИДОВ РОДА <i>ACER</i> L. НА СРЕДНЕЗАСОЛЕННЫХ ПОЧВАХ ЮГА КАРАКАЛПАКСТАНА Турсунбоев Х.Е.	260
СЕМЕННОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ ВИДОВ РОДА <i>LIGUSTRUM</i> L. Рахматова Н.Р.	261
РАЗНООБРАЗИЕ ЖУКОВ ДОЛГОНОСИКОВ (<i>COLEOPTERA</i> , <i>CURCULIONIDAE</i>) НА ЛЮЦЕРНЕ (<i>MEDICAGO SATIVA</i>) В РЕСПУБЛИКЕ МОЛДОВА Малеванчук Н.В., Мунтяну Н.В.	261
ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ <i>TRITICUM AESTIVUM</i> L. ПО УСТОЙЧИВОСТИ К ГРИБНЫМ ЗАБОЛЕВАНИЯМ Желнина Е.Б., Боме Н.А., Боме А.Я.	262
ОСОБЕННОСТИ ИЗОТОПНОГО СОСТАВА ($\delta^{13}C$, $\delta^{15}N$) ЖУЖЕЛИЦ (<i>CARABIDAE</i>) Гончаров А.А.	262
ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ В МАЛЫХ ДОЗАХ НА ПЛОДОВИТОСТЬ <i>DAPHNIA MAGNA</i> И ИХ НЕОБЛУЧЕННОЕ ПОТОМСТВО Малина Ю.Ю.	263
ПРОСТРАНСТВЕННАЯ СТРУКТУРА ПОСЕЛЕНИЙ СЕРОЙ СЛАВКИ <i>SYLVIA COMMUNIS</i> НА ЕВРОПЕЙСКОМ СЕВЕРЕ РОССИИ Морозова М.М.	264
АЛЬГОФЛОРА НИЖНЕГО ТЕЧЕНИЯ РЕКИ ЗЕРАВШАН Маманазарова К.С.	264
СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ГЕЛЬМИНТОФАУНЫ КАРПОВЫХ РЫБ В ИСКУССТВЕННЫХ И ЕСТЕСТВЕННЫХ ВОДОЕМАХ УЗБЕКИСТАНА Сафарова Ф.Э.	265
ОСОБЕННОСТИ ВСХОЖЕСТИ СЕМЯН РАЗНЫХ ГАЛОФИТНЫХ РАСТЕНИЙ Адилов Б.А.	265
СПЕЦИФИЧНОСТЬ ПИТАНИЯ И ПИЩЕВАРЕНИЯ ТЕРМИТОВ РОДА <i>ANACANTHOTERMES</i> Ганиева З.Р., Мирзаева Г.С., Кучкарова Л.С., Хамраев А.Ш.	266
ФИЛЯРИАТЫ ПТИЦ УЗБЕКИСТАНА Сапаров К.А., Махматкулова Н.Д.	267
ЗАРАЖЕННОСТЬ ФИЛЯРИАТАМИ ВОРОБЬИНООБРАЗНЫХ (<i>PASSERIFORMES</i>) ПТИЦ УЗБЕКИСТАНА Сапаров К.А., Жангирова Ю., Бекмирзаева У.Ю.	267
СОЗДАНИЕ СОРБЕНТОВ НА ОСНОВЕ МОРСКИХ ВОДОРΟΣЛЕЙ ДЛЯ ОЧИСТКИ ВОДЫ ОТ РАДИОНУКЛИДОВ Аншкенис А.И., Пан Л.С.	268

БИОЛОГИЯ ЦВЕТКА <i>GAMANTHUS GAMOCARPUS</i> (MOQ.) BUNGE (<i>CHENOPODIACEAE</i>) Кайсаров В.Т., Абдуллаева А.Т.....	269
СОРБЕНТ ДЛЯ ЦЕЗИЯ НА ОСНОВЕ МОРСКИХ ВОДОРОСЛЕЙ И ФЕРРОЦИАНИДОВ ПЕРЕХОДНЫХ МЕТАЛЛОВ Балабенко Е.А., Пан Л.С.....	269
ГАЛОИНДИКАЦИОННЫЕ ПРИЗНАКИ ВИДОВ Р. <i>CLIMACOPTERA</i> (<i>CHENOPODIACEAE</i> VENT.) Дусчанова Г.М.....	270
ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ПЕРОКСИДАЗ В ПОЧВЕ В ПРОЦЕССЕ ОЧИСТКИ ОТ ПРИОРИТЕТНЫХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ Шапошникова Т.С., Плешакова Е.В., Любунь Е.В., Муратова А.Ю.....	270
ФАКТОРЫ, ЛИМИТИРУЮЩИЕ РАСПРОСТРАНЕНИЕ ЛОБАРИИ ЛЕГОЧНОЙ НА ТЕРРИТОРИИ КОСТРОМСКОЙ ОБЛАСТИ Иванова Н.В.....	271
КАЧЕСТВЕННАЯ И КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ДИКОРАСТУЩИХ ВИДОВ ОРХИДНЫХ Шейко Е.А.....	272
ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МАЛЫХ ВОДОТОКОВ ВОДОСБОРА ДЕЛЬТЫ СЕВЕРНОЙ ДВИНЫ Мосеев Д.С.....	272
АДАПТИВНАЯ СПОСОБНОСТЬ ПОПУЛЯЦИЙ НОВОГО СОРТА ХЛОПЧАТНИКА К ПОЧВЕННОЙ ЗАСУХЕ Кудайбергенов А., Дусматова Г., Алламбергенов Т.Д., Шеримбетов А.Г.....	273
ЗАВЯЗЫВАЕМОСТЬ КОРОБОЧЕК ПРИ ГИБРИДИЗАЦИИ ЭКОЛОГО-ГЕОГРАФИЧЕСКИ ОТДАЛЕННЫХ ФОРМ ХЛОПЧАТНИКА Дусматова Г., Кудайбергенов А., Алламбергенов Т.Д., Шеримбетов А.Г.....	273
СЕКЦИЯ «Прикладная биотехнология» СОЗДАНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ФОРМ ДЕРЕВЬЕВ С НОВЫМИ СВОЙСТВАМИ Шестибратов К.А.....	275
АПТАМЕРЫ К СИГМА-СУБЪЕДИНИЦЕ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ <i>ESCHERICHIA COLI</i> ПОДАВЛЯЮТ ИНИЦИАЦИЮ ТРАНСКРИПЦИИ Жилина Е.В., Кульбачинский А.В.....	276
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЫХОДА БИОЭТАНОЛА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ИЗМЕЛЬЧЕНИЯ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНОГО СЫРЬЯ Костина Е.Г., Ревин В.В.....	276
НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ БОРЬБЫ С ТЕРМИТАМИ В УЗБЕКИСТАНЕ Жугинисов Т.И., Хамраев К.А., Холматов Б.Р.....	277
СПОСОБ БИОСЕНСОРНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭНТЕРОТОКСИНОВ <i>ESCHERICHIA COLI</i> Сухарев С.Ю., Головина И.В.....	277
СОЗДАНИЕ СТАРТЕРНЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КОМПОЗИЦИЙ ДЛЯ ФЕРМЕНТИРОВАННЫХ МЯСНЫХ ПРОДУКТОВ Бурцева А.В., Даниленко С.Г.....	278
ПРИМЕНЕНИЕ БАКТЕРИЙ РОДА <i>RAENIBACILLUS</i> ДЛЯ ВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ НИКЕЛЯ ИЗ СИЛИКАТНОГО МИНЕРАЛЬНОГО СЫРЬЯ Репина А.А., Яцкив А.А., Быков А.Г.....	279
РЕГУЛЯЦИЯ БИОСИНТЕЗА ЭТИЛЕНА – ГОРМОНА СОЗРЕВАНИЯ ПЛОДОВ, В СВЯЗИ С ОПТИМИЗАЦИЕЙ ПРОЦЕССА СОЗРЕВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ	

Торопкина А.С., Буланцева Е.А., Проценко М.А., Кораблёва Н.П.	279
<i>BACILLUS COAGULANS</i> КАК ИСТОЧНИК ПРЕБИОТИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ	
Маслихова А.А., Модогоева Н.В., Бубеев А.Т., Цыренов В.Ж.	280
СОЗДАНИЕ БИОБЕЗОПАСНЫХ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ГЕН <i>HBsAg</i>	
Пучко Е.Н., Рукавцова Е.Б., Бурьянов Я.И.	280
ОТЗЫВЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ НА ИНОКУЛЯЦИЮ БАКТЕРИЯМИ ВЕРОЯТНО ЗАВИСИТ ОТ СОДЕРЖАНИЯ ЛЕКТИНА ПШЕНИЦЫ В СЕМЕНАХ	
Кушнерук М.А., Старичкова Н.И., Антонюк Л.П.	281
БИОЛОГИЧЕСКАЯ РЕКУЛЬТИВАЦИЯ ЗАГРЯЗНЕННОЙ НЕФТЬЮ ПОЧВЫ ПРИ НИЗКОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ	
Смолова О.Н., Бакаева М.Д., Ануфриева Ю.С.	282
ПЦР-МАРКЕРЫ ДЛЯ ВИДОВОЙ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ПЕРСИКА И АБРИКОСА	
Мудрикова О.В., Просеков А.Ю., Мудрикова Ю.В.	282
ВЛИЯНИЕ ПОДГОТОВКИ СУБСТРАТА НА АПТИВНОСТЬ К УСЛОВИЯМ <i>POST VITRO</i> РАСТЕНИЙ <i>VITIS VINIFERA</i>	
Ребров А.Н.	283
ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ	
Сытников Д.М., Стахив М.П.	283
ЛИПОЛИТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА ПСИХРОТРОФНОГО МИКРООРГАНИЗМА <i>PSYCHROBACTER CRYOHALOLENTIS K5^T</i>	
Новотоцкая-Власова К.А., Гиличинский Д.А., Петровская Л.Е., Крюкова Е.А.	284
ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ ОТХОДОВ НЕФТЕПЕРЕРАБАТЫВАЮЩЕЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ АССОЦИАЦИЕЙ МИКРООРГАНИЗМОВ	
Ракитин М.Ю., Прутенская Е.А., Сульман Э.М.	285
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕГО СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУРАХ ПАЖИТНИКА ГРЕЧЕСКОГО	
Логвина А.О.	285
ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА РОСТ И СИНТЕЗ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ <i>RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS</i> ЭК-1	
Квятковская И.В., Софилканич А.П., Пирог Т.П.	286
УЛЬТРАСТРУКТУРА КЛЕТОК СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ <i>POLYSCIAS FRUTICOSA</i> ПРИ ПЕРЕХОДЕ К СТАЦИОНАРНОЙ ФАЗЕ РОСТА	
Соловьева Л.В., Гафиятова Э.И., Суханова Е.С., Кочкин Д.В., Абдрахимов Ф.А., Абдрахимова Й.Р., Носов А.М.	287
УСЛОВИЯ РИЗОГЕНЕЗА И ВЫВОДА ИЗ АСЕПТИКИ ЦЕННЫХ СОРТОВ ВИДА <i>SYRINGA VULGARIS</i> L.	
Сошинкова Т.Н., Гурьянова А.Ю.	287
КЛОНИРОВАНИЕ И ЭКСПРЕССИЯ В РАСТЕНИЯХ ТАБАКА (<i>NICOTIANA TABACUM</i>) И РЯСКИ МАЛОЙ (<i>LEMNA MINOR</i>) ГИРУДИНА	
Таранов А.И., Фирсов А.П., Долгов С.В.	288
ПРИМЕНЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ В ТЕХНОЛОГИЯХ РЕГЕНЕРАЦИИ ПОЧВОЗАМЕНИТЕЛЕЙ В КОСМИЧЕСКИХ ОРАНЖЕРЕЯХ	
Кривобок А.С., Чувильская Н.А., Щербакова В.А.	288
ВЛИЯНИЕ АРБУСКУЛЯРНО-МИКОРИЗНЫХ ГРИБОВ НА МИКОРИЗАЦИЮ И ПРОДУКТИВНОСТЬ РАСТЕНИЙ СОИ	
Абдурашитов С.Ф.	289

ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ MFS ТРАНСПОРТЕРА SEFT ИЗ ШТАММА ПРОДУЦЕНТА ЦЕФАЛОСПОРИНА С А. <i>CHRYSOGENUM</i> Думина М.В., Домрачева А.Г., Новак М.И., Бартошевич Ю.Э., Эльдаров М.А., Валиахметов А.Я., Жгун А.А.	290
СНИЖЕНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ СРЕДЫ ДРОЖЖЕЙ <i>PICHA PASTORIS</i> – ПРОДУЦЕНТОВ ХИМЕРНЫХ БЕЛКОВ Сазонова Е.А., Карабельский А.В., Падкина М.В.	291
СИНТЕЗ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ АНТИМИКРОБНЫЙ БЕЛОК ЭСКУЛЕНТИН Совгир Н.В., Прокулевич В.А.	291
ПОИСК РИЗОСФЕРНЫХ БАКТЕРИЙ, ОБЛАДАЮЩИХ ВЫСОКИМ АДАПТИВНЫМ ПОТЕНЦИАЛОМ К МУЛЬТИЗАГРЯЗНЕНИЮ Крючкова Е.В., Любунь Е.В., Чернышова М.П., Бурыгин Г.Л., Турковская О.В.	292
ВЛИЯНИЯ БИОПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ <i>PSEUDOMONAS SP.</i> НА РОСТ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ Лукаткин А.А., Бурова Ю.А., Ибрагимова С.А.	292
ДИНАМИКА ВОССТАНОВЛЕНИЯ КЛЕТОК ПЕРЕВИВАЕМОЙ ЛИНИИ МДБК ПОСЛЕ КРИОКОНСЕРВАЦИИ Кириллова Ю.М., Плотникова Э.М.	293
ВЛИЯНИЕ КЛЕВЕРА ЛУГОВОГО <i>TRIFOLIUM PRATENSE</i> НА БИОДЕГРАДАЦИЮ УГЛЕВОДОРОДОВ В ЗАГРЯЗНЁННОЙ ПОЧВЕ Шестакова Е.А., Ананьина Л.Н., Назаров А.В.	293
ДИАГНОСТИКА ВИРУСА НЕКРОТИЧЕСКОЙ КОЛЬЦЕВОЙ ПЯТНИСТОСТИ КОСТОЧКОВЫХ КУЛЬТУР МЕТОДОМ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА Соловей О.В.	294
КЛОНИРОВАНИЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ СНАР-ДОМЕНА ЛИЗИНА БАКТЕРИОФАГА К В КЛЕТКАХ <i>ESCHERICHIA COLI</i> Голенченко С.Г., Прокулевич В.А.	294
ЭКСПРЕССИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО КИСЛОТНОГО ФАКТОРА РОСТА ФИБРОБЛАСТОВ ЧЕЛОВЕКА (FGF1) В КЛЕТКАХ <i>ESCHERICHIA COLI</i> Емельянова В.Ю., Данилкович А.В., Удовиченко И.П.	295
УЛУЧШЕНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИКИ РЕКОМБИНАНТНЫХ ИНТЕРФЕРОНОВ: СОЗДАНИЕ ХИМЕРНОГО БЕЛКА Барковский М.Б., Карабельский А.В., Падкина М.В.	296
ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ АКТИВАЦИЯ ПРОГРАММ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ ОТ АБИОТИЧЕСКИХ И БИОТИЧЕСКИХ СТРЕССОВ Череватенко А.М., Тарлачков С.В., Дьяченко О.В., Захарченко Н.С., Шевчук Т.В., Бурьянов Я.И.	296
РАЗЛОЖЕНИЕ ХЛОРФЕНОЛОВ ШТАММОМ <i>RHODOCOCCLUS OPACUS</i> 1СР ПОСЛЕ СТАДИИ ПОКОЯ Овчарова В.С., Соляникова И.П., Головлева Л.А.	297
ДЕСТРУКЦИЯ ТНТ БАКТЕРИЕЙ <i>VACILLUS SP.</i> VT8 Робота И.В., Соляникова И.П., Головлева Л.А.	298
ВЛИЯНИЕ УГЛЕРОДНЫХ НАНОЧАСТИЦ НА НЕКОТОРЫЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ОБЪЕКТЫ Барчева А.В., Бордей Н.С.	298
ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ВЫСШИХ ВОДНЫХ РАСТЕНИЙ ДЛЯ ТАЛАССОТЕРАПИИ Новиченко О.В.	299

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НАНОКОМПОЗИТНОГО ПРЕПАРАТА ЕМАР II НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ И ВБЖИВАЕМОСТЬ ИММОРТАЛИЗОВАННЫХ КЛЕТОК Бабенко Л.А. Коцаренко К.В., Лыло В.В., Мацевич Л.Л., Рубан Т.А., Корнелюк А.И., Лукаш Л.Л.....	300
СИНТЕЗ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ <i>RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS</i> ЭК-1 НА МАСЛОСОДЕРЖАЩИХ СУБСТРАТАХ В ПРИСУТСТВИИ ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО ИСТОЧНИКА УГЛЕРОДА Кундеев М.Д., Софилканич А.П., Пирог Т.П.....	300
СПОСОБ РЕКУЛЬТИВАЦИИ ПОЧВ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ НЕФТЬЮ И НЕФТЕПРОДУКТАМИ Казаков А.В., Злотников К. М., Злотников А.К., Казакова М.Л., Баландина А.В.....	301
ШТАММ <i>BACILLUS SUBTILIS</i> КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ДЕСТРУКТОР ТРИЭТИЛАМИНА Нагорный Р.К.....	301
Mg ⁺⁺ - ЗАВИСИМЫЙ РАСПАД рРНК ЗРЕЛОГО ЗЕРНА IN VITRO: ПРОГНОЗИРОВАНИЕ МОРОЗОУСТОУЧИВОСТИ ОЗИМОГО ЯЧМЕНЯ Степанов И.В., Насонов А.И., Евтушенко Я.Ю., Плотников В.К.....	302
ПОЛУЧЕНИЕ МУТАНТНЫХ ШТАММОВ <i>TRICHODERMA REESEI</i> – ПРОДУЦЕНТОВ ЦЕЛЛЮЛОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ Горячев Д.А., Немашкалов В.А., Беккаревич А.О., Кошелев А.В., Окунев О.Н.....	303
ИНТЕНСИФИКАЦИЯ СИНТЕЗА ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ <i>NOCARDIA VACCINII</i> К-8 НА ГЛИЦЕРИНЕ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА БИОДЕСТРУКЦИЮ Хомяк Д.И., Конон А.Д., Боровик А.А., Гриценко Н.А., Пирог Т.П.....	303
БИОСИНТЕЗ СОПОЛИМЕРА ПОЛИГИДРОКСИБУТИРОВАЛЕРАТА <i>METHYLOBACTERIUM EXTORQUENS</i> G-10 НА МЕТАНОЛЕ Кучумов П.В., Ежов В.А.....	304
КОЛЛАГЕН КАК НОСИТЕЛЬ И ПРОТЕКТОР БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ Макарова Е.Л., Ковалева Т.А., Короткова Е.В.....	304
ПОВЫШЕНИЕ ПРЕАДАПТИВНОСТИ РАСТЕНИЙ ВИНОГРАДА IN VITRO К НЕСТЕРИЛЬНЫМ УСЛОВИЯМ СРЕДЫ Ребров А.Н.....	305
МИКРОБНЫЕ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА КАК ПРЕПАРАТЫ МУЛЬТИФУНКЦИОНАЛЬНОГО НАЗНАЧЕНИЯ Конон А.Д., Софилканич А.П., Скочко А.Б., Антонюк С.И., Пирог Т.П.....	306
УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ СИНТЕЗА ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ <i>ACINETOBACTER CALCOACETICUS</i> ИМВ В-7241 Конон А.Д., Билец И.В., Антонюк С.И., Пирог Т.П.....	306
ПОЛУЧЕНИЯ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ОСНОВЫ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ПРЕПАРАТА «ИНТЕРФЕРОН» И ОЦЕНКА ЕЁ КАЧЕСТВА Ерошенко Д.В., Волкова Л.В.....	307
СКРИНИНГ ШТАММОВ РОДА <i>CELLULOMONAS</i> ПО ПРИЗНАКУ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ ЦЕЛЛЮЛОЛИТИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА Прохорова А.И., Мордвинова Е.М., Сергеева А.В.....	307
ЭКСПРЕССИЯ ПЕПТИДА M2e ВИРУСА ГРИППА ПТИЦ H5N1 В РАСТЕНИЯХ ДЛЯ СОЗДАНИЯ УНИВЕРСАЛЬНОЙ СЪЕДОБНОЙ ВАКЦИНЫ Тарасенко И.В., Таранов А.И., Фирсов А.П., Долгов С.В.....	308
СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДРОЖЖЕВЫХ ОРГАНИЗМОВ Юсупова А.И., Моргунов И.Г.....	309

ПОЛУЧЕНИЕ АНТИГЕННО АКТИВНЫХ КОМПЛЕКСОВ IN VITRO Трифорова Е.А., Никитин Н.А.	309
ЭЛИМИНИРОВАНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЛИПОПОЛИСАХАРИДА С ПОМОЩЬЮ ЗАУГЛЕРОЖЕННОЙ РИСОВОЙ ШЕЛУХИ Акимубеков Н.Ш., Жубанова А.А.	310
ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА БИОСИНТЕЗ АЛЬФА-КЕТОГЛУТАРОВОЙ КИСЛОТЫ У ДРОЖЖЕЙ <i>YARROWIA LIPOLYTICA</i> Чиглинцева М.Н., Юсупова А.И., Моргунов И.Г.	310
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОТЕКТИВНОГО АНТИГЕНА <i>BACILLUS ANTHRACIS</i> В СЫВОРОТКЕ КРОВИ Видягина Е.О., Руденко Н.В., Аббасова С.Г.	311
ВЛИЯНИЕ БИОФУНГИЦИДА «ЕЛЕНА» НА СОСТАВ МИКРОФЛОРЫ РАЗЛИЧНЫХ АГРОЭКОСИСТЕМ (ПОЧВА, ЗАЩИЩЕННЫЙ ГРУНТ) Леонтьева Т.Н., Исхакова К.Р., Кузина Е.В., Силищев Н.Н.	312
ВЛИЯНИЕ ИНОКУЛЯЦИИ ЭКСТРАКТОВ ПЫЛЬЦЫ НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА <i>GOSSYPIUM</i> Абдуллаева Д.А.	312
ОЦЕНКА АНТИДОТНЫХ СВОЙСТВ РЕГУЛЯТОРА РОСТА АЛЬБИТ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ С ГЕРБИЦИДАМИ Злотников А.К., Злотников К.М., Подварко А.Т., Рябчинская Т.А., Казаков А.В., Казакова М.Л.	313
РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ НАТУРАЛЬНОГО ЭФИРНОГО МАСЛА С АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ Сивцева С.В.	314
ПЕРСПЕКТИВЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЭПИФИТНЫХ ДРОЖЖЕЙ НА ПИВНОЙ БАРДЕ Храпова А.В., Сопрунова О.Б.	314
ПОЛУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОНСТРУКЦИИ ДЛЯ ГЕТЕРОЛОГИЧНОЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА ДНК-МЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ РАСТЕНИЙ В ЖИВОТНЫХ КЛЕТКАХ Череватенко А.М., Попов А.В., Тарлачков С.В., Дьяченко О.В., Шевчук Т.В.	315
ВЛИЯНИЕ ЗАМЕН A182T И N191F НА ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТЬ АМИЛАЗЫ ШТАММА <i>BACILLUS</i> <i>SP. 406</i> Качан А.В., Евтушенков А.Н.	315
ИЗУЧЕНИЕ БИОКИНЕТИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ <i>VIBRIO CHOLERAЕ</i> M41 ОГАВА В СКОНСТРУИРОВАННОМ БИОРЕАКТОРЕ Ульянов А.Ю., Никифоров А.К., Еремин С.А., Комиссаров А.В., Белякова Н.И., Васин Ю.Г., Волох О.А.	316
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНОЙ СТЕПЕНИ КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ ПРОТЕКТИВНЫХ АНТИГЕНОВ ХОЛЕРНЫХ ВИБРИОНОВ В ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА ХОЛЕРНОЙ БИВАЛЕНТНОЙ ХИМИЧЕСКОЙ ВАКЦИНЫ Алешина Ю.А., Крайнова А.Г., Еремин С.А., Комиссаров А.В., Громова О.В., Белякова Н.И., Клокова О.Д., Васин Ю.Г.	317
УДАЛЕНИЕ ИНГИБИТОРА ПРОТЕАЗ ИЗ ЯИЧНОГО БЕЛКА ДЛЯ МИКРОБИОЛОГИИ И ФАМАКОЛОГИИ Шулюпин М.О., Шулюпин О.К.	317
МИКРОЧЕРЕНКОВАНИЕ IN VITRO ЦВЕТОЧНЫХ РАСТЕНИЙ КОММЕРЧЕСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ Корня Т.М., Лобанова К.И., Замбриборщ И.С.	318
ПОЛУЧЕНИЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ТАБАКА, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ГЕН РNEXPA1 ТОПОЛЯ ЧЕРНОГО	

Кулуев Б.Р., Лебедев Я.П., Князев А.В.	318
Секция «Социокультурная ниша биологии»	
ПРОБЛЕМЫ СЕЛЕКЦИИ КУЛЬТУРНОЙ ПШЕНИЦЫ	
Буцанец П.А., Королькова Д.В.	320
ЧАРЛЬЗ ДАРВИН КАК ПРИМЕР НЕОРДИНАРНОГО ИССЛЕДОВАТЕЛЯ	
Буцанец П.А., Королькова Д.В.	320
НАУЧНЫЙ ВКЛАД А.С.ФАМИНЦЫНА КАК ПРИМЕР ДЛЯ СОВРЕМЕННЫХ ИССЛЕДОВАТЕЛЕЙ В ОБЛАСТИ ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ	
Королькова Д.В., Сошинкова Т.Н.	321
СМУИС ПНЦ РАН – ОБЩЕСТВЕННАЯ ИНИЦИАТИВА ИЛИ НЕОБХОДИМЫЙ ПОСРЕДНИК МЕЖДУ АДМИНИСТРАЦИЕЙ, ПРОФСОЮЗОМ И НАУЧНОЙ МОЛОДЁЖЬЮ	
Хохлова Т.И.	321
ВОЗМОЖНОСТЬ ПРОВЕДЕНИЯ КАЧЕСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПО БИОЛОГИИ В ТЕЧЕНИЕ СРОКА АСПИРАНТУРЫ	
Королькова Д.В., Сошинкова Т.Н.	323
МЕТОДЫ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО ПРОСВЕЩЕНИЯ СЕЛЬСКИХ И ГОРОДСКИХ ШКОЛЬНИКОВ	
Иванова Н.В.	323
ОТВЕТСТВЕННОЕ ОТНОШЕНИЕ К ПРИРОДЕ – СЛОЖНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛИЧНОСТИ	
Каюмходжаева Ё.М.	324
СЕКЦИЯ «Биология и экология микроорганизмов»	
ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРЫ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ВДОЛЬ ГРАДИЕНТА ЗАСОЛЕНИЯ В РАЙОНЕ СОЛОНЧАКОВ КАЗАХСТАНА	
Андронов Е.Е., Кимеклис А.К., Пинаев А.Г., Першина Е.В., Петрова С.Н., Рахимгалиева С.Ж., Сергалиев Н.Х., Ахмеденов К.М., Горобец А.В.	325
АССИМИЛЯЦИОННЫЕ СПОСОБНОСТИ ЭПИФИТНЫХ ДРОЖЖЕЙ ХЛОПЧАТНИКА	
Бабажанова В.А.	325
БИОРЕМЕДИАЦИЯ ПОЧВЕННОГО ПОКРОВА ЮЖНОГО ПРИАРАЛЬЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИКРОБНЫХ BIOTEХНОЛОГИЙ	
Атамуратов А.С.	326
ПЕРЕКРЕСТНЫЙ АНТАГОНИЗМ МУТАНТНЫХ БАКТЕРИЙ <i>PSEUDOMONAS PUTIDA</i> КМБУ4308	
Кулешова Ю.М., Скакун Т.Л.	327
ПРИМЕНЕНИЕ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДСТВ ЗАЩИТЫ В БОРЬБЕ С КОРНЕВЫМИ ГНИЛЯМИ ОГУРЦА	
Опрышко Н.А., Чабанюк Я.В.	327
МИКРОБНОЕ СООБЩЕСТВО РИЗОСФЕРЫ РАПСА	
Бунас А.А., Чабанюк Я.В.	328
КАРБОНОВЫЕ КИСЛОТЫ И АМИНОКИСЛОТЫ КАК АВТОРЕГУЛЯТОРЫ РОСТА <i>ESCHERICHIA COLI</i>	
Полевая Е.В., Вахитов Т.Я.	328
РОЛЬ ИУК, СИНТЕЗИРУЕМОЙ <i>P. FLUORESCENS</i> S-32, В РАЗВИТИИ КОРНЕВОЙ СИСТЕМЫ РАПСА	
Феклистова И.Н., Можарова И.В.	329
СИНТЕЗ ГИББЕРЕЛЛИНОВ БАКТЕРИЯМИ <i>P. FLUORESCENS</i> S-32	
Феклистова И.Н., Маслак Д.В.	329

РАЗРАБОТКА ПЦР-ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ОДНОВРЕМЕННОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ МИКРООРГАНИЗМОВ РОДА <i>ENTEROBACTERIACEA</i> Евстратова Е.С.	330
ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ УРАЛА И СИБИРИ НА УСТОЙЧИВОСТЬ БАКТЕРИЙ К АНТИБИОТИКАМ Лепехина Е.В., Октябрьский О.Н., Смирнова Г.В.	330
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ СКОРОСТИ РОСТА ФИТОПЛАНКТОНА ЧЕРЕЗ МИТОТИЧЕСКИЙ ИНДЕКС Соломонова Е.С.	331
ВЛИЯНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ПРОБИОТИКА ЦЕЛЛОБАКТЕРИНА НА МИКРОФЛОРУ КУР-НЕСУШЕК И БРОЙЛЕРОВ Никонов И.Н., Курманаева В.В., Лаптев Г.Ю.	332
АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЯЕМЫХ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ БИОТОПОВ Колмогорова С.В., Обухова Н.А., Скобликов Н.Э.	332
НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ФИЗИОЛОГИИ СТРЕПТОМИЦЕТОВ В ОТНОШЕНИИ УГЛЕВОДОРОДНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ Девятяров Р.М., Закирова Я.Н., Лайков А.В.	333
ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ЭШЕРИХИОЗНЫХ БАКТЕРИОФАГОВ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ПОСТ-ОТЪЕМНОГО СИНДРОМА ПОРОСЯТ Скобликов Н.Э., Забашта Н.Н., Васильева Е.А., Москаленко Е.А., Зимин А.А.	333
ОСМОАККЛИМАЦИЯ ОДНОКЛЕТОЧНОЙ ЗЕЛЕННОЙ ВОДОРОСЛИ <i>CHLAMYDOMONAS REINHARDTII</i> Аникина А.В.	334
ВЫБОР ЛАБОРАТОРНОГО ХОЗЯИНА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ СПОР МИКРОСПОРИДИИ Ахмедова З.Ю., Нуржанов А.А., Хашимова М.Х.	335
ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВИРУСНОГО ПРЕПАРАТА ПРОТИВ <i>HELICOVERPA ARMIGERA</i> Hbn. Ахмедова З.Ю., Хашимова М.Х., Хамраев А.Ш., Нуржанов А.А., Колосов А.В.	335
ОСОБЕННОСТИ ПЕРЕДАЧИ ИНФЕКЦИИ ВЫЗЫВАЕМОЙ ГРИБОМ <i>BEAUVERIA TENELLA</i> У ТЕРМИТА (<i>ANACANTHOTERMES JACOBS</i>) Ганиева З.А., Нуржанов А.А., Хашимова М.Х.	336
ХОЛОДОВАЯ АККЛИМАЦИЯ ЗЕЛЕННОЙ ОДНОКЛЕТОЧНОЙ ВОДОРОСЛИ <i>CHLAMYDOMONAS REINHARDTII</i> Аникина А.В.	336
НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ЦИАНОБАКТЕРИЙ И АКТИНОМИЦЕТОВ В СОСТАВЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ АССОЦИАЦИЙ Иванова Е.А.	337
ПЕРВЫЙ ЛИТОТРОФНЫЙ СЕРООКИСЛЯЮЩИЙ ПРЕДСТАВИТЕЛЬ РОДА <i>AZOSPIRILLUM</i> - <i>A. THIOPHILUM</i> Фролов Е.Н., Лавриненко К.В., Данг Тху Тхюи	338
НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ КОЭВОЛЮЦИИ ФАГА 8573М И ЕГО ХОЗЯИНА <i>PSEUDOMONAS FLUORESCENS</i> В МОДЕЛЬНОЙ СИСТЕМЕ Бурхан А.Н., Семчук Л.И., Ромашев С.А.	338
АНАЛИЗ СОСТАВА ГЕНОМА ШТАММОВ ЖИВОЙ ГРИППОЗНОЙ ВАКЦИНЫ ПЦР-МЕТОДОМ Баженова Е.А., Дубровина И.А., Бердыгулова Ж.А., Киселева И.В.	339

АДАПТИВНЫЕ СТРАТЕГИИ ФИТОПАТОГЕННОЙ БАКТЕРИИ <i>ERWINIA CAROTOVORA</i> В УСЛОВИЯХ ГОЛОДАНИЯ Шлыкova Л.В., Хусаинов И.Ш., Даминова А.Г., Петрова О.Е., Агеева М.В., Горшков В.Ю., Гоголева Н.Е., Гоголев Ю.В.	339
ВЫДЕЛЕНИЯ АКТИНОМИЦЕТОВ ИЗ ПОЧВ АЗЕРБАЙДЖАНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ УЛЬТРАЗВУКА Мусаев Е.М., Наджафова С.Г., Гасанова С.А.	340
ОЦЕНКА БИОСТОЙКОСТИ СТАЛЕЙ К ВОЗДЕЙСТВИЮ СУЛЬФАТВОССТАНАВЛИВАЮЩИХ БАКТЕРИЙ КАЛЬЧИНСКОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ Шаркова Т.В., Остапенко А.В.	341
СЕКРЕТИРУЕМЫЕ РИБОНУКЛЕАЗЫ <i>BACILLUS LICHENIFORMIS</i> Техтелева И.С., Ульянова В.В., Вершинина В.И.	341
КОЛЛЕКЦИЯ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ КАК ИСТОЧНИК ИНФОРМАЦИИ ПО ПОЛУЧЕНИЮ И СОХРАНЕНИЮ ВИДОВОГО И ШТАММОВОГО РАЗНООБРАЗИЯ Митрошина Ю. С.	342
СОСТАВ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ В РАЗНЫХ ЭКОЛОГО-ТЕХНОГЕННЫХ ЗОНАХ Абдулина Д.Р., Асауленко Л.Г., Пуриш Л.М.	342
ПЕРВЫЙ ПРЕДСТАВИТЕЛЬ РОДА <i>THIOTHRIX</i> , СПОСОБНЫЙ К ДИССИМИЛЯЦИОННОЙ НИТРАТРЕДУКЦИИ Андреевских Ж.Г., Трубицын И.В., Тутукина М.А., Баркалова Е.В.	343
ВЛИЯНИЕ ОДНОУГЛЕРОДНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ НА РОСТ <i>HALOTHIOBACILLUS HALOPHILUS</i> Быков А.Г.	344
РОЛЬ МИКРООРГАНИЗМОВ БИОХИМИЧЕСКИХ ЦИКЛОВ ЖЕЛЕЗА И МАРГАНЦА В ОЧИСТКЕ ПИТЬЕВОЙ ВОДЫ Букреева В.Ю.	344
РАСПРОСТРАНЕНИЕ БАКТЕРИЙ РОДА <i>PSEUDOMONAS</i> В БИОТОПАХ КЫРГЫЗСТАНА Конурбаева М.У.	345
ЭКОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ МЕСТ ЗАЛЕГАНИЯ УГЛЕВОДОРОДОВ В ОЗЕРЕ БАЙКАЛ Кадников В.В., Марданов А.В.	345
БИОРАЗНООБРАЗИЕ ПЛЕСНЕВЫХ ГРИБОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ В АКУШЕРСКИХ СТАЦИОНАРАХ Кирьянова И.Н., Брессен А.П., Александрова Г.А., Крылова И.О., Четина О.А.	346
ИЗУЧЕНИЕ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ, ПРЕОБРАЗУЮЩИХ ПОЛИВАЛЕНТНЫЕ МЕТАЛЛЫ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ Шелепаев О.А., Ковалевская Н.П.	346
БАКТЕРИИ <i>PAENIBACILLUS ENIMENSIS</i> – НОВЫЕ ЦИКЛОДЕКСТРИНОГЕННЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ Федорова П.Ю., Усанов Н.Г., Гильванова Е.А.	347
ВЛИЯНИЕ БИОФУНГИЦИДОВ НА МИКОТРОФНОСТЬ РАСТЕНИЙ Курамшина З.М., Андреева И.Г., Хайруллин Р.М.	348
ВЛИЯНИЕ <i>BACILLUS SUBTILIS</i> НА ЧИСЛЕННОСТЬ ПОЧВЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ Курамшина З.М., Гареева Л.Ф., Михайлова Л.Ю., Сальтяшева А.Х., Хайруллин Р.М.	348
МЕТАБОЛИТНАЯ И ЭКСПРЕССИОННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ДИССИМИЛЯЦИОННОГО СЕРНОГО МЕТАБОЛИЗМА БАКТЕРИЙ <i>S. NATANS</i> SSP. <i>SULFIDOVORANS</i> Белюсова Е.В., Тутукина М.Н.	349

КОНСТРУИРОВАНИЕ ВЕКТОРА ИНТЕГРАЦИИ ДЛЯ КЛОНИРОВАНИЯ В КЛЕТКАХ БАКТЕРИЙ <i>V. SUBTILIS</i> НА ОСНОВЕ ПЛАЗМИДЫ PBR322 Чеписюк Н.В.	349
БИОСИНТЕЗ ПРИРОДНЫХ СТАТИНОВ ПЕНИЦИЛЛАМИ, ВЫДЕЛЕННЫМИ ИЗ ПОЧВ МАНГРОВЫХ ЛЕСОВ В МАЛАЙЗИИ Сейдаметова Э.А., Салихон Дж., Заинол Н.	350
НОВЫЕ МЕТАЛЛОУСТОЙЧИВЫЕ ШТАММЫ БАЦИЛЛ Маргарян А.А., Паносян О.А.	351
МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА И ФИЛОГЕНИЯ МИКРОСПОРИДИЙ ДОЛГОНОСИКОВ (<i>INSECTA: CURCULIONIDAE, RHYNCHITIDAE</i>) ФАУНЫ МОЛДОВЫ Ситникова Н.В., Игнатъева А.Н., Грушецкая Т.А., Токарев Ю.С.	351
НАКОПЛЕНИЕ АЛАНИНА В КЛЕТКАХ ЭНДОФИТА <i>KLEBSIELLA TERRIGENA</i> E6 В УСЛОВИЯХ АЗОТФИКСАЦИИ Казакова М.Л., Злотников К.М., Казаков А.В., Злотников А.К.	352
РАЗРАБОТКА ПРАЙМЕРНЫХ СИСТЕМ ДЛЯ ОЦЕНКИ ВИДОВОГО РАЗНООБРАЗИЯ ЗЕЛЕННЫХ НЕСЕРНЫХ БАКТЕРИЙ В ПРИРОДНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ Гайсин В.А., Сухачева М.В.	352
УЧАСТИЕ ГЕНА <i>groS</i> В АДАПТИВНОМ МУТАГЕНЕЗЕ Гимадеева Р.М., Фарид М.А., Бабынин Э.В., Барабанщиков Б.И.	353
СПОСОБНОСТЬ ШТАММОВ <i>ASPERGILLUS TERREUS</i> К БИОСИНТЕЗУ ЛОВАСТАТИНА Сейдаметова Э.А., Гулямова Т.Г., Рузиева Д.М., Абдульмянова Л.И., Насметова С.М., Расулова Г.А., Лобанова К.В.	354
ПСИХРОФИЛЬНО-ГАЛОФИЛЬНОЕ СООБЩЕСТВО АЭРОБНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ КРИОПЭГОВ В ТОЛЩЕ ВЕЧНОЙ МЕРЗЛОТЫ Хохлова Г.В., Спирина Е.В., Гиличинский Д.А., Петровская Л.Е.	354
ПРОДУКЦИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ <i>PENICILLIUM CITRINUM</i> НА ЦИНК- И МЕДЬ-СОДЕРЖАЩИХ СРЕДАХ Барина К.В.	355
ХАРАКТЕРИСТИКА 1-АМИНОЦИКЛОПРОПАН-1-КАРБОКСИЛАТДЕЗАМИНАЗ У АЭРОБНЫХ МЕТИЛОБАКТЕРИЙ Екимова Г.А., Федоров Д.Н.	355
ВЛИЯНИЕ ДЕФИЦИТА МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В ПОЧВЕ НА ФОРМИРОВАНИЕ АРБУСКУЛЯРНОГО МИКОРИЗНОГО СИМБИОЗА И РИЗОСФЕРНУЮ МИКРОФЛОРУ Лошакова К.А.	356
ВЗАИМООТНОШЕНИЕ БАКТЕРИЙ РОДА <i>BACILLUS</i> С ИНФУЗОРИЯМИ <i>COLPODA STEINII</i> Погорелова В.В.	357
ВЛИЯНИЕ ГЛАУКОНИТА НА РОСТ БАКТЕРИЙ Чеботарев А.Ю.	357
ИНДУКЦИЯ ЭКСПРЕССИИ PR-ГЕНА ТЕСТИРУЕМЫХ КЛУБНЕЙ КАРТОФЕЛЯ ПРИ ЗАРАЖЕНИИ ШТАММАМИ <i>PESTOBACTERIUM</i> И <i>DICKEYA</i> Третьякова О.М.	358
АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ АКТИНОМИЦЕТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПОЧВ АЗЕРБАЙДЖАНА Абушова А.Р., Юсифова М.Ю., Гасанова С.А.	358
ПРОБИОТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ <i>LACTOBACILLUS PLANTARUM</i> : ИССЛЕДОВАНИЕ АДГЕЗИВНЫХ СВОЙСТВ МЕТОДАМИ МИКРОСКОПИИ	

Хузяхметова В.Р., Яруллина Д.Р., Дуда В.И., Коновалова О.А., Ильинская О.Н.	359
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ЗАРАЖЕННОСТЬ И КОРРОЗИОННАЯ АГРЕССИВНОСТЬ НЕФТЕПРОМЫСЛОВЫХ СРЕД МЕСТОРОЖДЕНИЙ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ Остапенко А.В., Шаркова Т.В.	360
ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОВ БИОСИНТЕЗА САХАРОЗЫ У ГАЛОТОЛЕРАНТНОГО МЕТАНОТРОФА <i>METHYLOMICROBIUM ALCALIPHILUM 20Z</i> Бут С.Ю., Куревлев С.В., Решетников А.С.	360
ГАЛОФИЛЬНАЯ АЭРОБНАЯ СПОРООБРАЗУЮЩАЯ МИКРОФЛОРА ПОЧВ СОЛОНЧАКОВ И СОЛЕРУДНИКА АРМЕНИИ Акопян А.Г., Маргарян А.А., Паносян О.А.	361
КРИТЕРИИ СТРЕСС-ВЛИЯНИЯ ЖИВЫХ МОНО- И ДИВАЛЕНТНЫХ ВАКЦИН НА ОРГАНИЗМ БРОЙЛЕРОВ Карпуленко М.С., Постоенко В.А.	361
МОЛЕКУЛЯРНЫЙ АНАЛИЗ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ ТЕРМАЛЬНЫХ ИСТОЧНИКОВ КАЛЬДЕРЫ УЗОН МЕТОДОМ ПАРАЛЛЕЛЬНОГО ПИРОСЕКВЕНИРОВАНИЯ Гумеров В.М., Марданов А.В., Равин Н.В.	362
МЕТАБОЛИЗМ МЕТАНОЛА У НОВОГО ФАКУЛЬТАТИВНО-МЕТИЛОТРОФНОГО ФИТОСИМБИОНТА <i>METHYLOBACTERIUM NODULANS</i> Быкова Т.В., Капаруллина Е.Н.	363
АНАЛИЗ МИКРОБНОЙ КОНТАМИНАЦИИ ПОЧВ Г. ЯКУТСКА Ядрихинская В.К., Щелчкова М.В.	363
ГЕТЕРОГЕННОСТЬ СТРОЕНИЯ БАКТЕРИЙ ПАТОГЕННОГО ШТАММА <i>WOLBACHIA WMEI</i> В КЛЕТКАХ МОЗГА <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> Струнов А.А., Киселёва Е.В.	364
БИОДЕГРАДАЦИЯ НЕФТЕПРОДУКТОВ ШТАММАМИ МИКРООРГАНИЗМОВ РОДА <i>ACINETOBACTER</i> Логинова О.О., Белоусова Е.В., Данг Тху Тхюи, Грабович М.Ю.	364
АЗОТОБАКТЕР В УСЛОВИЯХ УРБАНИЗИРОВАННОЙ СРЕДЫ (НА ПРИМЕРЕ Г. АСТРАХАНИ) Пищухина Е.Ю., Сальникова Н.А., Сальников А.Л.	365
НОВЫЕ ШТАММЫ ГАЛОТОЛЕРАНТНЫХ АЭРОБНЫХ МЕТИЛОБАКТЕРИЙ - ПРОДУЦЕНТЫ ЭКТОИНА Порошина М.Н., Капаруллина Е.Н., Грашин Д.В.	366
ПАТОГЕННЫЙ КОМПЛЕКС СЕМЕННОЙ ИНФЕКЦИИ НА СОРТАХ ПШЕНИЦЫ ТАМБОВСКОЙ ОБЛАСТИ Зеленева Ю.В., Кашковский А.А.	366
ВЛИЯНИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ НА АНТИБИОТИКО-РЕЗИСТЕНТНОСТЬ БАКТЕРИЙ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ МОЛЕКУЛ ДНК Ляшук Е.В., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н.	367
СЕКЦИЯ «Почвоведение и биогеохимия» МИКРОЭЛЕМЕНТЫ В ПОЧВАХ И РАСТЕНИЯХ ВОЛЖСКО-КАМСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО ПРИРОДНОГО БИОСФЕРНОГО ЗАПОВЕДНИКА Сибгатуллина М.Ш., Иванов Д.В.	368
ВЛИЯНИЕ СОРБЕНТОВ НА ВОДНО-ФИЗИЧЕСКИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СЕРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВЫ, ЗАГРЯЗНЁННОЙ ДИЗЕЛЬНЫМ ТОПЛИВОМ Яценко В.С., Стрижакова Е.Р.	368

ОСОБЕННОСТИ ГУМИФИКАЦИИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОСТАТКОВ КУКУРУЗЫ В ПРИСУТСТВИИ МИНЕРАЛЬНЫХ СУБСТРАТОВ РАЗЛИЧНОГО СОСТАВА Мальцева А.Н., Золотарева Б.Н.....	369
ВОДОРАСТВОРИМЫЕ СОЕДИНЕНИЯ АЛЮМИНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ СИСТЕМЕ ОРГАНИЧЕСКОЕ ВЕЩЕСТВО-ПОЧВА Кызьюрова Е.В.	370
ЧИСЛЕННОСТЬ И БИОМАССА МИКРООРГАНИЗМОВ АЛЛЮВИАЛЬНЫХ ЛЕСНЫХ ПОЧВ СЕВЕРНОЙ ТАЙГИ (РЕСПУБЛИКА КОМИ) Виноградова Ю.А.	370
ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПЕСЧАНОЙ ПОЧВЫ В ПРОЦЕССЕ ЕЕ ОПТИМИЗАЦИИ Гаевский Е.Е.	371
НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЕМЕННОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ ВИДОВ <i>CATALPA SCOPOLI</i> . В РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ ЗАСОЛЕНИЯ Досжанова Г.Д.	371
МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ ТОРФЯНИСТО-ПОДЗОЛИСТО-ГЛЕЕВАТЫХ ПОЧВ (НА ПЫЛЕВАТЫХ СУГЛИНКАХ) ЕВРОПЕЙСКОГО СЕВЕРО-ВОСТОКА Холопов Ю.В.	372
ВЛИЯНИЕ ФЕРМЕНТОВ НА АКТИВНОСТЬ ЛЕСНЫХ ПОЧВ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЯКУТИИ Богдокумова М.В.....	373
ВЛИЯНИЕ МИКРОБНОГО БИОПРЕПАРАТА НА ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ РАЗНОГО ТИПА Григориади А.С., Нуриханова Р.Д., Лопатин Н.В.	374
ПОГРЕБЕННЫЕ ПОЧВЫ ВАЛА АННЫ ИОАНОВНЫ Саламахин А.Ю.	375
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СЕЗОННЫХ ПОТОКОВ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА ИЗ ЛЕСНЫХ ПОЧВ ЮЖНОГО ВЬЕТНАМА Авилов В.К.	375
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТЕМПЕРАТУРНОГО КОЭФФИЦИЕНТА Q10 ДЛЯ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЫ Партыка Т.В., Бедерничек Т.Ю.	376
ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ФАКТОРОВ НА БИОДЕГРАДАЦИЮ Н-ТРИДЕКАНА В ПОЧВЕ Бондырев М.Л., Халилова А.Ф.....	376
ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ДОЖДЕВЫХ ЧЕРВЕЙ РОДА <i>EISENIA</i> , КУЛЬТИВИРУЕМЫХ В ПОЧВОГРУНТАХ С РАЗНЫМ СОДЕРЖАНИЕМ КАЛЬЦИЯ Петрова О.Н., Петроченко К.А., Никифорова Е.Ю., Куровский А.В., Якимов Ю.Е.	377
ИЗУЧЕНИЕ ПОТЕНЦИАЛА СТИМУЛИРОВАНИЯ РОСТА РАСТЕНИЙ БАКТЕРИЯМИ РОДА <i>AZOSPIRILLUM</i> В ПОЧВАХ НИЖНЕГО ПОВОЛЖЬЯ Попова И.А., Филиппьева Ю.А., Бурыгин Г.Л.	378
ОБРАБОТКА СЕМЯН ЛЮЦЕРНЫ ПОСЕВНОЙ КАК ФАКТОР ИНТЕНСИВНОГО РАЗВИТИЯ КОРНЕВОЙ СИСТЕМЫ Пташец О.В.	378
ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ПОТОКОВЫХ ПОЧВЕННЫХ СТРУКТУР В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ЗЕМЛЕДЕЛИИ Шатохин А.В., Степанова В.И.	379

ПАЛЕОКРИОГЕНЕЗ И ЗАКОНОМЕРНОСТИ ПРОСТРАНСТВЕННОГО ВАРЬИРОВАНИЯ СВОЙСТВ ЧЕРНОЗЕМОВ ЦЕНТРА РУССКОЙ РАВНИНЫ Вагапов И.М.	379
ОСОБЕННОСТИ ПОДБОРА МНОГОЛЕТНИХ ЗЛАКОВЫХ ТРАВ НА КИСЛЫХ ДЕРНОВО- ПОДЗОЛИСТЫХ ПОЧВАХ В УСЛОВИЯХ БЕЛОРУССКОГО ПОЛЕСЬЯ Сорока А.В., Гапонюк А.Н., Медведев К.Б.	380
ПЛОТНОСТЬ ТВЕРДОЙ ФАЗЫ АНТАРКТИЧЕСКИХ И СУБАНТАРКТИЧЕСКИХ ПОЧВ Мухаметова Н.В.	381
МИКРОФЛОРА РЕЛИКТОВЫХ ОСТЕПНЕННЫХ ПОЧВ СЕВЕРО-ТАЕЖНОЙ ПОДЗОНЫ ЯКУТИИ Мамаева Е.Е.	381
МИКРОФЛОРА МЕРЗЛОТНЫХ ЛУГОВО-ЧЕРНОЗЕМНЫХ ПОЧВ И ВЛИЯНИЕ НА НИХ ВЫБРОСОВ АВТОТРАНСПОРТА В Г. ЯКУТСКЕ Наумова М.С.	382
ЭФФЕКТИВНОЕ ПЛОДОРОДИЕ ПОЧВЫ ПРИ ЗАПАШКЕ СОЛОМЫ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ С ЦЕЛЛЮЛОЗОЛИТИКОМ Колесникова М.В., Безлер Н.В.	382
РЕДКИЕ ПОЧВЫ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН Александрова А.Б., Иванов Д.В., Кулагина В.И., Григорьян Б.Р.	383
К ВОПРОСУ ОБ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РАСТВОРОВ ПИРОФОСФАТА НАТРИЯ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛАБИЛЬНЫХ ФОРМ ГУМУСА Лопарева Н.Г.	383
ЭКОМОНИТОРИНГ ПОЧВЕННОГО ПОКРОВА ВБЛИЗИ РАДИАЦИОННОГО ОБЪЕКТА Селюков И.В., Косарев А.В.	384
ДИНАМИКА ПОДВИЖНЫХ ФОРМ ФОСФОРА В ПОЧВЕ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ТОРФОВИВИАНИТА И ФОСФОРНЫХ УДОБРЕНИЙ Базар С.Н.	385
ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЧВ ПОД РАЗЛИЧНЫМИ КУЛЬТУРАМИ Кузьмина К.И.	385
БИОМАССА И СТРУКТУРА ГРИБНОГО МИЦЕЛИЯ В ПОГРЕБЕННЫХ И СОВРЕМЕННЫХ ПОЧВАХ СУХОСТЕПНОЙ ЗОНЫ Чернышева Е. В.	386
ВЛИЯНИЕ ВЫБРОСОВ АВТОТРАНСПОРТА НА ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ МЕРЗЛОТНОЙ ЛУГОВО-ЧЕРНОЗЕМНОЙ ПОЧВЫ Г. ЯКУТСКА Попов О.П.	386
ПОСЛЕДЕЙСТВИЕ ЗАПАШКИ СОЛОМЫ НА ЧИСЛЕННОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В ТРАНСФОРМАЦИИ СОЕДИНЕНИЙ АЗОТА Безлер Н.В., Черепухина И.В.	387
МАКРО- И МЕЗОМОРФОЛОГИЯ ЧЕРНОЗЕМОВ ВЫЩЕЛОЧЕННЫХ ЦЕНТРА ВОСТОЧНО- ЕВРОПЕЙСКОЙ РАВНИНЫ Рапацкая К.М.	387
ПАЛЕОКРИОГЕНЕЗ В ИСТОРИИ ФОРМИРОВАНИЯ И СОВРЕМЕННОМ ФУНКЦИОНИРОВАНИИ ЧЕРНОЗЕМОВ Овчинников А.Ю.	388
СЕКЦИЯ «Приборы и методы для биологии, биотехнологии и медицины» ПРИМЕНЕНИЕ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ СКАНИРУЮЩЕЙ КАЛОМЕТРИИ (ДСК) В ИССЛЕДОВАНИИ И КОНТРОЛЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ	

Бойко Б.Н	390
МЕТОДЫ И ОБОРУДОВАНИЕ ДЛЯ КЛЕТОЧНОЙ ИНЖЕНЕРИИ	
Хохлов А.М., Шугайло В.В.	390
ПРИБОРЫ ДЛЯ МОДИФИКАЦИИ ГЕНОМА КЛЕТКИ ПРИ ПОМОЩИ ЭЛЕКТРОИМПУЛЬСОВ	
Шугайло В.В., Хохлов А.М.	391
ПРОГРАММНО-АППАРАТНЫЙ КОМПЛЕКС РАСПОЗНАВАНИЯ КЛЕТОК В ПРОТОКЕ	
Тарлачков С.В.	392
АВТОМАТИЗИРОВАННЫЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ КОМПЛЕКС ДЛЯ МАССОВОЙ МАГНИТНОЙ ХАРАКТЕРИЗАЦИИ КЛЕТОК	
Жолудь А.М.	392
ЛАЗЕРНАЯ МИКРОДИССЕКЦИЯ ЖИВЫХ КЛЕТОК: НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ДЛЯ КЛЕТОЧНОЙ БИОЛОГИИ	
Подгорный О.В.	393
ГОЛОГРАФИЧЕСКИЙ ЛАЗЕРНЫЙ МАНИПУЛЯТОР-СКАЛЬПЕЛЬ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФЕМТОСЕКУНДНОГО И НЕПРЕРЫВНОГО ЛАЗЕРА	
Залесский А.Д., Данильченко Н.А., Барбашов Ю.В., Максимов Г.В., Решетов И.В., Надточенко В.А., Саркисов О.М.	393
ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССОВ КОАГУЛЯЦИИ ДИСПЕРСИЙ ОРГАНИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ	
Широкова И.Ю., Кучук В.И.	394
АППАРАТНО-ПРОГРАММНЫЙ КОМПЛЕКС ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ И ТЕРАПИИ СОСТОЯНИЯ СОННОГО АПНОЭ	
Меркулова О.В.	394
КОНЬЮГАТЫ АНТИБИОТИКОВ С НАНОЧАСТИЦАМИ ЗОЛОТА И ИХ АНТИМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА	
Бурыгин Г.Л., Хлебцов Н.Г.	395
АНАЛИЗ ПРОМОТОРНОЙ ОБЛАСТЕЙ ГЕНА IL-6 У БОЛЬНЫХ С ПОСТПЕРИКАРДИОТОМНЫМ СИНДРОМОМ	
Рунов А.Л., Вонский М.С., Накацева Е.В., Моисеева О.М.	396
СИСТЕМА ПРОТОЧНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА - ПРОБРАЗ АВТОМАТИЧЕСКОГО АНАЛИЗАТОРА БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ	
Соломадин И.Н.	396
МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОРГАНОВ	
Попова А.П.	397
ОСОБЕННОСТИ РАЗРАБОТКИ И ТЕХНОЛОГИИ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ИНДУКТОРОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕРВНО-МЫШЕЧНОЙ СИСТЕМЫ	
Сорочинский А.А.	398
ТЕХНОЛОГИЯ ПРИМЕНЕНИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ ДЛЯ САНИТАРНО-ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ОЧИСТКИ ВОДЫ	
Астафьева О.В., Сухенко Л.Т.	398
МЕТОД ПОЛЯРИЗАЦИОННОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ИММУНОАНАЛИЗА - НОВЫЙ ЭКСПРЕСС-МЕТОД ДИАГНОСТИКИ ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА С	
Шарышев А.А., Алимбарова Л.М., Баженов А.И., Шибнев В.А.	399
ИННОВАЦИОННЫЙ ПОДХОД К СОЗДАНИЮ И ИЗУЧЕНИЮ СВОЙСТВ НАНОПОКРЫТИЙ	
Крючков М.В., Катанаев В.Л., Енин Г.А., Сергеев А.А., Тимченко А.А., Сердюк И.Н.	400

ПРИМЕНЕНИЕ ИМПЕДАНСОМЕТРИИ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ ГЕМОДИНАМИКИ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА Романенко С.В., Сивашев М.С.	400
БАКТЕРИАЛЬНЫЕ АССОЦИАЦИИ СЕРООКИСЛЯЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ - БИОАГЕНТЫ ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИИ ОБЕССЕРИВАНИЯ СЫРОЙ НЕФТИ Хасанова Л.М., Перушкина Е.В., Садыкова З.О., Сироткин А.С.	401
ИНАКТИВАЦИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА ПОВЕРХНОСТИ ФОТОИНДУЦИРОВАННЫХ TiO ₂ -ПЛЁНОК Голубева И.С., Плескова С.Н., Чижов Н.А., Фролова Н.А.	402
НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ ДЫХАНИЯ МИТОХОНДРИЙ ЛЕТАТЕЛЬНЫХ МЫШЦ ШМЕЛЯ <i>BOMBUS TERRESTRIS</i> (L.) Сыромятников М.Ю., Горбачева Т.М., Лопатин А.В., Попов В.Н.	402
РАСЧЕТ ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ДВУХ ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ СТАДИЙ РЕАКЦИИ ФИШЕРА ПОЛУЧЕНИЯ РЯДА КОНФОРМАЦИОННО ОГРАНИЧЕННЫХ АНАЛОГОВ МЕЛАТОНИНА Давыдова И.Б.	403
ОЦЕНКА ТОЧНОСТИ РЕГИСТРАТОРОВ СЛАБЫХ НИЗКОЧАСТОТНЫХ СИГНАЛОВ НА ОСНОВЕ СИГМА-ДЕЛЬТА АЦП ДЛЯ БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ Гомов Е.Е., Казанцев А.П.	403
ОСОБЕННОСТИ РАЗРАБОТКИ И ТЕХНОЛОГИИ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ИНДУКТОРОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕРВНО-МЫШЕЧНОЙ СИСТЕМЫ Сорочинский А.А., Старченко И.Б.	404
ДЕТЕКЦИЯ СТАФИЛОКОККОВОГО ЭНТЕРОТОКСИНА А С ПОМОЩЬЮ ИММУНО-ПЦР В ВАРИАНТЕ ФАГОВОГО ДИСПЛЕЯ МИНИАНТИТЕЛ Фурсова К.К., Макеев В.Н.	405
СЕКЦИЯ «Фотобиология и физиология растений» КАК ФОТОТРОФЫ ЗАЩИЩАЮТСЯ ОТ СИНГЛЕТНО-ВОЗБУЖДЕННОГО КИСЛОРОДА Проскураков И.И.	406
ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ И ПРОДУКТИВНОСТЬ РАСТЕНИЙ САЛАТА ПРИ ОСВЕЩЕНИИ СВЕТОДИОДАМИ С РАЗНЫМ СПЕКТРОМ ИСПУСКАНИЯ Аверчева О.В., Птушенко В.В., Таранов Е.А., Быкова Е.А.	406
ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ЛИПИДОВ В МУЖСКИХ СОЦВЕТИЯХ РОДА <i>VETULA</i> L. В ВЕСЕННИЙ ПЕРИОД Серебрякова О.С.	407
24-ЭПИБРАССИНОЛИД РЕГУЛИРУЕТ ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА ЦИТОКИНИНОКСИДАЗЫ В РАСТЕНИЯХ ПШЕНИЦЫ В НОРМЕ И ПРИ ЗАСОЛЕНИИ Сомов К.А., Юлдашев Р.А., Авальбаев А.М.	407
ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ТРАНСКРИПЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ TADHN ГЕНА ДЕГИДРИНА ПШЕНИЦЫ Ключникова Е.О., Аллагулова Ч.Р.	408
ВЛИЯНИЕ ПИРРОЛО[4,3-D]ПИРИМИДИН-2,5-ДИОНОВ НА ПРОРАСТАНИЕ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР Лебедева И.А., Повстяной М.В., Повстяной В.М.	408
СТРАТЕГИЯ АДАПТАЦИИ СЕЯНЦЕВ <i>PINUS SYLVESTRIS</i> L. ПРИ ДЕЙСТВИИ ИЗБЫТОЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ЦИНКА Савочкин Ю.В., Иванов Ю.В.	409
СЕЯНЦЫ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ КАК ИНДИКАТОР ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ЦИНКА	

Савочкин Ю.В., Иванов Ю.В.	409
РОЛЬ ЭПИБРАССИНОЛИДА В РАЗВИТИИ ЭТИОЛИРОВАННЫХ ПРОРОСТКОВ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> Елисеева М.А, Ефимова М.В.....	410
АНАЛИЗ ОБРАЗОВАНИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В РАСТЕНИЯХ ПРИ ИХ КОЛОНИЗАЦИИ АССОЦИАТИВНЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ Ветошкина Д.В., Пиголева С.В., Захарченко Н.С., Чепурнова М.А., Лебедева А.А., Ермошин А.А., Бурьянов Я.И.	411
ГЕНЫ UNIFOLIATA И TENDRILLED ACACIA-A УЧАСТВУЮТ В ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ СЛОЖНОГО ЛИСТА У ГОРОХА <i>PISUM SATIVUM L.</i> Синюшин А.А., Зеленев А.Н.....	411
ВЛИЯНИЕ ПРОЛИНА НА АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ <i>THELLUNGIELLA SALSUGINEA</i> Сошинкова Т.Н., Королькова Д.В.....	412
ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ЗАВИСИМОСТИ МЕЖДУ ФОТОСИСТЕМАМИ В ХОДЕ СИНХРОННОГО ИЗМЕРЕНИЯ ИНДУКЦИИ БЫСТРОЙ И ЗАМЕДЛЕННОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ Патрин М.М.	413
ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ПРОИЗРАСТАНИЯ И ФЕНОФАЗЫ НА СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛОВ В ЛИСТЯХ БРУСНИКИ Березина Е.В., Хусаинова М.Ф.	413
ОБРАЗОВАНИЕ АУТОФАГОСОМ В КЛЕТКАХ КОРНЕЙ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ СТЕРИНОВОГО ИСТОЩЕНИЯ Сулкарнаева А.Г., Пономарева А.А., Ишемгулова А.В., Рябовол В.В., Валитова Ю.Н., Миннибаева Ф.В.....	414
ДЕЙСТВИЕ NI НА РОСТ РАСТЕНИЙ-ГИПЕРАККУМУЛЯТОРОВ И ИСКЛЮЧАТЕЛЕЙ ИЗ РОДА <i>ALYSSUM L.</i> Бакланов И.А.	414
ОСОБЕННОСТИ ТКАНЕВОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ NI В РАСТЕНИЯХ-ГИПЕРАККУМУЛЯТОРАХ И ИСКЛЮЧАТЕЛЯХ ИЗ РОДА <i>ALYSSUM L.</i> Бакланов И.А.	415
ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГАЛОТОЛЕРАНТНЫХ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ КАК СТИМУЛЯТОРА РОСТА РАСТЕНИЙ Шаравин Д.Ю., Ковалевская Н.П.....	416
ИМПУЛЬСНО-МОДУЛИРОВАННАЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИЯ ХЛОРОФИЛЛА ЛИСТЬЕВ И ВОЗРАСТ ДЕРЕВЬЕВ Калачёва Н.В., Н.В. Тарасова Н.В., Кашулин П.А.	416
ФИТОРЕМЕДИАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ГИБРИДОВ РОДА <i>AMARANTHUS</i> : АНТАГОНИЗМ НИКЕЛЯ И ЖЕЛЕЗА Черемисина А. И.....	417
СРАВНЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ У КЛЮКВЫ БОЛОТНОЙ И КРУПНОПЛОДНОЙ ЗА ДВА ВЕГЕТАЦИОННЫХ ПЕРИОДА Хусаинова М.Ф., Березина Е.В.	418
РЕАКЦИЯ <i>TILIA CORDATA</i> И <i>MALANTHEMUM BIFOLIUM</i> НА РАДИАЦИОННОЕ ЗАГРЯЗНЕНИЕ Чурюкин Р.С., Горшкова Т.А.	418
АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ <i>CLE</i> В НОРМЕ И ПРИ ОТВЕТЕ НА ЦИТОКИНИН У ОПУХОЛЕОБРАЗУЮЩИХ И БЕЗОПУХОЛЕВЫХ ЛИНИЙ РЕДИСА Юрлова Е.В., Додуева И.Е.....	419

ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ КАДМИЯ НА ПРОРОСТКИ ПШЕНИЦЫ Репкина Н.С., Таланова В. В., Топчиева Л. В.	419
ВОЗДЕЙСТВИЕ ИМПУЛЬСНОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС ХЛОРОПЛАСТОВ ГОРОХА Кальясова Е.А., Яшина Е.С.	420
ДЕЙСТВИЕ ИНГИБИТОРОВ КАРБОАНГИДРАЗ НА КАРБОАНГИДРАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ БЕЛКОВ ФОТОСИСТЕМЫ 2 ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ Шитов А.В., Побегуц О.В., Смолова Т.Н., Климов В.В., Аллахвердиев С.И.	420
ВЛИЯНИЕ Mn -БИКАРБОНАТНЫХ КОМПЛЕКСОВ НА ТЕМНОВОЕ РЕВОССТАНОВЛЕНИЕ ФОТООКИСЛЕННЫХ РЕАКЦИОННЫХ ЦЕНТРОВ ТИПА II ИЗ АНОКСИГЕННЫХ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ: <i>RHODOBACTER SPHAEROIDES</i> R-26, <i>CHROMATIUM MINUTISSIMUM</i> И <i>CHLOROFLEXUS AURANTIACUS</i> Терентьев В.В., Шкуропатов А.Я., Шкуропатова В.А., Шувалов В.А., Климов В.В.	421
ИЗУЧЕНИЕ АДСОРБЦИИ H^+ И OH^- ИОНОВ НА ХЛОРОФИЛЛЕ МЕТОДОМ ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКОГО ТИТРОВАНИЯ Васильева Д.В., Петрова С.А., Хомутова О.С., Чухно А.С, Дмитриева И.Б.	421
ВЛИЯНИЕ КАДМИЯ И ЦИНКА НА РОСТ И ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ <i>SINAPIS ALBA</i> Смирнова Ю.В., Курамшина З.М., Хайруллин Р.М., Зарипова Л.Р.	422
ВЫЯСНЕНИЕ РОЛИ МЕМБРАННЫХ РЕЦЕПТОРОВ ЦИТОКИНИНА В РЕГУЛЯЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ ХЛОРОПЛАСТНЫХ ГЕНОВ Данилова М.Н., Кудрякова Н.В.	423
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЭТИЛЕНА И ЦИТОКИНИНОВ В РЕГУЛЯЦИИ РОСТА ПОБЕГА И КОРНЕЙ И СООТНОШЕНИЯ ИХ МАССЫ РАСТЕНИЙ АРАБИДОПСИСА Васинская А.Н., Коробова А.В.	423
ВЛИЯНИЕ РАЗНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ КАДМИЯ ($CdCl_2$) В ПОЧВЕ НА НАКОПЛЕНИЕ АНТИОКСИДАНТОВ В РАСТЕНИЯХ ИЗ СЕМЕЙСТВА ЗЛАКОВ Масленников П.В, Фролов Е.М.	424
СОДЕРЖАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ В ЛИСТЬЯХ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ СОРТОВ РИСА Ладатко В.А., Ладатко М.А., Ладатко Н.А.	424
ВСТРАИВАНИЕ КАРОТИНОИДОВ В СВЕТОСОБИРАЮЩИЕ КОМПЛЕКСЫ ИЗ <i>ECTOTHIORHODOSPIRA HALOALKALIPHILA</i> Ашихмин А.А.	425
ИНДУКЦИЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА ЛИСТЬЕВ ХЛОПЧАТНИКА, ВЫРАЩЕННОГО В УСЛОВИЯХ ВОДНОГО И СОЛЕВОГО СТРЕССА Агишев В.С., Джолдасова К.Б.	426
ОБРАЗОВАНИЕ СУПЕРОКСИДНОГО АНИОН-РАДИКАЛА ВНУТРИ ТИЛАКОИДНОЙ МЕМБРАНЫ ПРИ ВОССТАНОВЛЕНИИ КИСЛОРОДА В ХЛОРОПЛАСТАХ Козулева М.А.	426
ВЛИЯНИЕ 2,4,6-ТРИНИТРОТОЛУОЛА НА РАЗВИТИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК <i>FAGOPYRUM TATARICUM</i> (L.) GAERTN Науменко Е.А., Сибгатуллина Г.В., Наумова Р.П.	427
РОЛЬ АКВАПОРИНОВ В ТРАНСПОРТЕ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА И ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА В ХЛОРОПЛАСТАХ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ Мубаракшина М.М.	428

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АММОНИЙНОГО АЗОТА В ОСЕННИЙ ПЕРИОД ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ Ходаницкий В.К., Швартау В.В.	428
РОЛЬ ФОСФОРА И СЕРЫ ПРИ ВНЕКОРНЕВОЙ ОБРАБОТКЕ РАСТЕНИЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ Сандецкая Н.В., Михальская Л.Н., Швартау В.В.	429
ХИМИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ ПИГМЕНТОВ КОМПЛЕКСА ЯДРА ФОТОСИСТЕМЫ 2 ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ Вишнёв М.И., Шкуропатова В.А.	429
РЕГУЛЯТОРНАЯ РОЛЬ ЭПИБРАССИНОЛИДА В ТЕМНОТЕ И НА СЕЛЕКТИВНОМ СВЕТУ Ковтун И.С.	430
АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА РАЙОНИРОВАННЫХ СОРТОВ РИСА ПРИМОРСКОГО КРАЯ Цой Е.А., Жукова Н.И.	430
ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ УГЛЕВОДОВ В РАСТЕНИЯХ В РАЗНЫХ УСЛОВИЯХ ПРОИЗРАСТАНИЯ Никитина Е.В.	431
ВЗАИМОСВЯЗЬ АТТРАГИРУЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ КОЛОСА И ИНТЕНСИВНОСТИ ФОТОСИНТЕЗА У РАСТЕНИЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ Крупа Н.Н., Киризий Д.А.	432
ВЛИЯНИЕ ВНЕКОРНЕВОЙ ОБРАБОТКИ ЯНТАРНОЙ КИСЛОТОЙ НА РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ ПРИ АДАПТАЦИИ В УСЛОВИЯХ EX VITRO Красинская Т.А.	432

ПУЩИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Лицензия № 0428

Государственная аккредитация № 0793

Пуштинский государственный университет (ПушГУ) - первый отечественный университет, созданный на базе академических институтов естественнонаучного профиля Российской Академии наук. Создание университета такого типа является уникальным экспериментом и олицетворяет идею сближения экспериментальной и теоретической науки с процессом обучения и подготовки высококвалифицированных и эрудированных специалистов.

Университет организован Постановлением Правительства Российской Федерации от 29 октября 1992 года по предложению Российской академии наук и Комитета по высшей школе Министерства науки, высшей школы и технической политики России. С 2006 года по настоящее время ректором университета является доктор биологических наук, профессор Михаил Борисович Вайнштейн.

В образовательном процессе ежегодно принимают участие до 150 преподавателей – сотрудников институтов ПНЦ РАН, среди них члены-корреспонденты, профессора, доктора и кандидаты наук.

В формировании многих приоритетных направлений подготовки магистров в области естественных наук ПушГУ является первым и единственным вузом в России. С учетом опыта зарубежных стран, ПушГУ удается готовить высокопрофессиональные кадры на уровне, соответствующем мировым стандартам. Именно поэтому с ПушГУ охотно поддерживают и развивают постоянные связи учебные заведения США, Германии и других стран.

Высокий уровень языковой и профессиональной подготовки магистрантов и аспирантов университета позволяет им активно участвовать в научно-исследовательских и образовательных программах, осуществляемых такими организациями как IREX (Совет по международным исследованиям и обменов), институт «Открытое общество» (Фонд Сороса), DAAD (Немецкая служба академических обменов).

Образовательный формат	Магистратура (2 года) - аспирантура (3 года). Разработано 200 авторских курсов для 13 магистерских программ
Численный состав студентов магистратуры	До 80 студентов магистратуры и до 12 аспирантов на курсе
Число преподавателей	до 150, в том числе – 40% преподавателей - доктора наук, 58% - кандидаты наук
Научно-образовательная база ПушГУ	9 институтов Пуштинского научного центра РАН.
Стоимость научного оборудования институтов ПНЦ РАН, привлекаемого для учебно-научной работы ПушГУ	около 1.5 млрд. руб.
Число подготовленных специалистов, в т.ч.:	Магистров (800 чел.), аспирантов (270 чел.) За последние три года доля аспирантов защитивших в срок кандидатские диссертации достигает 90%

Контакты Пуштинского государственного университета:

Почтовый адрес: 142290, г. Пушкино Московской области, проспект Науки, дом 3

Телефон приемной комиссии: 8 (4967) 73-24-58

Факс: 8 (4967) 73-27-11

E-mail: nir_pushgu@itaec.ru

Сайт: www.pushgu.ru.

Предварительная регистрация абитуриентов – кнопка на сайте университета On-line

Регистрация или по ссылке: http://www.pushgu.ru/reg_magistr.html

Учебно-образовательная структура ПушГУ

Учебные центры (УЦ)	Магистерские программы	Специальность аспирантуры
Направление 010500 Прикладная математика и информатика		
УЦ математической биологии на базе Института математических проблем биологии РАН	Математическое моделирование	математическое моделирование, численные методы и комплексы программ
Направление 010700 Физика		
УЦ астрофизики и радиоастрономии на базе Пушинской Радиоастрономической обсерватории Физического института им. П.Н.Лебедева РАН	Астрофизика. Физика космических излучений и космоса	Астрофизика и звездная астрономия
Направление 020200 Биология		
УЦ микробиологии и биотехнологии на базе Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.Скрябина РАН	Микробиология и биотехнология	Молекулярная биология Биохимия Микробиология Генетика Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)
УЦ физико-химической биологии и биотехнологии на базе Института биоорганической химии им. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН	Физико-химическая биология и биотехнология	Молекулярная биология Биохимия Биотехнология (в том числе бионанотехнологии) Фармакология, клиническая фармакология
УЦ биологии клетки на базе Института биофизики клетки РАН	Биология клетки	Биофизика Биохимия
УЦ биофизики и биомедицины на базе Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН	Биофизика Медико-биологические науки	Радиобиология Биофизика Физиология
УЦ нанобиобезопасности на базе Государственного научного центра прикладной микробиологии и биотехнологии.	Нанобиобезопасность	Микробиология Биохимия Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)
Направление 020700 Почвоведение		
Направление 020800 Экология и природопользование		
УЦ почвоведения, экологии и природопользования на базе Института физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН	Экология (направление Биология) Экология почв (направление Почвоведение) Общая экология (направление Экология и природопользование) Функциональная экология (направление Экология и природопользование)	Биохимия Экология Почвоведение
Направление 200300 Биомедицинская инженерия		
УЦ биомедицинской инженерии на базе института биологического приборостроения РАН	Биомедицинские измерительные информационные системы и технологии	Приборы, системы и изделия медицинского назначения



Компания «Русбиолинк» является поставщиком на российский и европейский рынок научного оборудования, реагентов для молекулярной биологии, органической химии, антител и расходных материалов. Кроме этого, мы оказываем такие услуги, как организуем контрактные работы, консультируем, оказываем содействие в коммерциализации продуктов и услуг наших клиентов.

Мы ориентированы на высокотехнологичные товары и услуги с наилучшим соотношением эффективности, качества и цены. Наши поставщики - лидеры рынка и перспективные компании, которые предлагают высококачественные продукты и услуги, как уникальные, так и широко распространенные, но с отличным соотношением цены и качества.

«Русбиолинк» работает с 2004 года. Наш офис находится в Москве, но мы работаем по всей стране, в чем нам помогают представители и партнеры в центрах российской биологической науки: Санкт-Петербурге, Новосибирске и Владивостоке. Наше кредо в работе с клиентами - тесное сотрудничество, опирающееся на компетентность и дружелюбие.

Надеемся, что и Вы в ближайшем будущем сумеете по достоинству оценить наши предложения! Полный ассортимент наших товаров Вы можете найти на сайте www.rusbiolink.com

РУСБИОЛИНК

г. Москва, Каширское ш., д. 22, корп. 3, стр. 2, оф. 606

тел: (499) 502-0470, (495) 727-4435

mail@rusbiolink.com



Компания ХЕЛИКОН

ВСЕ ДЛЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ

КОМПЛЕКСНОЕ ОСНАЩЕНИЕ ЛАБОРАТОРИЙ

Оборудование

для:

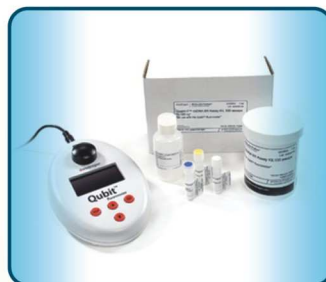
- ▶ ПЦР
- ▶ Пробоподготовки
- ▶ Центрифугирования
- ▶ Анализа нуклеотидных последовательностей
- ▶ Клонирования
- ▶ Иммуно-ферментного анализа
- ▶ Общелабораторное оборудование



Реактивы

для:

- ▶ Электрофореза
- ▶ Клонирования
- ▶ Трансфекции
- ▶ Культуральных работ
- ▶ Вторичной детекции
- ▶ Рестрикции и модификации нуклеиновых кислот
- ▶ Выделения и очистки нуклеиновых кислот



Пластик

для:

- ▶ ПЦР
- ▶ ИФА
- ▶ Культуральных работ



119992, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 40 МГУ им. М. В. Ломоносова

Телефон (495) **933-2736**; факс: (495) **930-0084**, mail@helicon.ru, www.helicon.ru

Представительство в **НОВОСИБИРСКЕ**: 630128 г. Новосибирск, ул. Демакова, 23, оф. 201, тел.: (383) 214-60-82, факс: (383) 217-43-89, e-mail: novosibirsk@helicon.ru

Представительство в **САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ**: 195220 г. Санкт-Петербург, ул. Гжатская, 27 А, оф. 245, тел./факс: (812) 248-91-30, e-mail: spb@helicon.ru



1