

Материалы XVIII международной
научной конференции

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ И ХИМИИ



БФФХ - 2023



СЕВАСТОПОЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ



СЕВАСТОПОЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

СЕВАСТОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ М.В. ЛОМОНОСОВА

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ
БИОЛОГИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ И ХИМИИ**

БФФХ – 2023

*Материалы XVIII международной научной конференции
г. Севастополь, 11-15 сентября 2023 г.*

**MODERN TRENDS IN BIOLOGICAL PHYSICS AND CHEMISTRY
BPPC – 2023**

*Proceedings of XVIII International Scientific Conference
Sevastopol, 11-15 of September, 2023*

Севастополь 2023

УДК 577.113:541.49

ББК

28.07

28.07 Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ-2023: материалы XVIII международной научной конференции, г. Севастополь, 11-15 сентября 2023 г. – Севастополь, 2023. – 134 с.

Сборник материалов составлен по итогам XVIII международной научной конференции «Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ-2023», организованной совместно Севастопольским государственным университетом и Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова с 11 по 15 сентября 2023 г. в Севастополе.

В сборнике приведены материалы научных работ, посвященных актуальным вопросам общей и молекулярной биофизики, моделирования в биофизике, биоинформатике, медицинской биофизике, биофизической химии, биофизической экологии и биологических ресурсов.

Издание рассчитано на научных работников, аспирантов, студентов.

Modern Trends in Biological Physics and Chemistry. BPPC-2023: proceedings of XVIII International Scientific Conference, Sevastopol, 11-15 of September, 2023. – Sevastopol, 2023. – 134 p.

The proceedings is a compilation of the reports of XVIII International scientific conference "Modern Trends in Biological Physics and Chemistry. BPPC-2023", organized by Sevastopol State University and Lomonosov Moscow State University 11-15 of September, 2023 in Sevastopol.

The proceedings contains materials of research papers, devoted to modern trends in general and molecular biophysics, modeling in biophysics, bioinformatics, medical biophysics, biophysical chemistry, biophysical ecology and biological resources..

The publication is intended for scientists, postgraduate, students.

ПРОГРАММНЫЙ КОМИТЕТ:

Евстигнеев Максим Павлович, проректор по научной деятельности СевГУ, профессор, д.ф.-м.н. – сопредседатель;

Твердислов Всеволод Александрович, заведующий кафедрой биофизики физического факультета МГУ, профессор, д.ф.-м.н. – сопредседатель;

Артюхов Валерий Григорьевич, заведующий кафедрой, профессор, д.б.н. (Воронежский государственный университет, г. Воронеж);

Бержанский Владимир Наумович, заведующий кафедрой, д.ф.-м.н. (Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского, г. Симферополь);

Заседателев Александр Сергеевич, профессор (Институт молекулярной биологии РАН, г. Москва);

Нечипуренко Юрий Дмитриевич, д.ф.-м.н., в.н.с. (Институт молекулярной биологии РАН, г. Москва);

Ризниченко Галина Юрьевна, профессор (Московский государственный университет, г. Москва);

Рууге Энно Куставич, профессор (ФГБУ «НМИЦ Кардиологии» Минздрава России, г. Москва);

Тихонов Александр Николаевич, профессор (Московский государственный университет, г. Москва);

Эрнандес Сантьяго Адриан Аполинар, д-р философии (Автономный университет, г. Пуэбла, Мексика);

Яковенко Леонид Владимирович, профессор (Московский государственный университет, г. Москва).

PROGRAM COMMITTEE:

Evstigneev M.P., Vice-rector for Scientific Activity, Professor, Ph.D. (Sevastopol State University) – co-Chairman;

Tverdislov V.A., Head of the Department of Biophysics, Faculty of Physics, Professor, Ph.D. (Moscow State University) – co-Chairman;

Artyuhov V.G., Head of Department, Professor, Ph.D. (Voronezh State University, Voronezh);

Berzhansky V.N., Head of Department (V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol);

Hernandez Santiago A.A., Ph.D. (Autonomous University, Puebla, Mexico);

Nechipurenko Yu.D., Ph.D., Senior Researcher (Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow);

Riznichenko G.Yu., Professor, Ph.D. (Moscow State University);

Ruuge E.K., Professor, Ph.D. (Moscow State University);

Tikhonov A.N., Professor, Ph.D. (Moscow State University);

Yakovenko L.V., Professor, Ph.D. (Moscow State University);

Zasedatelev A.S., Professor, (Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow).

СОДЕРЖАНИЕ

СЕКЦИЯ 1. ОБЩАЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОФИЗИКА

| | |
|---|----|
| Г.А. Агаева, У.Т. Агаева, Н.М. Годжаев Особенности конформационного поведения и электронной структуры противоопухолевого агента TYR-SER-LEU | 12 |
| Г.А. Агаева, Г.З. Наджафова Молекулярное моделирование конформационных свойств и электронных параметров бета-амилоидного пептида (25-35)..... | 13 |
| Д.А. Артамонова, Н.А. Касьяненко Формирование и изучение многокомпонентных систем, содержащих биологически активные агенты, спектральными и гидродинамическими методами | 14 |
| Е.Д. Борисова, А.А. Аносов, Е.А. Корепанова, Е.Ю. Смирнова Влияние цитохрома С на проводимость бислойных липидных мембран и формирование проводящих пор | 15 |
| Н.А. Верлов, В.С. Бурдаков, И.А. Кулаков Получение радиорезистентной популяции клеток СТ26 и их характеристика | 16 |
| И.Р. Галль, Т.Э. Кулешова, Л.Н. Галль Две формы структурирования воды в протоплазме живых клеток и их роль в биоэнергетике..... | 16 |
| Ю.Е. Горшкова, Е.В. Кравченко, А.Ф. Низамиева Изучение взаимодействия радиопротекторного ДНК-связывающегося белка Dsup с модельной ДНК методами малоуглового рассеяния и атомно-силовой микроскопии..... | 17 |
| Е.А. Гребнева Интерпретация горячих пятен ультрафиолетового мутагенеза, образующихся на запаздывающей нити двухцепочечной ДНК гена <i>supF</i> | 18 |
| В.В. Коваленко, Н.Г. Лойко, К.Б. Терёшкина, Э.В. Терёшкин, Ю.Ф. Крупянский Структура внутриклеточного кристалла бактериальной ДНК с гистонотипным белком DPS..... | 19 |
| Н.К. Кочарли, С.Т. Гумматова Роль оксида азота при действии УФ-В излучения на клетки дрожжей..... | 20 |
| Т.Э. Кулешова, П.В. Желначева, З.А. Гасиева, А.С. Галушко, Г.Г. Панова Поиск потенциалобразующих ионов в питательном растворе биоэлектростимулирующей системы | 21 |
| М.С. Лавлинская, Д.А. Файзуллин, С.С. Гончарова, М.С. Кондратьев, А.В. Сорокин, М.Г. Холявка, Ю.Ф. Зуев, В.Г. Артюхов Новые биокатализаторы на основе бромелина, иммобилизованного на функционизированных хитозанах, и исследование их структурных особенностей..... | 22 |
| Д.А. Никитин, Н.А. Касьяненко Комплексы железа (III) с катехином и их взаимодействие с ДНК..... | 23 |
| В.В. Новиков, Е.В. Яблокова, И.А. Шаев, Н.И. Новикова, Е.Е. Фесенко Сравнительный анализ ингибирующих эффектов гипомангнетного поля и комбинированных магнитных полей на продукцию активных форм кислорода (АФК) нейтрофилами..... | 24 |
| М.В. Новождён, В.А. Твердислов О сопряжении симметрии и энергетических преобразований молекулярных машинах | 25 |

| | |
|---|----|
| А.Г. Погорелов, Л.Г. Ипатова, А.И. Панайт, А.А. Станкевич, А.А. Погорелова, О.А. Суворов Устойчивость коллоидов на основе электрохимически активированного водного раствора..... | 26 |
| А.Ю. Поплавская, В.С. Клочкова, А.С. Лелеков Исследование роста и продукции фотосинтетических пигментов в культуре <i>Phaeodactylum tricornutum</i> Bohlin | 27 |
| В.В. Рощина Применение микроспектрофлуориметра /микроспектрофотометра для исследования поверхности растительных клеток..... | 28 |
| Е.В. Сергеева, А.В. Кузнецов Действие ультразвука и кавитации на адгезию <i>Trichoplax adhaerens</i> и <i>Trichoplax</i> sp. H2 | 29 |
| А.В. Сорокин, Д.А. Файзуллин, С.С. Гончарова, М.С. Кондратьев, М.С. Лавлинская, М.Г. Холявка, Ю.Ф. Зувев, В.Г. Артюхов Межмолекулярные взаимодействия папаиноподобных протеаз с карбоксиметилцеллюлозой и ее привитыми сополимерами | 30 |
| М.А. Суслов, Д.В. Егоров, А.Г. Даминова, А.В. Анисимов, Д.В. Самигуллин, А.Р. Мустафина, С.В. Федоренко, О.Д. Бочкова Использование парамагнитных флуоресцентных наночастиц и метода спин-эхо ЯМР для комплексного исследования транспорта воды в корнях интактных растений..... | 31 |
| К.А. Теплухина, В.Н. Демидов, Н.А. Касьяненко Взаимодействие молекулы ДНК с координационными соединениями иридия рутения | 31 |
| Н.Н. Тимченко, Е.В. Шупова Состояние гемоглобина после замораживания-оттаивания с глицерином..... | 32 |
| С.Ю. Тихонов, И.С. Хавронюк, Д.П. Воронин, А.В. Кузнецов Цветовые предпочтения самок и самцов гуппи <i>Poecilia reticulata</i> : поведение в раскрашенных каналах, реакция на светодиоды и лазеры | 33 |
| Е.В. Федотова, С.В. Пастон Взаимодействие сывороточного альбумина человека с катехином и ионами кобальта (II) | 35 |
| Д.Н. Чернышев, В.С. Клочкова, А.С. Лелеков, Е.С. Серяк Декомпозиция спектра поглощения ацетонового экстракта микроводоросли <i>Arthrospira (Spirulina) platensis</i> north. Geitl | 36 |
| Г.А. Шабанов, А.А. Рыбченко, Е.А. Луговая Модель построения системы координат «схема тела» на основе спектрального анализа акустоэнцефалограммы | 37 |
| М.П. Шатица, В.Н. Демидов, Н.А. Касьяненко Конформационные изменения ДНК при связывании с соединениями марганца, содержащими фенантролиновые лиганды | 38 |
| Д.М. Шумейко, В.С. Клочкова, А.С. Лелеков Размерная структура клеток накопительной культуры <i>Porphyridium purpureum</i> (boyu) ross | 39 |
| А.А. Шутиков, Г.М. Арзуманян, К.З. Маматкулов, Е. Арынбек, Д.С. Закрытная Анализ вторичной структуры пептида A β (1-42) в области амид I методом спектроскопии комбинационного рассеяния | 40 |

СЕКЦИЯ 2. МОДЕЛИРОВАНИЕ В БИОФИЗИКЕ И БИОИНФОРМАТИКА

| | |
|---|----|
| Л.Н. Агаева, А.А. Абдинова, С.Р. Ахмедова, Н.Ф. Ахмедов, Н.А. Ахмедов Теоретический конформационный анализ молекул лактоферроксинов..... | 41 |
| С.В. Аксенова, А.С. Батова, А.Н. Бугай, Э.Б. Душанов Моделирование глутаматных рецепторов гиппокампа при оксидативном стрессе | 42 |
| А.А. Алексеев Валидация эмпирической модели скорости хлоропластной АТФ-синтазы для разных рН стромы и люмена | 43 |
| А.А. Алексеев Мультифазная численная модель кривой дожития: построение и валидация на данных human mortality database | 44 |
| М.А. Аристархов, А.И. Дергилев, В.Н. Бабенко, Ю.Л. Орлов Веб-сервисы для предсказания мишеней микроРНК с помощью нейронных сетей..... | 45 |
| Н.А. Ахмедов, Л.Н. Агаева, Л.И. Исмаилова Трехмерная структура молекул сойморфинов | 46 |
| Н.Е. Беляева, А.А. Булычев, В.З. Пащенко, Г.Ю. Ризниченко, А.Б. Рубин Возможности количественного анализа длительных сигналов индукции флуоресценции и P700 редокс превращений с учетом переходов состояний для изучения процессов тилакоидных мембран водоросли и цианобактерии | 47 |
| А.С. Бескудрова, А.А. Пантелеев, В.В. Шинин, Н.Т. Левашова, А.Э. Сидорова Моделирование клеточной динамики в эпидермисе кожи человека | 48 |
| А.В. Брильков, Е.В. Брилькова, И.В. Жабрун, В.В. Ганусов, Ю.Ю. Логинов, А.Н. Шуваев Математическое моделирование экспериментальной эволюции трансгенных бактерий: «плазмидный парадокс» | 49 |
| В.С. Быстров, С.В. Филиппов, И.В. Лихачев, О.Р. Леденева, Е.В. Белова Моделирование и компьютерное исследование хиральных свойств пептидных нанотрубок на основе дилейцина и диизолейцина | 49 |
| Е.О. Василенко, С.А. Козин, В.А. Митькевич, Ю.Д. Нечипуренко Термодинамическая модель, описывающая равновесное распределение белковых агрегатов на матрице по размерам | 50 |
| Н.И. Воробьев, Я.В. Пухальский Нейросетевой анализ влияния внешних биотических и абиотических факторов на развитие микрозелени в системе защищенного грунта | 51 |
| В.В. Галанин, В.В. Бондаренко, К.А. Адыширин-заде Методы подобия в математической модели синхронизации электрической активности биологических нейронов | 52 |
| Е.Б. Гусарова, Н.А. Ковалева Плавление двойной спирали ДНК с участком последовательности с парами, опосредованными ионами серебра | 53 |
| А.Г. Дегерменджи, А.В. Брильков ГМО: Экспериментальная эволюция и проблемы безопасности..... | 54 |
| С.Д. Демухамедова, Г.А. Ахвердиева Молекулярное моделирование N ¹ H таутомера цвиттериона карнозина методом DFT | 54 |
| С.Ю. Иванова, С.А. Царин, М.А. Савицкий, А.С. Суглобов, А.В. Кузнецов Анализ рыб с секвенированными геномами из Кунсткамеры ИнБИОМ | 55 |

| | |
|--|----|
| С.Ю. Иванова, С.А. Царин, А.В. Сергеева, А.Б. Ершов, А.В. Кузнецов К вопросу о секвенировании геномов рыб севавтопольского аквариума | 56 |
| Л.А. Ивонцин, Е.В. Машковцева, Я.Р. Нарциссов Молекулярно-динамическое моделирование протонных полуканалов АТФ-синтазы в различных типах мембран..... | 58 |
| Л.И. Исмаилова, Н.А. Ахмедов Структурная организация глипролиновой гексапептидной молекулы | 59 |
| А.М. Каргатов Встречаемость петли уолкера и конформационно идентичных петель в структурных элементах А/В-белков | 60 |
| А.И. Ковалёв, К.В. Пузановский Анализ устойчивости в моделировании эволюционных процессов..... | 61 |
| И.Н. Левченко, Г.К. Владимиров, И.В. Володяев Изучение микровязкости мембраны в окружении зонда активированной кумарином С-334 хемилюминесценции под действием комплекса цитохрома С с кардиолипином | 62 |
| О.Р. Леденева, Е.В. Белова, В.С. Быстров Компьютерное моделирование структуры и физических свойств пептидных нанотрубок..... | 62 |
| И.И. Леонов, А.А. Иванова, Е.Ю. Симоненко Транспорт глицерина через мембрану сперматозоида человека при криоконсервации..... | 63 |
| Е.А. Лесовая, О.Г. Садыкова, П.Н. Лобачевский Моделирование динамики гетерогенной опухоли. влияние облучения протонами отдельно и в сочетании с ингибитором синтеза ДНК – AraC | 65 |
| Г.И. Макаров, Т.М. Макарова Молекулярно-динамическое исследование действия лидерного пептида SecM на рибосому <i>E. coli</i> | 65 |
| Т.М. Макарова Изучение сети аллостерических взаимодействий в бактериальной рибосоме методом молекулярно-динамического моделирования | 66 |
| А.В. Митина, Н.Г. Орлова, А.И. Дергилев, Ю.Л. Орлов Компьютерные программы оценки сложности текста ДНК для анализа структуры геномов микроорганизмов..... | 67 |
| Г.И. Морозова, М.М. Муньос, А.В. Иванов, Т.М. Кулинич, С.А. Романов Исследование и моделирование реакций лейкоцитов в крови на γ -облучение с использованием энергетических показателей клеток иммунной сети | 68 |
| М.В. Пузаков, Л.В. Пузакова, Ю.Н. Улупова, А.С. Кохан Внутривидовые различия в представленности ДНК-транспозонов надсемейства <i>rho</i> у тихоокеанской устрицы..... | 69 |
| А.Н. Сашина, А.В. Халиуллина Исследование структурно-динамических свойств ионной жидкости и смеси ионной жидкости с водой методом молекулярной динамики | 70 |
| А.В. Степанов, А.П. Попов, А.В. Коваленко, Д.С. Юманов, А.И. Дмитриева, К.В. Сергеева, Д.А. Дементьев, А.А. Никольская, В.С. Туловчиков, Д.И. Тетельбаум Генерация гиперзвуковых волн при облучении кремния светом, их распространение и влияние на живые организмы: компьютерное моделирование и эксперимент | 71 |
| А.А. Сыровец, А.О. Лантушенко, О.О. Коренькова, О.М. Шевчук Применение комбинированных маркерных последовательностей для филогенетического анализа крымских можжевельников секции <i>juniperus</i> | 71 |

| | |
|---|----|
| Ю.Н. Улупова, М.В. Пузаков Анализ транскрипционной активности гена транспозазы <i>ITm</i> -транспозонов у медузы <i>Aurelia aurita</i> на различных стадиях жизненного цикла | 72 |
| М.Г. Холявка, Д.Ю. Богомолов, С.М. Макин, М.С. Кондратьев, В.Г. Артюхов Особенности пространственной организации молекул инулиназ после их иммобилизации на носителях различной природы и связывания с моно-, ди- и полисахаридами | 73 |
| М. Шейнман Распределение расстояний между гетерозиготными сайтами для эффективного определения демографической истории..... | 74 |
| А.Г. Шлихт, Н.В. Краморенко Унифицированная высокоструктурированная модель анализа и интерпретации омиксных данных | 75 |

СЕКЦИЯ 3. МЕДИЦИНСКАЯ БИОФИЗИКА И БИОФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

| | |
|--|----|
| Е.В. Алопина Влияние ионных жидкостей на растворимость и реологические свойства ассоциированных полимеров..... | 76 |
| Л.В. Бельская, Д.В. Соломатин Комбинация методов Фридмана и Спирмена для оценки качества параллельно полученных ИК спектров | 76 |
| А.С. Ботин, Д.А. Машал, Т.С. Попова, М.Г.Х. Ризк, А.В. Кордова Графен и полиграфен как возможное средство доставки лекарств при онкологии кишечника..... | 77 |
| А.В. Бутенко, С.В. Пинчук, И.Д. Волотовский Биофизическое состояние дермальных фибробластов человека в составе биомедицинского клеточного продукта при хранении..... | 78 |
| R.A. Barrera Quiroz, A.A. Hernandez Santiago, B. Zenteno Mateo, M.A. Gonzalez Fuentes, A. Mendez Albores, E. Mendez Albores Comparison of melatonin photodegradation between sunlight and UV irradiation..... | 79 |
| И.А. Ведерникова, Е.С. Юрина, Н.Ш. Лебедева Особенности взаимодействия 5-[4'-(<i>n</i> -метил-1",3"-бензоимидазол-2"-ил) фенил]-10,15,20-трис(3'-пиридил) порфирина с нуклеиновыми кислотами..... | 80 |
| В.В. Войнаровский, Г.Г. Мартинович Регуляция редокс-зависимого механизма адаптации эритроцитов наночастицами диоксида церия..... | 81 |
| Ю.Н. Егорова, О.Т. Касаикина Взаимодействи йодида ацетилхолина с пероксидом водорода | 82 |
| Б.А. Жамбалова, А.Н. Осипов Влияние нативного и окислительно-модифицированного фибриногена на функции лейкоцитов крови | 83 |
| Б.А. Жамбалова, А.Н. Осипов Люминол-зависимая хемилюминесценция полиморфно-ядерных лейкоцитов у здоровых беременных женщин и женщин с невынашиванием беременности на ранних стадиях гестации..... | 84 |
| В.Н. Зарубин Хронофизиотерапия – новое направление в медицинской биофизике | 85 |
| B. Zenteno Mateo, M.A. Morales, R.A. Serrano, A.M. Cervantes Tavera, R.M. Jose Israel, A.A. Hernandez Santiago A generalization of the thermokinetic oregonator model..... | 86 |
| А.В. Иванов, К.Б. Фролов, Е.В. Семенова Синергия гуморального и т-клеточного звеньев адаптивного иммунитета при инфицировании коронавирусом SARS-COV-2..... | 86 |

| | |
|---|-----|
| А.Т. Ишемгулов, С.Н. Летута, М.А. Сенчукова Длительная люминесценция ксантеновых красителей в злокачественных и нормальных тканях <i>in vitro</i> | 87 |
| И.В. Клименко, Т.Ю. Астахова, Е.Н. Тимохина, А.В. Лобанов Изучение процесса агрегации фталоцианина алюминия в водных средах | 88 |
| И.В. Клименко, Е.В. Китушина, А.В. Лобанов Особенности взаимодействия гемина и Zn^{II} -комплекса тетра(4-пиридил) порфирина с гексамолибденоникелат-полианионом в водных средах | 89 |
| Р.Р. Крестинин, Ю.Л. Бабурина, Л.Д. Сотникова, О.В. Крестинина Влияние астаксантина на изменение митохондриальной динамики в митохондриях сердца крыс в условиях митохондриальной дисфункции | 90 |
| П.С. Линцова, Р.В. Шевченко, Д.Л. Мельникова, О.И. Гнездилов, Р.С. Гиматдинов Особенности самодиффузии в стволе спинного мозга лабораторной крысы по данным ядерного магнитного резонанса с импульсным градиентом магнитного поля | 91 |
| С.М. Лунин, А.А. Кузеева, Д.А. Ерилина, Е.Г. Новоселова, О.В. Глушкова, С.Б. Парфенюк, Э.К. Мубаракшина, Т.В. Новоселова, М.О. Хренов О влиянии тимусного гормона тимулина на состояние гематоэнцефалического барьера при экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите | 92 |
| О.М. Масленникова, М.Н. Шипко, А.Л. Сибирев, М.А. Степович Об информативных возможностях и результатах экспериментальных исследований ГРВ-визуализации белок-индуцированных молекулярных комплексов в водных растворах таблетированных препаратов, содержащих антитела к интерферону- γ | 93 |
| Я.В. Мегер, И.И. Ращенкова, А.В. Степанов, А.О. Лантушенко Исследование внутриклеточной флуоресценции противоопухолевых антибиотиков методом конфокальной микроскопии | 94 |
| А.В. Мельницкая, З.И. Крутецкая, В.Г. Антонов, Н.И. Крутецкая, В.И. Бадюлина Мелоксикам ослабляет эффект иммуномодулятора глутоксима на транспорт Na^+ в эпителии кожи лягушки | 94 |
| Л.С. Миленина, З.И. Крутецкая, В.Г. Антонов, Н.И. Крутецкая, В.И. Бадюлина, А.О. Симонян Соединение BD-1063 подавляет Ca^{2+} -ответы, индуцируемые иммуномодулятором моликсаном в макрофагах | 95 |
| О.А. Могильная, Н.О. Ронжин, Е.Д. Посохина, В.С. Бондарь О субстратной специфичности и некоторых свойствах внеклеточной оксидазы из базидиомицета <i>Neonothopanus nambi</i> | 96 |
| A.M. Montiel del Cueto, A.A. Hernandez Santiago, M. Gonzalez Flores, E. Mendez Albores, M.A. Gonzalez Fuentes Statistical Evaluation for bacteria electro-stimulation using the Dunnett method for a microbial fuel cell | 97 |
| Г.А. Набережных, В.Н. Давыдова, Т.Ф. Соловьева Взаимодействие липополисахарид-связывающих белков с различными формами липополисахаридов | 98 |
| М.А. Позднякова, Е.С. Жукова Особенности действия низкоинтенсивного электромагнитного излучения оптического диапазона при онкогенезе в зависимости от интенсивности окислительных процессов в организме крыс | 99 |
| И.Г. Полников, К.Д. Казаринов Использование волноводно диэлектрического метода и устройства для измерения концентрации водных растворов и облучения биологических объектов | 100 |

| | |
|---|-----|
| А.А. Прокопов, О.В. Нестерова Спектроскопия ЯМР растительного лекарственного сырья с целью его идентификации | 101 |
| А.М. Пулин, А.С. Ботин, А.В. Гаврилов, Т.С. Попова, А.В. Кордова Нано-процесс сборки головок (капсидов) и укладки ДНК на примере хвостатых бактериофагов (лямбда, T4)..... | 102 |
| Н.А. Роденко, А.В. Богданов, Т.И. Васильева, В.А. Глущенко Исследование изменений в строении молекулы бензилпенициллина натриевой соли под воздействием импульсного магнитного поля и их влияние на биологическую активность препарата | 103 |
| Л.А. Ромодин О Na-Cu-хлорофиллине как возможном радиопротекторе | 104 |
| Н.О. Ронжин, Е.Д. Посохина, В.М. Ле, О.А. Могильная, Ю.В. Захарова, А.С. Сухих, В.С. Бондарь Кофейная кислота стимулирует свечение мицелия высших грибов <i>Neonothopanus nambi</i> и <i>Armillaria borealis in vivo</i> | 105 |
| M.G.H. Rizk, A.S. Botin, T.S. Popova, A.V. Cordova Biocompatibility of graphene and its derivatives | 106 |
| А.Я. Сафинова, Н.Е. Беликов, Л.Е. Петровская, А.Ю. Лукин, О.В. Демина, С.Д. Варфоломеев, А.А. Ходонов Исследование спектральных свойств модели хромофорного центра бактериальных родопсинов и искусственных пигментов на ее основе | 106 |
| О.Д. Смирнова Автоматизация количественного расчета концентрации веществ в экстрактах тканей на основе анализа производных спектров поглощения на примере МДА | 107 |
| Ю.О. Теселкин, И.В. Бабенкова, С.Ф. Дельсуз, Е.Я. Караганова, Р.И. Шалина, А.Н. Осипов Определение модифицированного ишемией альбумина и антиоксидантной способности сыворотки крови при асфиксии новорожденных | 108 |
| Е.П. Тимохина, Н.В. Яглова, С.С. Обернихин, В.В. Яглов Сравнительная характеристика функциональных и структурных изменений тимуса крыс при воздействии различных доз эндокринного дисраптора..... | 109 |
| В.Ю. Титов, А.Н. Осипов, А.А. Ананкина, И.И. Кочиш Оксид азота – высокоэффективная ловушка АФК. возможности клинического использования для диагностики | 110 |
| В.А. Туркина, П.О. Ярема, А.А. Майорова, Е.А. Савина, Ю.Л. Орлов Реконструкция генных и ассоциативных сетей заболеваний для поиска генов-мишеней | 111 |
| Н.В. Яглова, С.С. Обернихин, С.В. Назимова, Е.П. Тимохина развитие организма при воздействии эндокринного дисраптора ДДТ изменяет параметры синтеза половых стероидов у самцов крыс..... | 112 |
| Л.А. Яковишин, В.Д. Ратников Молекулярный комплекс рутина с тритерпеновым гликозидом альфа-хедерином | 113 |

СЕКЦИЯ 4. БИОФИЗИЧЕСКАЯ ЭКОЛОГИЯ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕСУРСЫ

| | |
|---|-----|
| Н.А. Андреева, Н.И. Копытина, О.С. Сизова, А.А. Мосунов, В.П. Евстигнеев Сообщества микроорганизмов, формирующиеся в море, на покрытиях, содержащих биметаллические наночастицы..... | 115 |
|---|-----|

| | |
|---|-----|
| М.И. Будник, С.Н. Сергеев, К.А. Тараскин, Л.М. Апашева, Р.А. Ростовцев, И.В. Ущановский, Н.В. Пролетова, А.В. Лобанов, А.Ф. Степнова, Г.З. Казиев, Е.Н. Овчаренко, Е.К. Барнашова, Л.А. Смурова, А.В. Грудзинский Новый научно-методический подход к экологической обработке семян льна, повышающей всхожесть и предотвращающей слипание посевного материала | 116 |
| Д.Д. Гассиев, Н.В. Шадрин, А.В. Празукин Ангидробриоз в сообществе зеленой нитчатой водоросли <i>Cladophora</i> в гиперсоленом заливе Сиваш..... | 117 |
| М.А. Гладыш, И.С. Хавронюк, Н.А. Таран, А.К. Гунькова, Н.С. Челядина, С.Н. Железнова, Д.Н. Лишаев, Л.В. Стельмах, А.В. Кузнецов Сравнение микропланктона возле базы Мокроусова и в Форосе (Крым): объединение данных из разных источников..... | 118 |
| А.К. Гунькова, С.Ю. Тихонов, В.М. Курченко, Ю.К. Подкидышева, Н.В. Поспелова, Д.Н. Лишаев, А.В. Кузнецов От баз данных к экспериментам на модели Кадыковского карьера | 119 |
| И.В. Дегтяр, А.С. Кохан, А.О. Лантушенко, А.А. Солдатов Сравнение экспрессии генов лактатдегидрогеназы и октопиндегидрогеназы у черноморской мидии в условиях экспериментальной гипоксии..... | 121 |
| Э.А. Иванова Экологическая целостность менделеевской планеты Земля..... | 122 |
| Д.С. Лавриченко, А.А. Ткачук, А.Ю. Андреева, Е.С. Кладченко Влияние краткосрочного изменения солености на функциональные особенности геомцитов средиземноморской мидии | 122 |
| И.А. Минский, С.А. Пионтковский, Я.В. Мегер Распределение соотношения биомассы желтелого и кормового зоопланктона в мировом океане..... | 123 |
| И.А. Минский Изменчивость интенсивности и вертикального распределения поля биолуминесценции на глубоководном разрезе в северной части Черного моря | 124 |
| П.А. Мутовкин, А.А. Мосунов Спектроскопические исследования изменения антиобрастающих покрытий во время их экспонирования в морской среде | 125 |
| М.С. Подольская, Э.С. Челебиева, Е.С. Кладченко, О.Л. Гостюхина, Д.С. Лавриченко Функциональное состояние тихоокеанской устрицы <i>Magallana gigas</i> при заражении сверлящей губкой <i>Pione vastifica</i> | 126 |
| С.И. Рубцова Цифровой двойник геосистемы приморской территории в решении задач цифровизации экологического мониторинга и контроля негативного воздействия на окружающую среду и трансформации экологического образования | 127 |
| К.Ф. Сергейчев, Н.А. Лукина, Л.М. Апашева, М.И. Будник, Е.Н. Овчаренко Влияние растворов пероксида водорода разных составов на прорастание семян | 128 |
| А.А. Солдатов, В.Н. Рычкова, Т.А. Кухарева, А.Г. Рокотова Моноцикличность в функционировании гемопоэтической ткани морских рыб и ее функциональные следствия | 129 |
| И.С. Черепанов, Д.С. Феофилова, Р.Н. Нуреева Сочетание методов молекулярной спектроскопии и экстракционного разделения при исследовании растительного сырья Удмуртской Республики..... | 130 |
| В.Е. Шаповалова, А.В. Гаджи, А.О. Лантушенко идентификация микроводоросли рода <i>Dunaliella</i> из гиперсоленого озера Сасык-Сиваш | 131 |
| Л.Н. Шишкина, П.Д. Белецкая, А.С. Дубовик, А.В. Машукова, В.О. Швыдкий Влияние ионов тяжелых металлов на физико-химические свойства природных фосфолипидов | 132 |

СЕКЦИЯ 1. ОБЩАЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОФИЗИКА

ОСОБЕННОСТИ КОНФОРМАЦИОННОГО ПОВЕДЕНИЯ И ЭЛЕКТРОННОЙ СТРУКТУРЫ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО АГЕНТА TYR-SER-LEU

Particularities of Conformational Behavior and Electronic Structure of Antitumor Agent Tyr-Ser-Leu

Агаева Г.А., Агаева У.Т., Годжаев Н.М.

Бакинский государственный университет, Институт физических проблем, г. Баку, Азербайджан, gulshen@mail.ru

Рак является одной из ведущих причин смерти во всем мире. Обычные методы лечения рака в основном сосредоточены на массовом уничтожении клеток без высокой специфичности и это вызывает серьезные побочные эффекты и токсичность. Пептиды представляют собой новый класс противоопухолевых агентов, которые могут целенаправленно воздействовать на раковые клетки с меньшей токсичностью по отношению к нормальным тканям, что открывает новые возможности для профилактики и лечения рака. В работе [1] было изучено ингибирующее действие небольшого пептида, Tyr-Ser-Leu (tyroserleutide, YSL), на гепатокарциному человека BEL-7402, как антиопухолевого агента. Мышам с ксенотрансплантатами человеческой гепатомы BEL-7402 ежедневно вводили внутривенно инъекции YSV или физиологического раствора (в качестве контроля) после трансплантации опухоли. Подсчет объема опухоли и измерение массы опухоли определяли степень ингибирования ксенотрансплантатов. Ультроструктуру опухолевых клеток наблюдали с помощью электронной микроскопии. Было также показано, что YSL может значительно ингибировать рост гепатокарциномы человека BEL-7402 у мышей и индуцировать апоптоз опухолевых клеток [2].

В настоящей работе с целью выяснения механизма действия противоопухолевого трипептида и стратегии модификации его для улучшения противораковых эффектов мы исследовали его конформационные свойства и параметры электронной структуры. Методами молекулярного моделирования были получены величины энергетических вкладов внутримолекулярных взаимодействий в низкоэнергетических конформационных состояниях молекулы. На основе полученных результатов были определены энергетические и электронные характеристики наиболее оптимальных пространственных структур молекулы трипептида YSL. Используя расчетные координаты атомов молекулы были построены молекулярные модели наиболее стабильных конформаций трипептида. На рисунке 1 приведены молекулярные модели энергетически предпочтительных конформаций молекулы трипептида YSL.

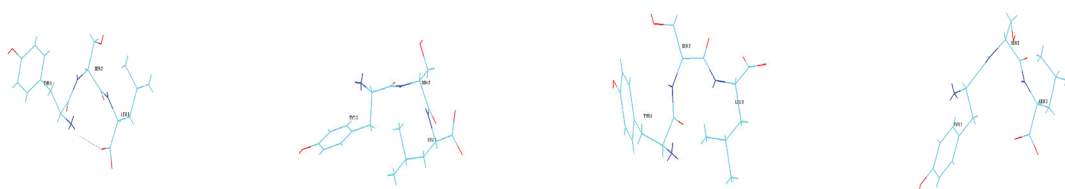


Рисунок 1. Молекулярные модели энергетически наиболее предпочтительных пространственных структур трипептида YSL: (Конформеры 1,2,3,4) соответственно

Определение пространственного строения противоопухолевого трипептида YSL проводилось путем минимизации потенциальной энергии выбранных конформационных состояний, исходя из особенностей, составляющих его аминокислотных остатков. При составлении структурных вариантов трипептида ориентации боковых цепей остатков брались с учетом оптимальных межостаточных взаимодействий, образуемых данными остатками в конформационных состояниях молекулы. В результате расчетов было определено, что в слабополярной среде трипептид предпочтительно формирует похожие стабильные полностью свернутые структуры. Было показано, что энергетически предпочтительная конформация трипептида стабилизируется эффективными дисперсионными взаимодействиями с образованием водородной связи между атомами карбоксильной группы С-терминальной части и N-концевой аминогруппы.

1. Wang C., Wang S., Lu R. et al. Effects of a novel tripeptide, tyroserleutide (YSL), on cell cycle progression of human hepatocellular carcinoma // *Anticancer Drugs*, 2009, vol. 20, no. 7, p. 534-542, doi: 10.1097/CAD.0b013e32832ced93.
2. Wang H.Y., Yi W.J., Qin S.Y. et al. Tyroserleutide-based gene vector for suppressing VEGF expression in cancer therapy // *Biomaterials*, 2012, vol. 33, no. 33, pp. 8685-8694, doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.08.022.

МОЛЕКУЛЯРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ КОНФОРМАЦИОННЫХ СВОЙСТВ И ЭЛЕКТРОННЫХ ПАРАМЕТРОВ БЕТА-АМИЛОИДНОГО ПЕПТИДА (25-35) Molecular Modeling of Conformational Properties and Electronic Parameters of Abeta-Amyloid Peptide (25-35)

Агаева Г.А.¹, Наджафова Г.З.²

¹ Бакинский государственный университет, Институт физических проблем, г. Баку, Азербайджан

² Азербайджано-Французский университет УФАЗ, г. Баку, Азербайджан
gulshen@mail.ru

Знание конформационного поведения биологически активных пептидов позволяет более рационально исследовать механизм действия и структурно-функциональные связи этих молекул. Бета-амилоидный пептид (A β) является основным компонентом сенильных бляшек, обнаруживаемых в головном мозге пациентов с болезнью Альцгеймера. A β (25-35) фрагмент молекулы с аминокислотной последовательностью Gly-Ser-Asn-Lys-Gly-Ala-Ile-Ile-Gly-Leu-Met, которая содержит как гидрофильные, так и гидрофобные остатки, является биологически активным фрагментом A β [1-3]. Ряд спектральных исследований показывают, что этот пептид имеет альфа-спиральные структуры в своих С-концевых областях. Показано, конформационные особенности молекулы во многом определяются ее окружением, поэтому целью настоящей работы является изучение различий конформаций бета-пептида амилоида (25-35) в вакууме и в слабополярной среде методами молекулярной механики и квантово-химических расчетов.

Полученные расчеты показали, что пространственная структура этого пептида имеет тенденцию принимать α -спиральную конформацию от Lys28 до Met35. Конформационное поведение этого пептида может быть описано набором подобных низкоэнергетических конформаций, имеющих α -спиральную структуру на С-концевой последовательности. Было показано, что низкоэнергетические структуры амилоидного бета-пептида (25-35) обладают наиболее благоприятными дисперсионными контактами и, следовательно, можно ожидать, что они станут наиболее предпочтительными в слабополярной среде, когда электростатические взаимодействия не играют существенной роли. Были также исследованы допустимые изменения значений двугранных углов амилоидного бета-пептида (25-35) в энергетически предпочтительной конформации и стабильность элементов вторичной структуры.

В нашем исследовании мы исследуем, как распределение заряда молекулы может быть связано с конформационными возможностями. Распределение атомного парциального заряда устойчивой конформации молекулы позволяет также прогнозировать взаимосвязь их структурной и реакционной способности молекулы.

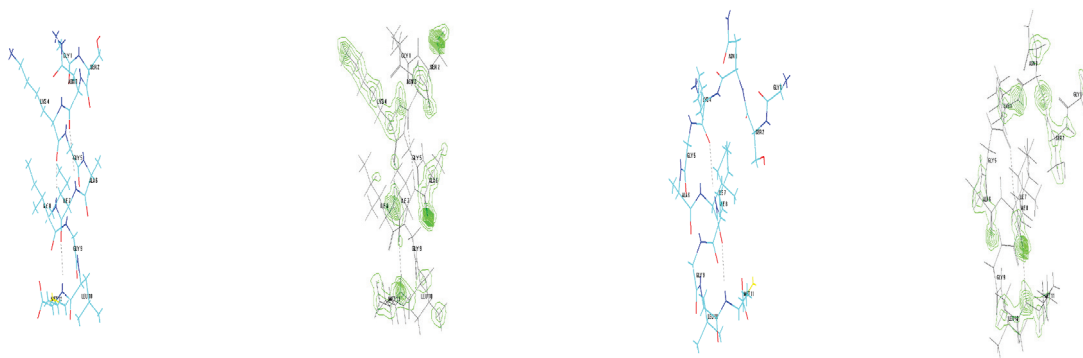


Рисунок 1. Молекулярные модели двух энергетически наиболее предпочтительных пространственных структур бета-амилоидного пептида (25-35) и распределения парциальных зарядов соответственно

Результаты исследований показали, что предпочтительными конформациями этой молекулы являются не полностью разупорядоченная структура в растворителе, а наличие стабильного спирального участка в С-концевой части молекулы. Наши теоретические результаты могут быть важны для разработки состава и концентрации раствора для предупреждения отложения амилоида, наблюдаемого у пациентов с болезнью Альцгеймера. Эти результаты будут иметь значение для изучения того, как изменить условия для принятия необходимой конформации A β 25-35.

1. Beyreuther K., Masters C.L. Alzheimer's disease: the ins and outs of amyloid // Nature, 1997, vol. 389, pp. 677-678.

2. Kohno T., Kobayashi K., Maeda T. et al. Three-dimensional structures of the amyloid β -peptide (25-35) in membrane-mimicking environment // Biochemistry, 1996, vol. 35, pp. 16094-16104.

3. Shanmugam G., Jayakumar R. Structural analysis of amyloid beta peptide fragment (25-35) in different microenvironments // Biopolymers, 2004, vol. 76, pp. 421-434.

ФОРМИРОВАНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ МНОГОКОМПОНЕНТНЫХ СИСТЕМ, СОДЕРЖАЩИХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ АГЕНТЫ, СПЕКТРАЛЬНЫМИ И ГИДРОДИНАМИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

Formation and Study of Multicomponent Systems Containing Biologically Active Agents by Spectral and Hydrodynamic Methods

Артамонова Д.А., Касьяненко Н.А.

Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, РФ, st077204@student.spbu.ru

Изучение многокомпонентных систем, сформированных при компактизации ДНК с включением наночастиц металлов и других компонентов, которые обладают биологической активностью, важно для формирования терапевтических и диагностических средств нового поколения. Наночастицы благородных металлов обладают уникальными оптическими свойствами, идеально подходящими для конструирования различных биосенсоров и систем, используемых для биовизуализации.

Целью исследования являлось формирование систем, содержащих высокомолекулярную ДНК, компактизирующий ее полимер, наночастицы металлов и люминофор. Физико-химические свойства сформированных структур изучали методами ультрафиолетовой спектрофотометрии (спектрофотометр СФ-2000, Россия), вискозиметрии (с помощью низкоградиентного ротационного вискозиметра типа Зимма-Крозерса), флуоресцентной спектроскопии (спектрофлуориметр Hitachi F-7100), динамического рассеяния света (установка Photocor Complex с программным обеспечением DynaLS, Россия).

Использовали коммерческий препарат высокомолекулярной ДНК тимуса теленка фирмы Sigma Aldrich. Полимер МАГ-ДМАЭМ с включенными наночастицами серебра был синтезирован Золотовой Ю.И. в ИВС РАН. Отношение молярной концентрации мономерных звеньев полимера к молярной концентрации соли AgNO_3 в растворе при восстановлении серебра было равно 9. В качестве люминофора использовали краситель EtBr, который растворяли в деионизованной воде. Источником ионов золота и серебра для восстановления непосредственно на ДНК после связывания этих ионов с макромолекулой были соли NaAuCl_4 и AgNO_3 соответственно, в качестве восстановителя использовали боргидрид натрия фирмы «Вектон».

Эксперимент показал, что полоса поглощения ДНК, которая обычно отражает состояние вторичной структуры макромолекулы, остается неизменной после восстановления золота и формирования наночастиц непосредственно на ДНК. Альтернативным способом сопряжения наночастиц с ДНК было использование поликатионного полимера, связанного с наночастицами серебра. При этом происходила компактизация ДНК.

Изучали возможность восстановления ионов золота и серебра после их связывания с ДНК в присутствии красителя. Из результатов спектрофотометрии можно заключить, что краситель EtBr обладает свойством самостоятельно восстанавливать наночастицы золота на ДНК без добавления других восстановителей, при этом пик плазмонного резонанса таких комплексов формируется более ярко в случае добавления ионов золота в раствор до красителя.

При исследовании люминесценции EtBr в связанном с ДНК состоянии после формирования интерполиэлектролитных комплексов ДНК-полимер с включением серебряных наночастиц зарегистрировано существенное усиление интенсивности люминесценции красителя. Это наблюдалось при соотношении мономерных звеньев полимера к фосфатным группам ДНК $N/P < 1$. При $N/P > 1$ интенсивность люминесценции падала, по-видимому, за счет вытеснения красителя с ДНК связывающимся с ней полимером. Порядок добавления красителя и полимера в раствор ДНК влияет на эффект усиления люминесценции. Компактизация ДНК, предшествующая добавлению красителя в раствор, затрудняет доступ молекулам красителя к местам его связывания с ДНК. В случае восстановления наночастиц серебра непосредственно на ДНК усиления люминесценции не наблюдается до и после добавления красителя в раствор.

В растворе ДНК с восстановленными на ней наночастицами золота при последующем добавлении полимера с наночастицами серебра происходит компактизация макромолекулы. При этом в комплексах фиксируются пики плазмонного резонанса и наночастиц золота, и наночастиц серебра. В таких комплексах наночастицы золота находятся в связанном с ДНК состоянии, наночастицы серебра, предварительно связанные с полимером, также находятся внутри компактных структур.

Изучение вязкости растворов ДНК до и после добавления различных компонентов в раствор показало, что формируемые структуры, содержащие наночастицы серебра и золота одновременно, находятся в компактном состоянии. С помощью метода ДРС бала проведена оценка размеров формируемых частиц. Было показано, что они имеют дискретный размер порядка 180-200 нм в диаметре, что позволит им проникать через клеточные мембраны. Таким образом, была показана принципиальная возможность формирования компактных структур, содержащих люминофоры и наночастицы благородных металлов, а также наночастицы золота и серебра одновременно. При этом предложенные методики отличаются минимальным набором химических реактивов.

ВЛИЯНИЕ ЦИТОХРОМА С НА ПРОВОДИМОСТЬ БИСЛОЙНЫХ ЛИПИДНЫХ МЕМБРАН И ФОРМИРОВАНИЕ ПРОВОДЯЩИХ ПОР

The Effect of Cytochrome C on the Conductivity of Bilayer Lipid Membranes and the Formation of Through Pores

Борисова Е.Д., Аносов А.А., Корепанова Е.А., Смирнова Е.Ю.

Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет), г. Москва, РФ, ryleeva_e_d@staff.sechenov.ru

Исследование взаимодействия цитохрома С с фосфолипидами мембран представляет особый интерес, т.к. подобные процессы протекают в митохондриях при запуске запрограммированной гибели клеток (апоптозе). В более ранних исследованиях было показано, что добавление цитохрома С к азолектиновым мембранам, содержащим кардиолипин, приводит к образованию пор, величина которых, примерно, соответствует размеру глобулы [1]. Однако увеличение проводимости бислойных липидных мембран (БЛМ) для ионов можно наблюдать и в отсутствие кардиолипина.

В данной работе исследовали бислойные липидные мембраны, не содержащие кардиолипин. Азолектин, дифинатоилфосфатидилхолин (dphpc), дистеароилфосфохолин (dspc), диолеилфосфохолин (dopc) были использованы для формирования БЛМ. Балковый раствор содержал 0,1 М КСl и буфер 5 мМ Трис-НСl. Использовались растворы с тремя значениями рН=6,4, 7,4, 8,4. В балковый раствор добавляли водный раствор цитохрома С разной концентрации. В настоящей работе мы использовали вместо накладываемого на мембрану пилообразного напряжения метод фиксации напряжения.

Полученные в работе зависимости проводимости от концентрации цитохрома С говорят о том, что проводимость азолектиновых мембран увеличивается с ростом концентрации цитохрома С. Также показано, что при увеличении рН с 6,4 по 8,4 растет проводимость мембран при одной и той же концентрации добавленного цитохрома С [2]. При низких концентрациях цитохрома С появляются короткоживущие поры, при повышении концентрации цитохрома С наблюдаются долгоживущие поры, что позволяет сделать вывод о влиянии временных характеристик пор на проводимость мембран.

Проводимость мембран из dphpc и смеси dspc+dphpc при росте концентрации цитохрома С статистически значимо не меняется. В случае использования смеси dopc+dphpc проводимость мембран в несколько раз больше, чем проводимость dphpc мембран. Были зафиксированы многоуровневые флуктуации тока для азолектиновых мембран и мембран из dopc+dphpc.

На рисунке 1 представлены треки проводимости, полученные на азолектиновой мембране. После добавки цитохрома С зарегистрирован скачок проводимости, после которого следуют ступенчатые флуктуации тока, вызванные возникновением проводящих пор.

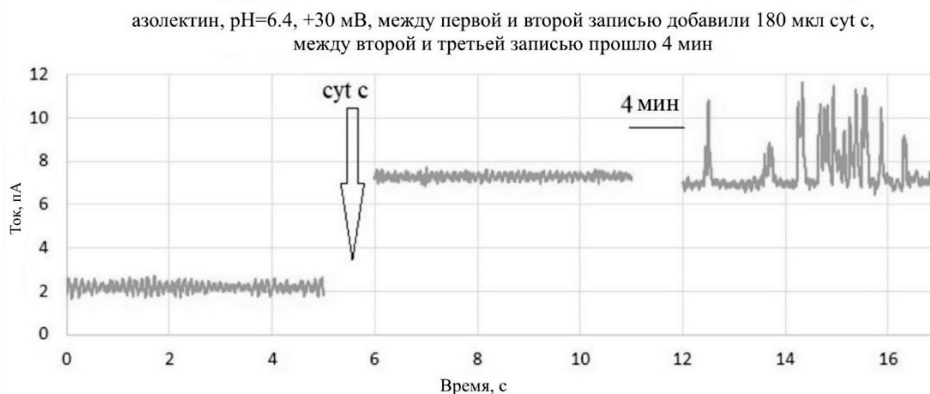


Рисунок 1. Токвые треки БЛМ из азолектина при добавке 26 мкМ цитохрома С. Мембранный потенциал +30 мВ, окружающий раствор 0,1 М КСl, буфер 5 мМ Трис-НСl

Из полученных результатов можно сделать вывод о том, что индуцируемая цитохромом С проводимость азолектиновых мембран зависит от его концентрации и в значительной степени зависит от рН среды. Увеличение проводимости мембран обусловлено увеличением времени жизни пор, а не увеличением частоты их появления. Отсутствие статистически значимого роста проводимости мембран из dphpc и смеси dspc+dphpc и dopc+dphpc свидетельствует о том, что образование гетерогенной структуры в дифитаноиловых мембранах не происходит.

1. Antonov V.F. et al. Soft perforation of cardiolipin-containing planar lipid bilayer membrane by cytochrome c and H(2)O(2) // Eur. Biophys. J., 2014, vol. 43, no 10-11, pp. 469-476.

2. Anosov A., Borisova E., Smirnova E. et al. Effect of Cytochrome C on the Conductance of Asolecetin Membranes and the Occurrence of Through Pores at Different pHs // Membranes (Basel), 2023, vol. 13, no 3, p. 268.

ПОЛУЧЕНИЕ РАДИОРЕЗИСТЕНТНОЙ ПОПУЛЯЦИИ КЛЕТОК СТ26 И ИХ ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ.

Obtaining and Characterization CT26 Cells with Radioresistant Phenotype

Верлов Н.А., Бурдаков В.С., Кулаков И.А.

Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт»,
г. Гатчина, РФ, verlov_na@npi.nrcki.ru

Несмотря на повсеместную и часто успешное применение лучевой терапии (ЛТ) при онкологических заболеваниях, у некоторых пациентов после завершения курса ЛТ развиваются рецидивы. Рецидив опухоли связан с остаточным заболеванием и агрессивной биологией опухоли, и часто ассоциирован с выживанием популяции клеток, которые либо уже обладают большей внутренней устойчивостью к ЛТ (например, гипоксические или раковые стволовые клетки), либо формируют радиорезистентный фенотип *de novo* [1,2]. Радиорезистентная субпопуляция способна повторно заселить участок опухоли, что приводит к рецидиву заболевания. По сравнению с исследованием химиорезистентности, механизмы, лежащие в основе развития радиорезистентности, плохо изучены, отчасти из-за отсутствия модельных систем для исследования индуцированной радиорезистентности *in vitro* и *in vivo*.

В настоящем исследовании, мы получили субпопуляцию клеточной линии СТ26 с радиорезистентным фенотипом, посредством фракционированного облучения клеток линии рака прямой кишки СТ26-WT(АТСС-CRL2638). Для получения радиорезистентной субпопуляции нами были выбраны два режима фракционированного облучения с суммарной поглощенной дозой 40 Грей (Гр), облучение проводилось в гамма установке для радиационных исследований РХ-γ-30. Первый режим (гиперфракционирование) состоял из 20 фракций по 2 Гр с мощностью дозы 0,95 Гр/мин, облучение проводилось ежедневно, затем отбирался устойчивый клон(СТ26-WT-RR2). Второй режим (гипофракционирование) состоял из 4 раундов облучения дозой 10 Гр и мощностью дозы 8,5 Гр/мин, после чего отбирался выживший клон, который облучался в следующем раунде (СТ26-WT-RR10). Во втором режиме, доза 10 Гр за фракцию была выбрана исходя из того, что при облучении большими дозами, материнская линия теряла способность к воспроизводству, наблюдалась митотическая катастрофа.

Сравнительный анализ чувствительности полученных клеточных линий к воздействию ионизирующего излучения по отношению к материнской клеточной линии мы проводили методом оценки выживаемости и пролиферативной активности клеток всех трех линий после единоразового облучения линейкой доз от 2 до 10 Гр с шагом в 2 Гр. Кривые роста клеток строили с помощью данных МТТ-теста и прямого измерения индекса роста клеток xCELLigence Real-Time Cell Analysis (Agilent Technologies, США). ЛД50 для клеток линий СТ26-WT, СТ26-WT-RR2 и СТ26-WT-RR10, составили, соответственно 2,4±0,4, 3,2±0,5 и 4,5±0,6 Грей. В результате применения обоих подходов, мы получили клеточные линии, которые отличаются повышенной радиорезистентностью по сравнению с материнской клеточной линией. Разные протоколы облучения, а именно варьирование количества фракций, дозы за фракцию и мощности дозы при сохранении суммарной поглощенной дозы неизменной, позволили получить различающиеся по характеристикам клеточные линии.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект 075-15-2021-1360).

1. Raveendran C., Meloot S.S., Yadev I. Survival Outcomes of Post-mastectomy Breast Cancer Patients Treated with Hypofractionated Radiation Treatment Compared to Conventional Fractionation -a Retrospective Cohort Study // Gulf. J. Oncolog., 2023, vol. 1, no. 42, pp. 26-34.

2. Fang M., Marta G.N. Hypofractionated and hyper-hypofractionated radiation therapy in postoperative breast cancer treatment // Rev. Assoc. Med. Bras., 2020, vol. 66, no. 9, pp. 1301-1306.

ДВЕ ФОРМЫ СТРУКТУРИРОВАНИЯ ВОДЫ В ПРОТОПЛАЗМЕ ЖИВЫХ КЛЕТОК И ИХ РОЛЬ В БИОЭНЕРГЕТИКЕ

Two Forms of Water Structuring in the Protoplasm of Living Cells and their Role in Bioenergetics

Галль И.Р.¹, Кулешова Т.Э.,² Галль Л.Н.¹.

¹ Институт аналитического приборостроения РАН, г. Санкт-Петербург, РФ

² Агрофизический научно-исследовательский институт, г. Санкт-Петербург, РФ

Важнейшими свойствами структурной организации белков – наиболее многочисленных биополимеров живых систем и организмов, являются две их особенности: наличие множества атомных групп амид-1, являющихся линейными осцилляторами, которые встроены в молекулярную структуру биополимера, и большое количество гидрофильных центров, также образующих атомные осцилляторы, но уже в результате их гидратации. Эти свойства белков определяют их главенство в биоэнергетике живого организма [1], в которой,

наряду с биополимерами, важнейшую роль в реализации механизма биоэнергетики играют молекулы воды. Все биомолекулы живого организма (и свободные, и образующие клеточные органеллы) погружены в цитоплазму, представляющую собой сложную поликоллоидную систему на основе воды. Вода в цитоплазме и в межклеточном пространстве находится в двух, по-разному структурированных, состояниях. Первое из них – континуальное подвижное жидкое состояние, локально напряженное находящимися в водной среде клеточными органеллами, биополимерами и ионами, в основном – Na^+ и K^+ . Второе – малоподвижное, отвечающее самоорганизации фракталоподобных энергонапряженных стержневых структур, связывающих между собой гидрофильные центры биополимеров. Существование обоих состояний воды в данной работе экспериментально подтверждено с использованием метода спектральной L-дизелькометрии высокого разрешения [2].

Работы физиков-теоретиков позволяют считать полностью обоснованным представление о биополимере в водной среде как об энергетической машине – источнике энергии для биохимических и управляющих процессов живого организма, а результаты теории Н.А. Буленкова [3] дополняют эти представления сведениями о форме структурирования воды в ее малоподвижном состоянии. Экспериментальные результаты, представленные в работе, позволяют считать, что малоподвижное состояние воды составляет не более 5% от общего количества воды цитоплазмы. Этот результат был получен в экспериментах с искусственной засухой, и показал некоторую разницу между состоянием воды в листьях и в корнях растений [4]. Все полученные результаты полностью коррелируют с результатами физиологов Казанской школы, полученных методом импульсного ЯМР, что подтверждает их достоверность [5].

1. Галль Л.Н. Квантовая биоэнергетика живых клеток и организмов // VII Съезд биофизиков России, г. Краснодар, апрель 2023, тезисы докладов, с. 346.

2. Галль Л.Н., Бердников А.С., Галль И.Р. и др. Структурные изменения и появление элементных пиков в низкочастотных спектрах дизелькометрического поглощения разбавленных водных растворов электролитов // Журнал физической химии, 2022, т. 96, № 7, с. 893-888.

3. Желиговская Е.А., Буленков Н.А. Стержневые структуры связанной воды: их возможная роль в самоорганизации биологических систем и недиссипативной передаче энергии // Биофизика, 2017, т. 62, № 5, с. 837-845.

4. Галль Л.Н., Кулешова Т.Э., Галль Н.Р. и др. О физико-химических свойствах воды в цитоплазме клеток растений // ЖФХ, 2023, № 1, с. 5-12.

5. Хохлова Л.П., Бочкарева М.А. Водный обмен растений: итоги ЯМР исследований // Ученые записки Казанского государственного университета, 2009, т. 151, № 4, с.73-103.

ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ РАДИОПРОТЕКТОРНОГО ДНК-СВЯЗЫВАЮЩЕГОСЯ БЕЛКА DSUP С МОДЕЛЬНОЙ ДНК МЕТОДАМИ МАЛОУГЛОВОГО РАССЕЯНИЯ И АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ

Study of the Interaction of the Radioprotective DNA-Binding Protein Dsup with Model DNA by Small-Angle Scattering and Atomic Force Microscopy

Горшкова Ю.Е.¹, Кравченко Е.В.¹, Низамиева А.Ф.²

¹Объединенный институт ядерных исследований, г. Дубна, РФ

²Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, РФ, alb9061@yandex.ru

Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) необходима для выживания клеток, поэтому её повреждения под воздействием УФ-излучения, γ -радиации и других факторов особенно опасны. Существуют, однако, адаптированные к экстремальным условиям окружающей среды организмы, одними из которых являются тихоходки.

Группа ученых из Японии обнаружила, что своей радиорезистентностью тихоходки обязаны уникальным ядерным белкам, одним из которых является Dsup (damage suppressor). В своей работе [1] исследователи показали, что белок Dsup может повышать устойчивость клеток человека к повреждению ДНК в условиях ионизирующего излучения или обработки перекисью водорода на 40 %.

Dsup представляет собой неупорядоченный сильно заряженный ядерный белок. На данный момент известна его первичная структура, а также существуют модели его третичной и четвертичной структур [2]. Существующие модели, однако, требуют уточнений и подтверждений, а экспериментальных исследований, касающихся структуры и физических свойств этого белка крайне мало, что обуславливает актуальность и новизну данной работы.

Для исследования структуры ДНК и комплекса Dsup-ДНК были использованы методы атомно-силовой микроскопии (АСМ) и малоуглового рентгеновского рассеяния (МУРР). В ходе нашего исследования методом АСМ были получены изображения модельной ДНК и комплекса Dsup-ДНК на слюде с конечными концентрациями макромолекул 1 мкг/мл (рис. 1 а,б). При соотношении Dsup/ДНК 85/1 комплекс полностью сворачивается (рис. 1б), что не дает возможности исследовать его структуру методом АСМ. Очевидно, что для выявления всех этапов структурных изменений ДНК в присутствии белка Dsup от связывания до полного

сворачивания необходимо провести прецизионные исследования при различных соотношениях концентраций белка Dsup и ДНК.

Для изучения структуры белка Dsup и комплекса Dsup-ДНК в нативной среде (использован буфер PBS, pH = 7,4) был выбран метод МУРР. Обнаружено, что в белке Dsup и комплексе Dsup-ДНК присутствуют 2 структурных уровня. Для белка Dsup радиусы инерции, соответствующие этим структурным уровням, равны $R_{g1} = 126,2 \text{ \AA} \pm 0,54 \text{ \AA}$ и $R_{g2} = 10,6 \text{ \AA} \pm 0,21 \text{ \AA}$. Для комплекса Dsup-ДНК радиусы инерции равны $R_{g1} = 128,4 \text{ \AA} \pm 0,23 \text{ \AA}$ и $R_{g2} = 9,3 \text{ \AA} \pm 0,43 \text{ \AA}$.

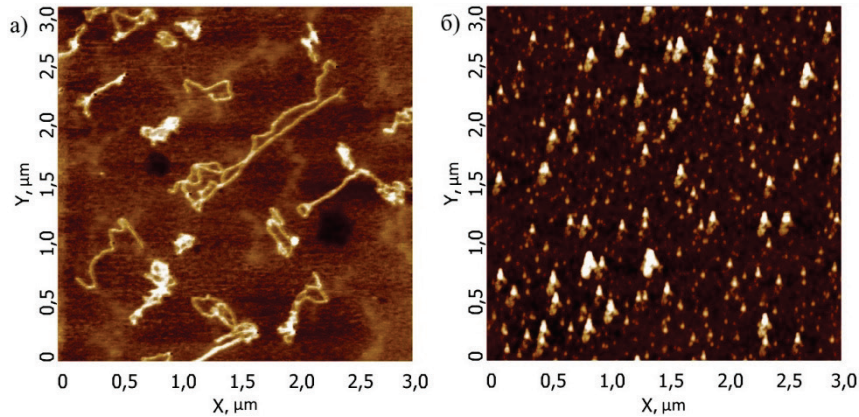


Рисунок 1. а – молекулы ДНК, иммобилизованные на слюде; б – комплекс Dsup-ДНК на слюде

Компактизация комплекса Dsup-ДНК при рассмотренном соотношении концентраций наблюдается как методом АСМ, так и МУРР. Таким образом, видим, что данные полученные этими комплементарными методами хорошо согласуются друг с другом.

1. Hashimoto T. et al. Extremotolerant tardigrade genome and improved radiotolerance of human cultured cells by tardigrade-unique protein // Nature communications, 2016, vol. 7, no. 1, pp. 1-14, doi: 10.1038/ncomms12808.

2. Mínguez-Toral M., Cuevas-Zuviría B., Garrido-Arandia M., Pacios L.F. A computational structural study on the DNA-protecting role of the tardigrade-unique Dsup protein // Scientific reports, 2020, vol. 10, no. 1, doi: 10.1038/s41598-020-70431-1.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ГОРЯЧИХ ПЯТЕН УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО МУТАГЕНЕЗА, ОБРАЗУЮЩИХСЯ НА ЗАПАЗДЫВАЮЩЕЙ НИТИ ДВУХЦЕПОЧЕЧНОЙ ДНК ГЕНА *supF* Interpretation of Hot Spots of Ultraviolet Mutagenesis Formed on the Lagging Strand of *supF* Double-Stranded DNA

Гребнева Е.А.

Донецкий физико-технический институт им. А.А. Галкина, г. Донецк, РФ, grebneva@gmail.com

При облучении молекулы ДНК ультрафиолетовым светом в ней чаще всего образуются *цис-син* циклобутановые пиримидиновые димеры. Напротив них чаще всего появляются мутации замены оснований. Эти мишеные мутации замены оснований распределены по молекуле ДНК неравномерно, в одних местах они появляются очень часто, это горячие пятна ультрафиолетового мутагенеза, а в других – редко или никогда, это холодные пятна ультрафиолетового мутагенеза. В настоящее время в рамках общепринятой полимеразной парадигмы не удастся понять природу и механизмы образования горячих и холодных пятен ультрафиолетового мутагенеза [1].

В рамках предложенной мной полимеразно-таутомерной модели ультрафиолетового мутагенеза [2-4], в ряде работ мной была разработана полимеразно-таутомерная модель образования горячих и холодных пятен ультрафиолетового мутагенеза [5-7]. Было показано, что горячими пятнами ультрафиолетового мутагенеза являются те *цис-син* циклобутановые пиримидиновые димеры, на которые передается много энергии возбуждения, а холодными пятнами ультрафиолетового мутагенеза являются те *цис-син* циклобутановые пиримидиновые димеры, на которые передается мало энергии возбуждения [5]. В данной работе, используя полученные ранее [5-7] значения энергии возбуждения, которые передаются на *цис-син* циклобутановые пиримидиновые димеры, образующиеся при облучении ультрафиолетовым светом молекулы ДНК гена *supF*, были изучены горячие пятна ультрафиолетового мутагенеза, состоящие из трех и более оснований.

Сравнение энергии возбуждения, которые передаются на *цис-син* циклобутановые пиримидиновые димеры, которые приводят к большому количеству мутаций и которые не вызывают мутаций, показано, что чем больше энергия возбуждения, которая передается на данный *цис-син* циклобутановый пиримидиновый димер, тем

больше мутаций вызывает данный димер. Показано, что горячими пятнами следует назвать участки ДНК T₁₂₁C₁₂₂C₁₂₃C₁₂₄T₁₂₅, C₁₆₄T₁₆₅, T₁₅₄C₁₅₅, T₁₀₇C₁₀₈, T₁₆₂C₁₆₃, T₁₆₁T₁₆₂C₁₆₃ и T₁₆₇C₁₆₈C₁₆₉T₁₇₀T₁₇₁C₁₇₂C₁₇₃, так как они должны включать в себя все *цис-син* циклобутановые пиримидиновые димеры, которые участвуют в образовании этих горячих пятен. Оказалось, что на больших участках ДНК, содержащих соседние пиримидиновые основания, даже если на данные пиримидиновые основания передается среднее количество энергии возбуждения, мутации образуются часто. Причиной является то, что так как мутации могут образовываться при образовании двух *цис-син* циклобутановых пиримидиновых димеров, то вероятность образования мутаций повышается.

Сделан вывод о хорошем согласии полимеразно-таутомерной модели образования горячих и холодных пятен ультрафиолетового мутагенеза [5-7] с экспериментальными данными [1].

1. Parris C.N., Levy D.D., Jessee J., Seidman M.M. Proximal and distal effects of sequence context on ultraviolet mutational hotspots in a shuttle vector replicated in xeroderma cells // *Journal of Molecular Biology*, 1994, vol. 236, no. 2, p. 491-502.

2. Grebneva H.A. Paradigm change in mutagenesis: polymerase-tautomeric models for targeted, delayed and untargeted ultraviolet mutagenesis during error-prone and SOS replication of double-stranded DNA, containing *cis-syn* cyclobutane thymine dimers // *International Journal of Molecular Biology: Open Access*, 2019, vol. 4, no. 1, pp. 1-15.

3. Grebneva H.A. Polymerase-tautomeric model for ultraviolet mutagenesis: targeted base substitution and frameshift mutations caused by *cis-syn* cyclobutane thymine dimers. Saarbrücken, Germany: LAP LAMBERT Academic Publishing, 2017, 132 p.

4. Гребнева Е.А. Теория тепловой релаксации энергии возбуждения водородных связей в ДНК. Ее вклад в ультрафиолетовый мутагенез. Saarbrücken, Germany: LAP LAMBERT Academic Publishing, 2019, 345 с.

5. Гребнева Е.А. Природа и механизмы образования горячих и холодных пятен ультрафиолетового мутагенеза // Доклады НАН Украины, 2012, № 10, с. 181-187.

6. Гребнева Е.А. Метод предсказания относительных вероятностей образования *цис-син* циклобутановых пиримидиновых димеров и редких таутомерных форм оснований ДНК на любых сайтах двунилевой ДНК // *Физика и техника высоких давлений*, 2021, т. 31, № 3, с. 88-103.

7. Гребнева Е.А. Полимеразно-таутомерная модель механизма образования горячих и холодных пятен ультрафиолетового мутагенеза: образование горячих и холодных пятен ультрафиолетового мутагенеза на участке двухцепочечной ДНК supF // *Физика и техника высоких давлений*, 2023. т. 33, № 2, с. 101-111.

СТРУКТУРА ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО КРИСТАЛЛА БАКТЕРИАЛЬНОЙ ДНК С ГИСТОНОПОДОБНЫМ БЕЛКОМ DPS

Structure of the Intra-cellular Crystal of Bacterial DNA in Complex with the Histone-Like Protein Dps

Коваленко В.В.¹, Лойко Н.Г.², Терёшкина К.Б.¹, Терёшкин Э.В.¹, Крупянский Ю.Ф.¹

¹ Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семёнова РАН, г. Москва, РФ, vladislavkovalenko785@gmail.com

² Федеральный исследовательский центр Фундаментальные основы биотехнологии РАН, г. Москва, РФ

Эволюционируя, бактериальные клетки приспособились к неблагоприятным условиям окружающей среды. Развив наследуемые стратегии адаптации, основанные на морфологических изменениях, сохраняющих популяцию в стрессовых условиях [1]. Патогенные бактерии могут находиться в покоящемся состоянии в течение долгого времени в теле зараженного человека без проявления симптомов заболевания, однако после наступления благоприятных условий покоящиеся клетки вновь начинают делиться, что вновь приводит к острой фазе заболевания.

Адаптационные стратегии направлены на сохранения ДНК клетки с помощью нуклеоид-ассоциированных белков. Белок Dps индуцирует конденсацию ДНК, уплотняя ее в более высокоупорядоченную “биокристаллическую” структуру [2]. Несмотря на высокий интерес со стороны научного сообщества к данной теме, до сих пор не получено точной молекулярной структуры комплекса ДНК-Dps. Однако решение этого вопроса важно, так как прольет свет на механизмы выживания бактерий в неблагоприятных условиях.

В настоящей работе исследовались кристаллы, выращенные методом диффузии паров в сидячей капле. Кристалл большим линейным размером в 116 мкм был исследован на станции синхротронного излучения ID23-1 в ESRF, Франция. Методами макромолекулярной кристаллографии была расшифрована и задепонирована в Protein Data Bank структура исследуемого кристалла с разрешением 1.37 Å (PDB ID 8OUC). Данная структура белка содержит ранее нерасшифрованные высокоподвижные N-концы [3], за счёт которых происходит связывание белка с молекулой ДНК.

Молекула ДНК добавлялась в кристаллическую структуру с помощью методов молекулярной динамики в программном пакете Gromacs, в крупнозернистом силовом поле MARTINI 2.2 [4]. Для изучения динамики кристалла Dps-ДНК, молекулы В-формы ДНК длиной 250 пары нуклеотидов, помещались в уже существующий кристалл (исследуемая система приведена на рис. 1). Для контроля рассчитывался такой же кристалл без добавления ДНК. Расчётное время составило 100 нс. Проведённые расчёты показали высокую степень связывания между молекулами ДНК и Dps, а также высокую степень стабильности В-формы ДНК внутри кристалла (среднеквадратичное отклонение $RMSD_{\text{ДНК } 250 \text{ п.н.}} \leq 0,15$).

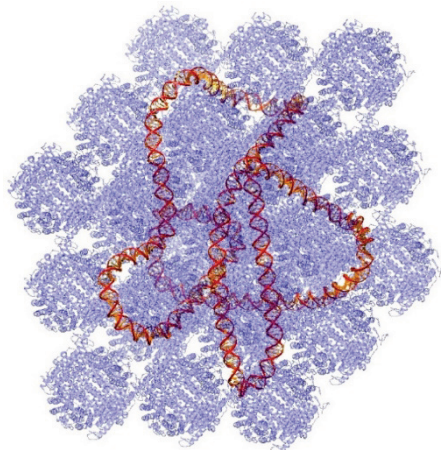


Рисунок 1. Расположение односпиральной молекулы ДНК в кристалле, образованном белками Dps.

Исследование было проведено при финансовой поддержке гранта РФФ №23-24-00250.

1. Karas V.O., Westerlaken I., Meyer A.S. // Journal of Bacteriology, 2015, vol. 15, no. 19. pp. 3206-3215, doi: 10.1128/JB.00475-15.
2. Almirón M., Link A.J., Furlong D., Kolter R. A novel DNA-binding protein with regulatory and protective roles in starved Escherichia coli // Genes & Development, 1992, vol. 6, no. 12, pp. 2646-2654, doi: 10.1101/gad.6.12b.2646.
3. Grant R.A., Filman D.J., Finkel S.E. // Nature Structural Biology, 1998, no. 5, pp. 294-306, doi: 10.1038/nsb0498-294.
4. Marrink S.J., Tieleman D.P. Perspective on the Martini model // Chemical Society Review, 2013, vol. 42, no. 5, pp. 6801-6822, doi: 10.1039/C3CS60093A.

РОЛЬ ОКСИДА АЗОТА ПРИ ДЕЙСТВИИ УФ-В ИЗЛУЧЕНИЯ НА КЛЕТКИ ДРОЖЖЕЙ The Role of Nitric Oxide under the Influence of UV-B Radiation on Yeast Cells

Кочарли Н.К., Гумматова С.Т.

Бакинский государственный университет, г. Баку, Азербайджан, sam_bio@mail.ru

К экологически важным агентам оксидативного стресса относится мягкое ультрафиолетовое излучение УФ-А и УФ-В диапазонов спектра. На поверхности клеток высших организмов имеются специализированные чувствительные рецепторы, которые воспринимают УФ-сигнал и далее, благодаря сопряжению рецепторов с внутриклеточными посредниками, запускается сложная регуляторная система, приводящая к активизации ряда генов и синтезу белков, участвующих в отклике объекта на действие УФ-излучения. Данная система регуляции внутриклеточного метаболизма относится к числу наиболее глобальных в мире высших животных и растений и, по-видимому, микроорганизмов. Стресс у эукариот связан с включением сигнальных путей, в которых участвуют активные формы кислорода (АФК) и оксид азота (NO) обладающие широким спектром биологического действия. В клетках в ходе метаболизма образуются АФК и АФА (активные формы азота). Однако чрезмерно продуцируемые АФК и АФА могут приводить к повреждению клеток и к их гибели. Активные формы азота представляют собой продукты метаболизма оксида (NO), взаимодействует с такими формами кислорода, как супероксид ($O_2^{\cdot-}$) и перекись водорода (H_2O_2). Одним из механизмов функционального взаимодействия между АФК и NO может быть влияние последнего на активность и экспрессию генов антиоксидантных ферментов. При этом даже прямое действие оксида азота на антиоксидантные ферменты, связано с нитрозилирование и нитрования, может приводить к различным результатам, как к повышению или к снижению активности в условиях *in vivo* умеренное ингибирование антиоксидантов оксидом азота может индуцировать усиление экспрессии их генов и через некоторое время приводить к повышению активности.

Доказательства, представленные авторами, подчеркивают роль оксида азота (NO) как антистрессовой молекулы, способной справляться с вызванными УФ-В изменениями в окислительно-восстановительном состоянии клетки. Наша модель предполагает, что восприятие УФ-В вызывает увеличение концентрации абсцизовой кислоты (АБК), что увеличивает H_2O_2 и индуцирует NO. Параллельно УФ-В активирует рецептор УФ-В UVR8. UVR8 стабилизируется эндогенным NO и активирует фактор транскрипции HY5. HY5 может регулировать экспрессию и активность нитратредуктазы, вызывая увеличение NO. NO снижает уровень АБК за счет своей активности поглотителя. Точно так же HY5 также повышает экспрессию CHS и CHI. Это приводит к увеличению содержания флавоноидов и антоцианов, которые способны поглощать УФ-В излучение и улавливать АБК. Кроме того, NO может также регулировать активность антиоксидантной системы (АС) посредством посттрансляционных модификаций антиоксидантных ферментов, таких как каталазы, пероксидазы, оксидазы и др.

Ранее нами было изучена продукция АБК в клетках дрожжей после УФ-В излучения. Целью данной работы было изучение продукции оксида азота в клетках дрожжей после действия УФ-В излучения.

Объектом исследования служили клетки дрожжей *Candida guilliermondii* ВКМУ-916. Облучение клеток дрожжей осуществляли с помощью ртутной лампы ПРК-4. Доза облучения составляла $1,2 \cdot 10^2$ эрг/мм², $2,4 \cdot 10^2$ эрг/мм², $3,6 \cdot 10^2$ эрг/мм², $4,8 \cdot 10^2$ эрг/мм². Контролем служила суспензия необлученных клеток. Суспензию клеток дрожжей подвергали воздействию УФ-В излучения, затем проводили оценку образования NO. Клетки дрожжей облучали при 21°C. Дрожжевые клетки-удобный и хорошо изученный объект для исследования влияния УФ-В излучения. Внутриклеточную концентрацию оксида азота мы определяли при помощи флуоресцентного красителя DAF-FM.

Установлено, что при УФ-В излучении клеток дрожжей изменяется внутриклеточная концентрация оксида азота. При низкой дозе УФ-В лучей ($1,2 \cdot 10^2$ эрг/мм²) не было существенных отличий в концентрации азота между контрольными и облученными клетками. Концентрация оксида азота в облученных клетках дозами ($2,4 \cdot 10^2$ эрг/мм², $3,6 \cdot 10^2$ эрг/мм²) была 1,2 и 1,5 раза выше соответственно, чем в контроле.

На основании этих данных мы сделали вывод, что УФ-В излучение способствует увеличению продукции оксида азота клетками дрожжей. Но при высоких дозах ($4,8 \cdot 10^2$ эрг/мм²) УФ-В излучения количество оксида азота уменьшается. Ранее нами показано, что в клетках дрожжей, облученных этой дозой УФ-В, увеличивается количество супероксидного радикала, установленного хемиллюминесцентным методом по интенсивности хемиллюминесценции люцигенина.

По литературным данным увеличение продукции оксида азота происходит пропорционально поступлению в цитоплазму ионов Ca^{2+} . Главный фактор, инактивирующий оксид азота - супероксидный радикал. В результате его взаимодействия с молекулой NO происходит образование высокоактивных радикалов - нитропероксидного и гидропероксидного. При истощении своего основного субстрата L-аргинина, NO-синтаза сама может генерировать супероксидный радикал. Оксид азота также участвует в детоксикации супероксида с образованием пероксинитрита ($ONOO^-$) и перекиси водорода. Таким образом, оксиду азота, в зависимости от конкретных условий, т.е. в зависимости от дозы действующего фактора свойственны повреждающие и защитные функции.

ПОИСК ПОТЕНЦИАЛОбРАЗУЮЩИХ ИОНОВ В ПИТАТЕЛЬНОМ РАСТВОРЕ БИОЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ

Identification of Potential-generating Ions in the Nutrient Solution of Bioelectrochemical System

Кулешова Т.Э., Желначева П.В., Гасиева З.А., Галушко А.С., Панова Г.Г.

Агрофизический научно-исследовательский институт, г. Санкт-Петербург, РФ, www.piter.ru@bk.ru

Биоэлектрохимические системы (БЭС) – устройства для получения электрической энергии за счет протекания химических реакций, сопутствующих жизнедеятельности живых организмов. В корнеобитаемой среде растений наблюдается наличие электрических полей, при этом перемещение зарядов может быть обусловлено электроактивностью растений и микроорганизмов [1]. Теоретически рассчитанная удельная мощность растительно-микробных топливных элементов, использующих в качестве энергоресурса способность бактерий окислять ризодепозиты, составляет $3,2$ Вт/м² [2]. Предположительно, в основе электрогенных процессов в корнеобитаемой среде могут лежать возникающие в результате транспорта ионов концентрационные эффекты. Ранее было показано, что использование в биоэлектрохимической системе питательного раствора, содержащего азот в нитратной форме ($Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, KNO_3), позволило получать лучшие показатели по величине и стабильности генерируемого напряжения по сравнению с использованием растворов, включающих смешанную нитратно-аммонийную (NH_4NO_3 , KNO_3) и амидную ($(NH_2)_2CO$) формы азота [3].

Целью данной работы было изучение влияния состава питательного раствора на формировании разности потенциалов в корнеобитаемой среде и поиск потенциалобразующих ионов.

Растения выращивали по технологии панопоники в контролируемых условиях интенсивной светокультуры, в качестве фитотест-объекта выбран салат (*Lactuca sativa* L.) сорта Тайфун. Были исследованы следующие варианты питательного раствора Кнопа с увеличенным в два раза содержанием: БЭС1 – хлорида калия KCl, БЭС2 – дигидроортофосфата калия KH_2PO_4 , БЭС3 – сульфата магния $MgSO_4 \cdot 7H_2O$.

Полученные морфометрические характеристики салата и электрических показатели БЭС представлены в таблице 1. Использование классического питательного раствора Кнопа приводит к формированию разности потенциалов в системе корнеобитаемая среда-растения на среднем уровне 243 мВ, с максимальным напряжением составляющем 346 мВ. Увеличение концентрации хлорида калия и дигидроортофосфата калия привело к снижению среднего значения напряжения до 235 мВ в БЭС1 и 195 мВ в БЭС2. Тогда как в удвоение концентрации сульфата магния, наоборот, вызвало повышение разности потенциалов до среднего значения 248 мВ и максимального 366 мВ в БЭС3. Магний является одним из важнейших соединений, участвующих в биосинтезе хлорофилла и повышающим интенсивность фотосинтеза. Увеличение его концентрации в питательном растворе привело не только к росту биомассы, но и улучшению электрических параметров БЭС.

Таблица 1. Морфометрические и электрические показатели исследованных БЭС

| Вариант БЭС | Масса листьев, г | Высота растений, см | Масса корней, г | Среднее напряжение, мВ | Максимальное напряжение, мВ |
|---|------------------|---------------------|-----------------|------------------------|-----------------------------|
| БЭС1 ($\uparrow\text{KCl}$) | 15,7 \pm 4,1 | 12 \pm 1 | 4,3 | 235 | 347 |
| БЭС2 ($\uparrow\text{KH}_2\text{PO}_4$) | 14,6 \pm 2,8 | 13 \pm 3 | 6,4 | 195 | 273 |
| БЭС3 ($\uparrow\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$) | 35,3 \pm 2,7 | 15 \pm 4 | 10,7 | 248 | 366 |

Для выявления потенциалобразующих ионов были измерены концентрации K^+ , NH_4^+ , NO_3^- , Ca^{2+} на верхнем и нижнем электродах. Во всех вариантах разработанных биоэлектрохимических систем верхний электрод был электроотрицателен относительно нижнего электрода, что коррелирует с полученным содержанием ионов на них – на нижнем электроде больше положительных ионов Ca^{2+} , K^+ , NH_4^+ , а на верхнем электроде отрицательных ионов NO_3^- .

Можно сделать вывод, что наряду с нитратной формой азота, сульфат магния может играть потенциалобразующую роль в формировании электрогенных реакций в системе корнеобитаемая среда-растения.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации (МК-4397.2022.5).

1. Strik D.P.V.T.B., Hamelers H.V.M., Snel J.F., Buisman, C.J. Green electricity production with living plants and bacteria in a fuel cell // International Journal of Energy Research, 2008, vol. 32, no. 9, doi: 10.1002/er.1397.

2. Кулешова Т.Э., Галушко А.С., Панова Г.Г. и др. Биоэлектрохимические системы на основе электроактивности растений и микроорганизмов в корнеобитаемой среде (обзор) // Сельскохозяйственная биология, 2022, т. 57, № 3, с. 425-440. doi: 10.15389/agrobiology.2022.3.425rus.

3. Кулешова Т.Э., Желначева П.В., Гасиева З.А. и др. Зависимость биоэлектрического потенциала в корнеобитаемой среде от формы азота в питательном растворе // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2022, т. 7, № 4, с. 546-551, doi: 10.29039/rusjbpс.2022.0558.

НОВЫЕ БИОКАТАЛИЗАТОРЫ НА ОСНОВЕ БРОМЕЛИНА, ИММОБИЛИЗОВАННОГО НА ФУНКЦИОНИЗИРОВАННЫХ ХИТОЗАНАХ, И ИССЛЕДОВАНИЕ ИХ СТРУКТУРНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ

Novel Biocatalysts Based on Bromelain Immobilized on Functionalized Chitosans and Research on Their Structural Features

Лавлинская М.С.^{1,2}, Файзуллин Д.А.³, Гончарова С.С.¹, Кондратьев М.С.^{1,4}, Сорокин А.В.^{1,2}, Холявка М.Г.^{1,2}, Зуев Ю.Ф.³, Артюхов В.Г.¹

¹ Воронежский государственный университет, г. Воронеж, РФ, maria.lavlinskaya@gmail.com

² Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ

³ Казанский институт биохимии и биофизики, г. Казань, РФ

⁴ Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделение ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН», г. Пущино, РФ

Одной из фундаментальных задач молекулярной биофизики и биоинженерии является установление связи пространственной организации биомолекул с их функциональными свойствами для получения новых данных о молекулярных механизмах функционирования макромолекул в составе сложных молекулярных комплексов [1,2]. Подобная информация абсолютно необходима в различных технологиях для получения биокатализаторов с регулируемыми характеристиками. Иммунизация ферментов на различных носителях представляет собой эффективный подход к улучшению их стабильности, возможность повторного использования и даже изменение их каталитических свойств [3-5].

Целью настоящей работы являлось исследование особенностей взаимодействия цистеиновой протеазы бромелина (КФ 3.4.22.32) с водорастворимыми производными хитозана – карбоксиметилхитозаном, *N*-(2-гидроксипропил)-3-триметиламмоний хитозаном, сульфатом хитозана и ацетатом хитозана – при ее иммобилизации и выявление структурных особенностей и каталитических свойств полученных комплексов.

Методом молекулярного докинга выявлено, что сульфат хитозана и карбоксиметилхитозан образуют наибольшее количество водородных связей с бромелином по сравнению с ацетатом хитозана и *N*-(2-гидроксипропил)-3-триметиламмоний хитозаном, что приводит к более высокому выходу иммобилизации по белку на этих полимерах (до 58 и 65% соответственно). Кроме того, все рассматриваемые модификации хитозана, кроме *N*-(2-гидроксипропил)-3-триметиламмоний хитозана, образуют водородные связи с His158, расположенным в активном центре бромелина, что, по-видимому, объясняет значительное снижение активности биокатализаторов по сравнению с раствором свободного энзима. *N*-(2-гидроксипропил)-3-триметиламмоний хитозан проявляет только слабые физические взаимодействия с His158, что, возможно, модулирует структуру активного центра бромелина и приводит к повышению его общей протеазной активности до 208 % и до 158% удельной активности. Исследование указанных комплексов методом ИК-спектроскопии показало, что взаимодействие между *N*-(2-гидроксипропил)-3-триметиламмоний хитозаном и бромелином не оказывает значительного влияния на вторичную структуру фермента.

Таким образом, получены биокатализаторы на основе бромелина с различной протеазной активностью и исследованы особенности образования фермент-полисахаридного комплекса. Учитывая высокие перспективы применения цистеиновых протеаз в составах по уходу за ранами различной этиологии, полученные данные могут быть использованы при разработке инновационных мультифункциональных ранозаживляющих материалах.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект № 21-74-20053.

1. Holyavka M.G., Artyukhov V.G., Kondratyev M.S. et al. In silico design of high-affinity ligands for the immobilization of inulinase // *Computers in Biology and Medicine*, 2016, vol. 71, pp. 198-204, doi: 10.1016/j.compbiomed.2016.02.015.

2. Ковалева Т.А., Холявка М.Г., Артюхов В.Г. Характеристика инулиназ. пути регулирования и стабилизации их активности // *Биотехнология*, 2012, № 1, С. 43-63.

3. Холявка М.Г., Ковалёва Т.А., Хрупина Е.А. и др. Создание гетерогенного ферментного препарата на основе иммобилизованной инулиназы из *Helianthus tuberosus* // *Биотехнология*, 2012, № 6, с. 31-42.

4. Ol'shannikova S.S., Red'ko Y.A., Lavlinskaya M.S. et al. Preparation of papain complexes with chitosan microparticles and evaluation of their stability using the enzyme activity level // *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2022, vol. 55, no. 11, pp. 1240-1244, doi: 10.1007/s11094-022-02564-8.

5. Sorokin A.V., Olshannikova S.S., Lavlinskaya M.S. et al. Chitosan graft copolymers with n-vinylimidazole as promising matrices for immobilization of bromelain, ficin, and papain // *Polymers*, 2022, vol. 14, no. 11, article no. 2279, doi: 10.3390/polym14112279.

КОМПЛЕКСЫ ЖЕЛЕЗА (III) С КАТЕХИНОМ И ИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С ДНК Complexes of Iron (III) with Catechin and their Interaction with DNA

Никитин Д.А., Касьяненко Н.А.

Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, РФ, st075754@student.spbu.ru

Флавоноиды, которые содержатся в растительном сырье (чае, красном вине, плодах и ягодах), в последнее время привлекают интерес в связи с их включением в состав медицинских препаратов, отличающихся биосовместимостью и низкой токсичностью. Среди флавоноидов наиболее перспективными соединениями в этой связи являются катехины, которые отвечают за антиоксидантные свойства этих продуктов. Биологическая активность катехинов широко описана в литературе: эти соединения обладают противовирусными, антибактериальными, противогрибковыми и даже противоопухолевыми свойствами (например, противоопухолевую активность показывает эпигаллокатехин галлат) [1]. В недавних исследованиях было показано усиление биологической активности у (+)-катехина в присутствии ионов железа [2]. В рамках проведенного исследования было запланировано изучить взаимодействие ионов железа (III) с (+)-катехином в растворе, а также рассмотреть возможность формирования комплексов, содержащих ДНК, железо и катехин одновременно.

В работе использовали методы ультрафиолетовой спектрофотометрии (использовали спектрофотометр СФ-2000, Россия), вискозиметрии (с помощью низкоградиентного ротационного вискозиметра типа Зимма-Крозерса), динамического рассеяния света (установка PhotoCor, Россия) и атомной силовой микроскопии (Nanoscope IV Bruker). Использовали коммерческие препараты фирмы Sigma Aldrich: высокомолекулярную тимусную ДНК, соль FeCl₃, (+)-катехин. Молекулярная масса ДНК M=12×10⁶ Да была определена вискозиметрически, Растворы солей FeCl₃, NaCl готовили из соответствующих насыщенных водных растворов, растворы (+)-катехина готовили по навеске.

Во всех исследуемых растворах концентрация NaCl составляла 0,005 М. Было показано, что Fe^{3+} и катехин взаимодействуют в водно-солевых растворах, причем в растворе происходит формирование дискретных наночастиц, гидродинамический радиус которых, согласно данным метода динамического светорассеяния, составлял (40 ± 10) нм и (200 ± 50) нм. Существование таких наночастиц подтверждается данными атомной силовой микроскопии. Оптическая плотность растворов катехина возрастала по мере добавления всё больших концентраций хлорида железа, однако вычисленные спектры поглощения катехина говорят об отсутствии изменений в электронной структуре его хромофоров, то есть связывание катехинов и ионов железа происходит, видимо, по боковым гидроксигруппам катехина.

Катехин в условиях эксперимента не взаимодействует с отрицательно заряженной ДНК. Действительно, ни анализ спектров поглощения ДНК в присутствии различных концентраций катехина, ни вискозиметрия не выявили какого-либо взаимодействия между компонентами. Вместе с тем, ионы Fe^{3+} хорошо связываются с ДНК. При определенных концентрациях ионов железа в растворах ДНК макромолекула конденсируется, а затем при $C(Fe^{3+}) > 4 \times 10^{-3}$ М ДНК выпадает в осадок.

При формировании трёхкомпонентных систем (ДНК-катехин-железо) было показано, что порядок смешивания компонентов отражается на итоговом результате. При этом совокупность данных разных методов указывала на формирование комплексов, в которых ДНК контактировала и с ионами железа, и с катехином.

Результаты методов низкоградиентной вискозиметрии и динамического рассеяния света показывают, что размера клубка ДНК в растворах с ионами железа падают. Это может быть следствием изменения полиэлектролитного набухания макромолекулы при связывании с ионами железа. Вязкость же растворов ДНК в присутствии катехинов не изменилась, что показывает отсутствие взаимодействия между этими молекулами. В тройных системах размеры ДНК отличались и от наблюдаемых при ее комплексообразовании с ионами железа без катехина, и от размеров ДНК в присутствии катехина, что указывает на формирование комплексов ДНК-катехин-железо.

Таким образом, было показано, что молекула ДНК не вступает во взаимодействие с молекулами катехина в растворе, однако она способна образовывать комплексы с катехином в присутствии ионов трёхвалентного железа.

1. Cadoná F.C., Dantas R.F., de Mello G.H., Silva-Jr F.P. Natural products targeting into cancer hallmarks: An update on caffeine, theobromine, and (+)-catechin // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2021, pp. 1-20, doi:10.1080/10408398.2021.1913091.

2. Manna M.S., Saha P., Ghoshal A.K. Iron complexation of pharmaceutical catechins through selective separation // *RSC Advances*, 2014, vol. 4, pp. 26247-26250, doi: 10.1039/c4ra03683b.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИНГИБИРУЮЩИХ ЭФФЕКТОВ ГИПОМАГНИТНОГО ПОЛЯ И КОМБИНИРОВАННЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ НА ПРОДУКЦИЮ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА (АФК) НЕЙТРОФИЛАМИ

Comparative Analysis of the Inhibitory Effects of Hypomagnetic Field and Combined Magnetic Fields on the Production of Reactive Oxygen Species (ROS) by Neutrophils

Новиков В.В.¹, Яблокова Е.В.¹, Шаев И.А.¹, Новикова Н.И.², Фесенко Е.Е.¹

¹ Институт биофизики клетк РАН – обособленное подразделение ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», г. Пушкино, РФ, docmag@mail.ru

² Филиал Института биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, г. Пушкино, РФ

Ранее мы показали, что в результате пребывания нейтрофилов в ослабленном (в ~ 2500 раз) с помощью системы магнитных экранов геомагнитном поле (ГМП) фоновая продукция активных форм кислорода (АФК) в них существенно снижалась [1]. Эти результаты были получены методами флуоресцентной спектроскопии с использованием проникающих в клетку флуоресцентных зондов (дихлордигидрофлуоресцеина-диацетата и дигидрородамина 123), а также методом хемиллюминесцентного анализа с использованием люцигенина [2], активатора хемиллюминесценции, относительно селективного для супероксидного радикала. При добавке малых концентраций (< 1 мкМ) активаторов респираторного взрыва, формируемого пептида N-formyl-Met-Leu-Phe или форболового эфира форбол-12-меристат-13-ацетата, в случае детекции флуоресцентным методом этот эффект гипомангнитного поля (гипоМП) сохранялся, но по величине соответствовал эффектам, полученным в опытах без этих активаторов [1]. На основании этих результатов было сложно сделать однозначные выводы об основных источниках АФК, реагирующих на изменение этих магнитных условий. Далее с использованием ингибиторного анализа мы показали, что добавка динитрофенола - разобшителя окисления и фосфорилирования в митохондриях практически полностью нивелирует различия в продукции АФК между контрольными (ГМП) и опытными (гипоМП) группами, в отличие от дифенилйодония – неспецифического ингибитора НАДФН-оксидазы, добавка которого приводила к снижению продукции АФК в обоих случаях и сохранению различий между контролем и опытом [2]. Также на величину эффекта гипоМП влияла добавка ротенона (ингибитора 1

комплекса ЭТС в митохондриях) [3]. Все эти результаты в большей степени свидетельствовали о роли митохондрий, а не НАДФН – оксидазы в эффектах ослабленного ГМП.

Комбинированные постоянные и переменные магнитные поля (КМП), напротив, вызывают в основном стимулирующие эффекты на продукцию АФК в нейтрофилах, что было отмечено многими авторами [4]. Однако обнаружены определенные режимы (например: ПМП 60 мкТл, ПеМП 60 нТл, частота 49,5 Гц), вызывающие ингибирующий эффект [5]. В случае КМП ингибирующий эффект проявляется при предварительной обработке полем нейтрофилов и последующем введении активаторов респираторно взрыва, как снижение хемиллюминесцентного ответа на эти активаторы. Для более полного сравнения ингибирующих эффектов гипомангнитного поля и определенных режимов КМП были проведены специальные эксперименты, которые показали, что пребывание в гипоМП не сопровождается снижением хемиллюминесцентного ответа нейтрофилов на введение активаторов респираторного взрыва.

Таким образом, установлено, что молекулярные механизмы действия гипомангнитного поля и КМП на продукцию АФК в нейтрофилах отличаются. В случае КМП это, прежде всего влияние на системы, контролирующие респираторный взрыв (НАДФН-оксидаза, миелопероксидаза), а в случае гипомангнитного поля на первый план выходят другие механизмы, в частности контроля продукции АФК в ЭТС митохондрий.

1. Новиков В.В., Яблокова Е.В., Фесенко Е.Е. Влияние «нулевого» магнитного поля на продукцию активных форм кислорода в нейтрофилах // *Биофизика*, 2018, т. 63, № 3, с. 484-488.

2. Новиков В.В., Яблокова Е.В., Шаев И.А., Фесенко Е.Е. Снижение продукции супероксидного анион-радикала в нейтрофилах в результате действия «нулевого» магнитного поля // *Биофизика*, 2020, т. 65, № 4, с. 735-740.

3. Новиков В.В., Яблокова Е.В., Валеева Э.Р., Фесенко Е.Е. К вопросу о молекулярных механизмах действия «нулевого» магнитного поля на продукцию активных форм кислорода в неактивированных нейтрофилах // *Биофизика*, 2019, т. 64, № 4, с. 720-725.

4. Шаев И.А., Новиков В.В. Влияние слабых переменных магнитных полей на нейтрофильные гранулоциты. Аналитический обзор // *Физика биологии и медицины*, 2023, № 1, с. 26-43, doi: 10.7256/2730-0560.2023.1.40410.

5. Новиков В.В., Яблокова Е.В., Фесенко Е.Е. Снижение интенсивности респираторного взрыва в нейтрофилах после воздействия определенных режимов слабых комбинированных магнитных полей // *Биофизика*, 2020, т. 65, № 1, с. 97-103.

О СОПРЯЖЕНИИ СИММЕТРИИ И ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ПРЕОБРАЗОВАНИЙ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАШИНАХ

On the Conjugation of Symmetry and Energy Transformations in Molecular Machines

Новождён М.В., Твердислов В.А.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, novozhden.mv18@physics.msu.ru

На данный момент в науках, тесно связанных с функционированием живого, остро стоит вопрос описания и понимания физических механизмов работы белков. В списке вопросов фигурируют такие проблемы, как: фолдинг белка, влияние электронно-конформационных изменений на работу белка, адекватное применение термодинамики и статистической физики к открытой системе, далекой от равновесного состояния, коей является клетка, и многие другие вопросы. Однако инструментарий биологии не позволяет выяснить досконально, каким закономерностям подчиняются данные процессы, в связи с чем эта проблема возможно объяснить только физическими принципами.

Впервые идеи молекулярных машин стали обсуждаться в отечественной научной литературе в работах Ю.И. Хургина, С.Э. Шноля, Л.А. Блюменфельда, Д.С. Чернавского [1-3]. В книге Л.А. Блюменфельда излагаются идеи применения термодинамики к системам из малого числа молекул в условиях клетки (белкам) рассматриваются принципы этропийных машин, вводится понятие конструкции. Однако такие принципиальные для реализации подобных структур идеи, как симметричные переходы, были введены и оценены численно позже в работах В.А. Твердислова и Е.В. Малышко [4]. Также было предложено определение молекулярной машины как механизма, способного в циклическом режиме совершать полезную работу путем сопряженного нарушения симметрии и преобразования формы энергии.

Благодаря современным методам структурного анализа получено много данных о строении белковых молекул с высокой точностью. Кроме того, принципы работы некоторых доменов были исследованы достаточно подробно. Однако оценка механики работы белка, исходя из строгих соображений, остается невозможной. По той же причине существует проблема описания укладки трехмерной структуры белка, которую последнее время стремятся решать применением нейросетевых алгоритмов.

Для разрешения этих проблем предполагается прибегнуть к концепциям, предлагаемым симметричностью. Симметричные преобразования приводят к понижению энергии системы молекул, помещая ее в локальный термодинамический минимум, обусловленный именно конформационно [4]. Однако кроме долговременной устойчивости конструкции [1], конформационная подвижность также позволяет механизму выполнять и

полезную работу. Подобное реализуется за счет нескольких положений равновесия, обусловленных все также конформационно.

Однако важно понимать, что хиральная природа белков не только описывает энергетические преобразования, но и позволяет формировать выделенные степени свободы в молекулярной машине [1]. Для изучения молекулярных машин нам необходима иерархичность, реализующаяся за счет уровней структур (первичная, вторичная и т.д.), требование свойства хиральности машины исходя из структуры и выделение степеней свободы при помощи нелинейного элемента типа храповик-собачка.

Целью работы выступает подбор и систематизация примеров нелинейных механизмов в молекулярных машинах в рамках предложенного формализма симметрии. Результаты данной работы могут быть использованы для дальнейшего развития представлений о молекулярных механизмах и их работе.

1. Блюменфельд Л.А. Решаемые и нерешаемые проблемы биологической физики. М.: Едиториал УРСС, 2002.
2. Шноль С.Э., Чернавский Д.С., Хургин У.И. Молекула белка- фермента как механическая система. В сб. Колебательные процессы в биол. и хим. системах. М.: Наука, 1967, с. 42-50.
3. Чернавский Д.С., Хургин У.И., Шноль С.Э. Об упругих деформациях белка-фермента // Молекулярная биология, 1967, т. 1, с. 419-424.
4. Твердислов В.А., Малышко Е.В. О закономерностях спонтанного формирования структурных иерархий в хиральных системах неживой и живой природы // УФН, 2019, т. 189, с. 375-385.
5. Финкельштейн А.В., Птицын О.Б. Физика белка: курс лекций с цветными и стереоскопическими иллюстрациями и задачами. М.: кДУ. 2012.

УСТОЙЧИВОСТЬ КОЛЛОИДОВ НА ОСНОВЕ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИ АКТИВИРОВАННОГО ВОДНОГО РАСТВОРА Sunflower Oil Emulsion Stability in Electrochemically Activated Aqueous Solutions

Погорелов А.Г., Ипатов Л.Г., Панайт А.И., Станкевич А.А., Погорелова А.А., Суворов О.А.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино, РФ, agpogorelov@rambler.ru

Предполагают, что уникальные свойства метастабильного электрохимически активированного водного раствора (ЭХАР) позволяют модифицировать технологические свойства пищевой эмульсии, приготовленной на основе фракций ЭХАР (анодит, катодит). Цель работы состоит в том, чтобы в сравнительном эксперименте изучить устойчивость модельной эмульсии «масло в воде», где анолит или катодит использовали в качестве дисперсионной среды, а также физические и морфометрические характеристики эмульсионной системы. Эмульсии на основе анолита и катодита, содержащие рафинированное подсолнечное масло, эмульгатор (лецитин) и стабилизаторы: альгинат натрия, Na-карбоксиметилцеллюлоза (Na-КМЦ), пектины, агар-агар. Анализировали агрегативную устойчивость и вязкость модельных эмульсий, морфометрические характеристики, размер частиц масла и их дзета-потенциал. Показано, что фракции ЭХАР влияют на процесс расслоения модельных эмульсий, созданных на основе ингредиентов растительного происхождения. Наиболее стабильными были водные эмульсии на алгинате и Na-КМЦ, а добавление агара вызывало образование геля. В результате замены воды на ЭХАР получали разнонаправленные эффекты в зависимости от доли масляной фазы в эмульсии. В образцах с концентрацией масла 20% (по объему) катодит дестабилизирует исследуемые эмульсии, а образцы с агаром трансформируются из геля в состояние жидкости. Наоборот, при использовании анолита быстрее разрушались эмульсии с долей масла 30% (по объему). Эффективная вязкость таких эмульсий коррелирует с долей устойчивой фазы, снижая значение в образцах на анолите. Противоположное действие фракции ЭХАР на изучаемые эмульсии может быть обусловлено изменением состояния межфазной поверхности (поверхностное натяжение, активность адсорбционного слоя эмульгатора, коалесценция частиц). В эмульсии, содержащей высокую долю масла и эмульгатор животного происхождения, наличие фракции ЭХАР значительно не влияло на агрегативную устойчивость системы. Выявленные закономерности, касающиеся влияния фракций ЭХАР на агрегативную устойчивость прямых эмульсий «масло в воде», могут применяться для корректирования свойств эмульсионных продуктов с объемным содержанием жировой фазы до 30% (низкожирные майонезы и соусы, эмульсионные напитки), а в перспективе – для безреагентного управления свойствами и поведением пищевого и биологического сырья, полуфабрикатов, продукции.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 20-16-00019, <https://rscf.ru/project/20-16-00019>.

**ИССЛЕДОВАНИЕ РОСТА И ПРОДУКЦИИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ В
КУЛЬТУРЕ *PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM* BOHLIN**
Study of Growth and Production of Photosynthetic Pigments in *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin Culture

Поплавская А.Ю.¹, Клочкова В.С.¹, Лелеков А.С.²

¹ Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, *and.poplav.191@gmail.com*

² Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь, РФ, *a.lelekov@yandex.ru*

Phaeodactylum tricornutum – морская диатомовая водоросль, которая широко изучается в области экологии, биохимии, молекулярной биологии. Известно, что эта водоросль синтезирует ценные и широко востребованные соединения, например, фукоксантин, эйкозапентаеновую и докозагексаеновую кислоты, считается коммерчески целесообразным штаммом с потенциалом крупномасштабного производства [1]. Диатомовые водоросли имеют специфический набор пигментов: хлорофилл *a* и *c*, фукоксантин, диатиноксантин, диатоксантин и диатинохром. *Ph. tricornutum* осуществляет сбор света в основном с помощью комплексов фукоксантин-хлорофилл-белок, которые содержат три светоулавливающих пигмента, включая фукоксантин, хлорофилл *a* и хлорофилл *c* [2]. Для исследований механизмов влияния света на рост культуры *Ph. tricornutum* и продукцию БАВ возникает необходимость в разработке экспресс-метода количественного определения пигментов. Как правило, большинство методов подразумевают под собой экстракцию пигментов органическими растворителями из клеток путём их дезинтеграции [3], что является вмешиванием в процессы роста культуры. Одним из способов определения концентрации пигментов в нативном состоянии является анализ спектров поглощения культуры микроводорослей с помощью математического моделирования [4].

Цель данной работы – разработка экспресс-метода расчёта концентрации фотосинтетических пигментов диатомовой микроводоросли *Ph. tricornutum*.

Работа выполнялась на базе кафедры «Физика» СевГУ. Объектом исследования являлась диатомовая микроводоросль *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin 1898. Культивирование осуществлялось в плоскопараллельном фотобиореакторе с рабочим объёмом 1 л и площадью освещаемой поверхности 0,05 м² при круглосуточном искусственном освещении светодиодными лампами. Освещённость в среднем составляла 5 клк. Рост культуры регистрировали оптическим методом, определяя оптическую плотность D_{750} на фотометре КФК-2. Концентрация хлорофилла *a* определялась биохимическим методом по [3] и оптическим с помощью модели (1), которая представляет собой разделение спектра поглощения культуры в красной области на кривые Гаусса. Спектры поглощения регистрировались в диапазоне от 400 до 800 нм с шагом 0,5 нм на двухлучевом спектрофотометре Lambda 365 Double Beam UV-Visible (производитель: Perkin Elmer, Индия) с интегрирующей сферой диаметром 60 мм. Кварцевые кюветы с длиной оптического пути 1 см располагали в стандартном положении и на расстоянии 1 см от входного окна ИС для последующего расчёта истинного спектра поглощения, компенсированного на рассеяние по методике [5].

Математическая модель, описывающая спектр нативный поглощения культуры *Ph. tricornutum* в красной области, имеет вид:

$$D(\lambda) = D_{chl\ c}(\lambda) + D_{chl\ a}(\lambda) = C_{chl\ c} \cdot \varepsilon_{chl\ c} \cdot e^{-\ln 2 \left(\frac{\lambda - 631}{36} \right)^2} + C_{chl\ a} \cdot \varepsilon_{chl\ a} \cdot e^{-\ln 2 \left(\frac{\lambda - 675}{12,80} \right)^2}, \quad (1)$$

где $D(\lambda)$ – общая оптическая плотность, отн. ед; $D_{chl\ c}(\lambda)$ – оптическая плотность хлорофилла *c*; $D_{chl\ a}(\lambda)$ – оптическая плотность хлорофилла *a*; $C_{chl\ c}$ – концентрация хлорофилла *c* (г/л); $\varepsilon_{chl\ c}$ – экстинкция хлорофилла *c* (л·г⁻¹·см⁻¹); $C_{chl\ a}$ – концентрация хлорофилла *a* (г/л); $\varepsilon_{chl\ a}$ – экстинкция хлорофилла *a* (л·г⁻¹·см⁻¹).

Для верификации модели (1) проведена серия параллельных измерений концентрации хлорофилла *a* стандартным биохимическим методом [3] и методом кривых Гаусса. Установлено, что предлагаемая модель с достаточно высокой точностью ($R^2 > 0,95$) позволяет определить концентрацию хлорофилла *a* культуры *Ph. tricornutum* без вмешательства в ход эксперимента. Предлагаемый подход позволил получить накопительные кривые динамики хлорофилла *a* и *c* и их содержания в биомассе, определить продукцию этих соединений. Необходимо учитывать, что при работе с моделью необходимо использовать только истинный спектр поглощения культуры, который, в свою очередь, должен быть записан на спектрофотометре, оснащённом интегрирующей сферой.

1. Yang R., Wei D., Xie J. Diatoms as cell factories for high-value products: chrysolaminarin, eicosapentaenoic acid, and fucoxanthin // Crit. Rev. Biotechnol., 2020, vol. 40, no. 7, pp. 993-1009.

2. Wang W., Yu L.J., Xu C. et al. Structural basis for blue-green light harvesting and energy dissipation in diatoms // Science, 2019, vol. 363, no. 6427, p. 598.

3. Паламодова О.С. Динамика фотоадаптации некоторых видов диатомовых водорослей // Экология моря, 2009, вып. 78, с. 70-74.

4. Küpper H., Seibert S., Parameswaran A. Fast, sensitive, and inexpensive alternative to analytical pigment HPLC: quantification of chlorophylls and carotenoids in crude extracts by fitting with Gauss peak spectra // Analyt. Chem., 2007, vol. 79, no. 20, pp. 7611-7627.

5. Клочкова В.С., Лелеков А.С., Геворгиз Р.Г. и др. Изменение спектра оптической плотности накопительной культуры *Arthrospira (Spirulina) platensis* // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2021, т. 6, № 4, с. 543-547.

ПРИМЕНЕНИЕ МИКРОСПЕКТРОФЛУОРИМЕТРА / МИКРОСПЕКТРОФОТОМЕТРА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ПОВЕРХНОСТИ РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК

Application of Microspectrofluorometer / Microspectrophotometer for Study of the Surface of Plant Cells

Рощина В.В

Институт биофизики клетки РАН, ФИЦ ПНЦБИ РАН, г. Пущино, РФ, roshchinavic@mail.ru

Для защиты растительной клетки на ее поверхность выделяются разнообразные соединения в жидкой форме (фенолы, терпены, алкалоиды), а некоторые из них откладываются на поверхности. Изучение поверхности до сих пор не являлось отдельной задачей биофизических работ. Однако эта проблема могла быть рассмотрена с применением техники микроспектрофлуориметрии и микроспектрофотометрии [1,2]. С помощью микроспектрофлуориметра/микроспектрофотометра MSF-15 (ЛОМО, Санкт-Петербург) получены спектры флуоресценции и поглощения интактных клеток растений можжевельника высокого *Juniperus excelsa*, чубушника крупноцветкового *Philadelphus grandiflorus*, зопника клубненосного *Phlomis tuberosa*, белокопытника ложного *Petasites spurius*, василька шероховатого *Centaurea scabiosa* и клевера красного *Trifolium pratense*. Эта аппаратура позволила обнаружить на поверхности интактных клеток присутствие секретов, включающих вторичные метаболиты с максимумами флуоресценции в области 530-550 нм, характерными для фенольных соединений или для голубых пигментов азуленов с максимумами абсорбции в области 580-620 нм. Подобный методический подход рекомендован для экспресс-анализа интактных поверхностей растительных клеток.

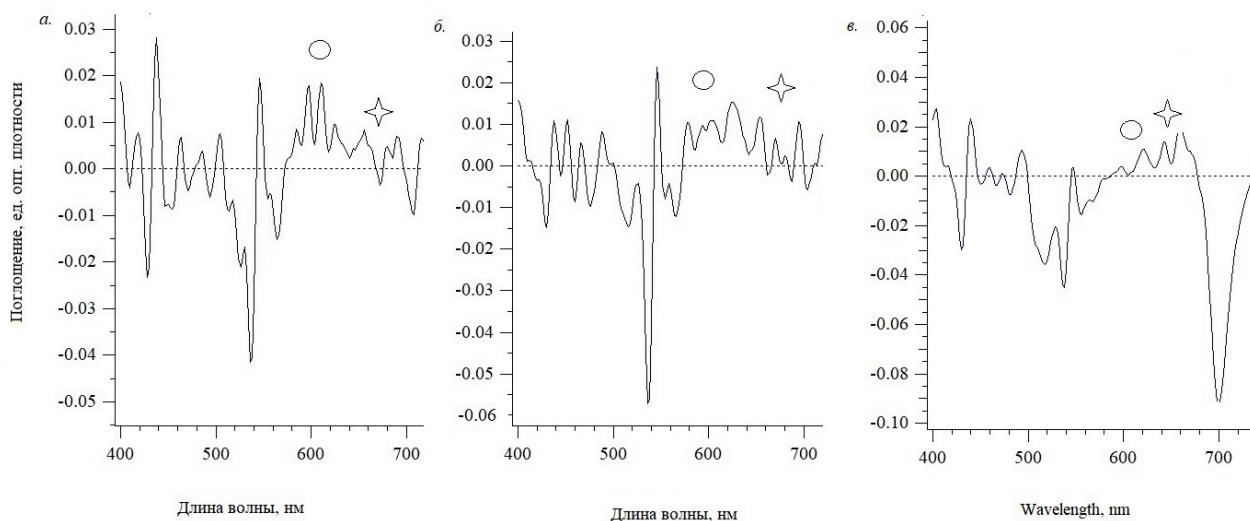


Рисунок 1. Дифференциальные спектры поглощения поверхности хвои без выделившегося секрета (а) или с секретом (б) и поверхности шишкоягод у можжевельника высокого *Juniperus excelsa* (в). Определения по методу Золотарева [3]. Кружки – область поглощения азуленов 580-620 нм, звездочки – область поглощения хлорофилла 660-666 нм

1. Karnaukhov V.N., Yashin V.A., Kulakov V.I. et al. Apparatus for investigation of fluorescence characteristics of microscopic objects // USA Patent, 1982. no. 4, 354, 114, pp. 1-14. Patent of England, 1983. 2.039.03 R5R.CH.
2. Karnaukhova N.A., Sergievich L.A., Karnaukhov V.N. Application of microspectral analysis to study intracellular metabolism in single cells and cell systems // Natural Science, 2010, vol. 2, no 5, pp. 444-449
3. Золотарев В.М. Применение дифференцирования в спектроскопии отражения // Оптика и Спектроскопия, 2012, т. 112, № 1, с. 150-154.

ДЕЙСТВИЕ УЛЬТРАЗВУКА И КАВИТАЦИИ НА АДГЕЗИЮ *TRICHOPLAX ADHAERENS* И *TRICHOPLAX SP. H2***Effects of Ultrasound and Cavitation on Adhesion of *Trichoplax Adhaerens* and *Trichoplax sp. H2***Сергеева Е.В.¹, Кузнецов А.В.^{1,2}¹ Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ² Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь, РФ, migova1999@mail.ru

Трихоплакс (Placozoa) – примитивное морское многоклеточное животное с листовидным телом диаметром ≈ 2 мм, состоящим из наружного слоя клеток с ресничками и внутреннего слоя, образованного звездообразными клетками. Вентральная поверхность животного покрыта клетками, несущими по одной ресничке. Прочное прикрепление к поверхностям обеспечивается выростами ресничных клеток, напоминающими микроворсинки [1]. Трихоплаксы широко распространены по всему Мировому океану: в Красном и Средиземном морях, на Гавайях, в прибрежных водах Бермудских островов, у берегов Мексики, Австралии, Западного Самоа, Новой Гвинеи и Японии. Они обитают на мелководье при температурах от 20 до 25 °С и солёности не ниже 20 ‰ [2]. Чаще всего пластинчатые встречаются в местах со спокойными водами на твёрдых субстратах (канях, коралловых рифах, корнях мангровых деревьев), поэтому интересно знать, как ведёт себя этот организм не только при слабом звуковом воздействии, но и в условиях микротурбулентности.

Методика. Эксперименты проводили на *Trichoplax adhaerens* (гаплотип H1) и *Trichoplax sp. H2* (гаплотип H2). Животных культивировали на матах одноклеточной водоросли *Tetraselmis marina* в стеклянных чашках Петри диаметром 90 мм с 3,5 % искусственной морской водой (ASW) при температуре 24–26 °С. Обычно за 10–15 дней трихоплаксы размножались до 100–150 особей и съедали все водоросли. Затем в течение 5–10 дней жили без пищи, уменьшаясь в размерах. Состояние животных оценивали по морфологии и движению пластинки под стереомикроскопом Микромед MC-5-ZOOM LED с увеличением 8-50 крат. По достижении трихоплаксами стационарной фазы роста на 2-3 неделе культивирования, примерно по 30 особей пересаживали в пластиковые чашки Петри диаметром 55 мм и давали организмам возможность прикрепиться к дну в течение 15 мин. Далее чашки промывали ASW для удаления не прикрепленных особей, вновь добавляли по 5 мл ASW, чтобы покрыть животных жидкостью и помещали чашки с трихоплаксами плавать в ультразвуковой установке Grundig UC5020. Животных многократно по 30 с подвергали действию ультразвука частотой 43 кГц мощностью 50 Вт так, что суммарное время озвучивания составляло не менее 3,5 мин. После экспозиции чашки с трихоплаксами просматривали под стереомикроскопом ZEISS Stemi 305 при увеличениях от 8 до 40 раз и подсчитывали количество оставшихся прикрепленных особей. Абсолютное число прикрепленных трихоплаксов пересчитывали в долю, как отношение прикрепленных к общему числу животных, взятых в эксперимент.

Результаты. Было проведено по два опыта для трихоплаксов каждого гаплотипа. В экспериментах использовали до 100 животных. В результате действия ультразвука трихоплаксы постепенно съезживались, откреплялись от субстрата и распадались на отдельные клетки, которые затем лизировали и исчезали из поля зрения. Визуальные различия в реакции между трихоплаксами H1 и H2 на ультразвук не обнаружены.

Количественное влияние ультразвука на трихоплаксов выражали как зависимость доли открепившихся животных от суммарного времени озвучивания. Долю открепившихся организмов рассчитывали, как дополнение доли прикрепившихся до 1. Экспериментальные данные на плоскости: время действия ультразвука – число открепившихся трихоплаксов, были аппроксимированы полиномами второго порядка, проходящими через начало координат. Кривые открепления трихоплаксов гаплотипов H1 и H2 описаны уравнениями $y = 0,09x^2 + 0,03x$ и $y = -0,12x^2 + 0,69x$ с критериями достоверности моделей $R^2 = 0,87$ и $R^2 = 0,93$, соответственно. График для H1 вогнутый, а для H2 выпуклый. Результаты математического анализа свидетельствуют о том, что трихоплаксы гаплотипа H2 покидают поверхность субстрата быстрее, чем трихоплаксы гаплотипа H1.

Закключение. Полученные результаты свидетельствуют, что трихоплаксы гаплотипа H2 лучше адаптируются к механическому действию ультразвука, быстрее покидая поверхность, чем гаплотип H1, а также дольше держатся на субстрате, чем H1. Данный факт, а также микроскопические наблюдения за животными, могут быть свидетельством индивидуальной реакции трихоплаксов на ультразвук. Возможно, правильнее описывать десорбцию трихоплаксов логистическими кривыми и интерпретировать данные наличием среди каждого вида трихоплаксов чувствительных и малочувствительных особей. Тем не менее, данные биоинформатики свидетельствуют, что у трихоплакса H1 имеется только 2 гомологичных механочувствительных TRP-канала (Transient Receptor Potential), тогда как у H2 их достаточно много – 42 гомолога [3]. Следовательно, предпочтение надо отдать первой математической модели, а чувствительность к ультразвуку, возможно, обусловлена множественными TRP-каналами.

1. Серавин Л.Н., Герасимова З.П. Особенности тонкого строения трихоплакса, питающегося на плотных растительных субстратах // Цитология, 1998, т. 30, с. 1188-1193.

2. Paknia O., Schierwater B. Global Habitat Suitability and Ecological Niche Separation in the Phylum Placozoa // PLoS One, 2015, vol. 10, no. 11, p. e0140162.

3. Фадеева М.В., Сергеева Е.В., Рыбакова К.А., Кузнецов А.В. Характеристика семейства катионных TRPA1-каналов *Trichoplax sp. H2* (Placozoa) // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2022, т. 7, № 3, с. 493-500.

**МЕЖМОЛЕКУЛЯРНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПАПАИНОПОДОБНЫХ ПРОТЕАЗ
С КАРБОКСИМЕТИЛЦЕЛЛЮЛОЗОЙ И ЕЕ ПРИВИТЫМИ СОПОЛИМЕРАМИ**
Intermolecular Interactions of Papain-Like Proteases with Carboxymethyl Cellulose and its Graft Copolymers

Сорокин А.В.^{1,2}, Файзуллин Д.А.³, Гончарова С.С.¹, Кондратьев М.С.^{1,4}, Лавлинская М.С.^{1,2},
Холявка М.Г.^{1,2}, Зуев Ю.Ф.³, Артюхов В.Г.¹

¹ Воронежский государственный университет, г. Воронеж, РФ, *andrew.v.sorokin@gmail.com*

² Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ

³ Казанский институт биохимии и биофизики, г. Казань, РФ

⁴ Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделение ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», г. Пущино, РФ

Исследование функционирования ферментов в условиях различного микроокружения является одной из актуальных задач биофизики и физико-химической биологии. Новые данные, получаемые в этой области знаний, способствуют разработке новых лекарственных препаратов или более эффективных форм уже известных, а также оптимизации биотехнологических и пищевых производств. В связи с этим ведется активный поиск путей регулирования каталитической активности и свойств протеолитических ферментов, обладающих высокими перспективами использования в качестве антибактериальных агентов в ранозаживлении [1-3]. Целью нашей работы является модуляция каталитической активности папаиноподобных протеаз – бромелина (КФ 3.4.22.32), папаина (КФ 3.4.22.2) и фицина (КФ 3.4.22.3) – путем межмолекулярных взаимодействий с карбоксиметилцеллюлозой (КМЦ) и ее привитыми сополимерами с *N*-винилимидазолом (КМЦ-ВИ) *N,N*-диметиламиноэтилметакрилатом (КМЦ-ДМАЭМА).

В настоящей работе получены комплексы папаиноподобных цистеиновых протеаз с КМЦ, КМЦ-ВИ и КМЦ-ДМАЭМА и показано, что протеолитическая активность комплексов увеличивается до 2,5 раз по сравнению со свободными ферментами.

Объекты исследования охарактеризованы рядом биофизических методов, среди которых – молекулярный докинг, просвечивающая электронная микроскопия, ИК- и ¹Н ЯМР-спектроскопия, лазерный доплеровский микроэлектрофорез, гель-проникающая хроматография и динамическое рассеяние света.

С помощью гибкого каскадного молекулярного докинга установлено, что в процессе комплексообразования все исследуемые полисахариды располагаются в непосредственной близости от «каталитического кармана» ферментов, в котором находится их активный центр.

С использованием метода ИК-спектроскопии выявлены функциональные группы КМЦ и ее производных, участвующие в процессах комплексообразования с бромелином, папаином и фицином. Кроме того, показано, что в результате взаимодействия с производными целлюлозы молекулы ферментов претерпевают структурные изменения, что приводит к разрушению части α -спиралей и увеличению доли β -структур в глобулах бромелина и фицина. Для папаина эта зависимость имеет более сложный характер: в результате взаимодействия с натриевой солью карбоксиметилцеллюлозы происходит увеличение содержания β -структур, а в случае комплексообразования с ее производными – их резкое снижение и возрастание доли α -спиралей.

Решение сформулированных в рамках работы задач о влиянии микроокружения, состоящего из карбоксиметилцеллюлозы и ее привитых сополимеров, на структуру, каталитическую активность и время полужизни комплексов бромелина, папаина и фицина способствует пониманию взаимосвязи «состав-структура-свойство» для ответа на ряд фундаментальных вопросов о взаимодействиях и свойствах функциональных комплексов на основе белков и полисахаридов. Полученные результаты будут полезны при разработке различных типов биокатализаторов на основе цистеиновых протеаз. Воздействия карбоксиметилцеллюлозы и ее производных на функциональную активность и стабильность папаиноподобных протеаз позволяют модифицировать структуру белков в препаратах промышленного и медицинского назначения с целью повышения их устойчивости и исходной каталитической активности.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект № 21-74-20053

1. Baidamshina D.R., Trizna E.Y., Agafonova M.N. et al. Anti-biofilm and wound-healing activity of chitosan-immobilized ficin // International Journal of Biological Macromolecules, 2020, vol. 164, pp. 4205-4217, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.09.030.

2. Holyavka M., Koroleva V., Olshannikova S. et al. Novel biotechnological formulations of cysteine proteases, immobilized on chitosan. Structure, stability and activity // International Journal of Biological Macromolecules, 2021, vol. 180, pp. 161-176, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.03.016.

3. Ol'shannikova S.S., Red'ko Y.A., Lavlinskaya M.S. et al. Preparation of papain complexes with chitosan microparticles and evaluation of their stability using the enzyme activity level // Pharmaceutical Chemistry Journal, 2022, vol. 55, no. 11, pp. 1240-1244, doi: 10.1007/s11094-022-02564-8.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПАРАМАГНИТНЫХ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ НАНОЧАСТИЦ И МЕТОДА СПИН-ЭХО ЯМР ДЛЯ КОМПЛЕКСНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ТРАНСПОРТА ВОДЫ В КОРНЯХ ИНТАКТНЫХ РАСТЕНИЙ

Using of Paramagnetic Fluorescent Nanoparticles and Spin-Echo NMR for a Comprehensive Study of Water Transport in the Roots of Intact Plants

Суслов М.А.¹, Егоров Д.В.¹, Даминова А.Г.¹, Анисимов А.В.¹, Самигуллин Д.В.¹, Мустафина А.Р.², Федоренко С.В.², Бочкова О.Д.²

¹ Казанский институт биохимии и биофизики, ФИЦ Казанский научный центр РАН, г. Казань, РФ,

² Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова, ФИЦ Казанский научный центр РАН, г. Казань, РФ, makscom87@mail.ru

Проблема транспорта воды в растениях продолжает занимать внимание многих исследователей, и прежде всего потому, что транспорт воды в наибольшей степени определяет рост и продуктивность растений. Внутри данной проблемы важную часть занимает функционирование корневой системы. В работе представлены результаты использования метода спин-эхо ЯМР с применением нового типа МРТ-контрастантов в виде флуоресцентных парамагнитных наночастиц для исследования характеристик транспорта воды в тканях корней растений. Цель использования данного методического подхода заключалась в демонстрации возможности исследования интенсивности транспорта воды в корнях растений кукурузы селективно по симпластному (из клетки в клетку через плазмодесмы) и апопластному (внеклеточному) путям водного переноса. Флуоресцентные свойства наночастиц позволили исследовать скорость их проникновения и характер распределения в тканях корня. Было показано, что частицы относительно быстро проникают и распределяются по апопласту корня, но при этом не проникают внутрь клеток, по крайней мере, в течение 1,5-2 часов, что является необходимым условием для проведения ЯМР экспериментов. В работе использовали два вида наночастиц с парамагнитным ядром на основе марганца и оксида железа. Было показано, что водные растворы наночастиц обладают показателями релаксивности приемлемыми для разделения внеклеточной и внутриклеточной воды в тканях корня по временам магнитной релаксации. Контроль скорости проникновения наночастиц в апопласт корня с помощью конфокальной микроскопии был использован для демонстрации возможностей для качественной оценки интенсивности апопластного транспорта воды в корне, в том числе при действии различных видов абиотических факторов, например, водного дефицита, изменения освещённости, влажности воздуха и т.д. Таким образом, по сравнению с хорошо известными видами МРТ-контрастантов на основе гадолиния, марганца и др., использованных нами ранее, очевидным преимуществом использования парамагнитных флуоресцентных наночастиц в исследовании транспорта воды в растительных тканях является возможность их визуализации в тканях, а также отсутствие токсического действия на растения, что также было показано в данной работе. В целом, это даёт возможность для более комплексного исследования процессов транспорта воды в растениях. Из двух типов, использованных в работе парамагнитных флуоресцентных наночастиц, наиболее приемлемыми по скорости проникновения в ткани корня, подавлению ЯМР сигнала от внеклеточной воды, а также отсутствию влияния на рост растений, являются частицы на основе марганца. К недостаткам использования подобных комплексов наночастиц, возможно, следует отнести более трудоёмкий процесс их синтеза.

Работа поддержана грантом № 22-74-10087 Российского научного фонда (<https://rscf.ru/en/project/22-74-10087/>).

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МОЛЕКУЛЫ ДНК С КООРДИНАЦИОННЫМИ СОЕДИНЕНИЯМИ ИРИДИЯ И РУТЕНИЯ

Interaction of a DNA Molecule with Iridium and Ruthenium Coordinating Compounds

Теплухина К.А.¹, Демидов В.Н.², Касьяненко Н.А.¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, РФ, tepluhina.ksenya@gmail.com

² Институт химии силикатов РАН, г. Санкт-Петербург, РФ

К числу наиболее эффективных противоопухолевых препаратов относятся препараты на основе платины, такие как приведенный на слайде цисплатин, а также карбоплатин и оксалиплатин. Однако их низкая избирательность к опухолевым клеткам и высокая токсичность стимулируют создание и исследование новых противоопухолевых препаратов на основе металлокомплексов.

Используемые в работе координационные соединения могут рассматриваться как биологически активные соединения, взаимодействующие *in vivo* с молекулой ДНК. Известна их потенциальная противоопухолевая активность. В результате реакции акватации координационные соединения этого типа могут приобретать в водном растворе различный заряд, вплоть до 3+, что может способствовать тому, что при взаимодействии с молекулой ДНК в водном растворе они могут индуцировать компактизацию макромолекулы с формированием

дискретных наноразмерных структур. Формирования тороидальных структур ранее было показано для соединений кобальта подобной структуры.

Целью настоящего исследования было не только рассмотрение возможности формирования биологически значимых комплексов ряда соединений с молекулой ДНК в растворе, но также еще анализ их влияния на третичную структуру макромолекулы и ее персистентную длину. Проводили сопоставление полученных при исследовании результатов с действием широко известного конденсирующего агента – гексамина кобальта, который индуцирует формирование тороидальных наноструктур ДНК с предварительным структурированием статистического клубка макромолекулы в растворе. Для таких исследований необходимо использование именно высокомолекулярной ДНК. В качестве объекта исследования работали с коммерческим препаратом высокомолекулярной ДНК тимуса теленка (компания Sigma Aldrich). Исследования проводили в растворах с избытком низкомолекулярной соли (1 М NaCl), когда подавлены электростатические взаимодействия, и ее недостатком. Базовые растворы содержали 0,005 М NaCl.

Для исследования комплексообразования соединений с ДНК использовали набор экспериментальных методов, которые дают информацию о состоянии вторичной и третичной структуры ДНК: атомная силовая микроскопия, динамическое светорассеяние, низкомолекулярная вискозиметрия, двойное лучепреломление в потоке, спектральные методы. Использовали методику, позволяющую изучить возможную конкуренцию за место связывания на ДНК изучаемых соединений с другими биологически активными агентами, молекулярный механизм взаимодействия которых с ДНК хорошо известен. В качестве таких агентов использовали ионы двухвалентных металлов, некоторые координационные соединения (например, транс- и цисплатин), ПАВ. Рассматривали также соединения палладия и кобальта с разными лигандами, что позволило выявить роль различных взаимодействий (электростатических, ван-дер-ваальсовых, водородных связей, ион-дипольных) при формировании комплексов.

В частности, проведенное исследование показало, что комплексный ион иридия при взаимодействии с ДНК проявляет свойственную для конденсирующих агентов различной природы способность вызывать компактизацию макромолекулы в растворах малой ионной силы с формированием дискретных частиц. В отличие от большинства трехвалентных ионов металлов, при взаимодействии соединения иридия с ДНК формируется координационная связь с атомом N7 гуанина в большой бороздке, как это наблюдается, например, для цисплатина. Это позволяет рассматривать соединения иридия в качестве потенциальных противоопухолевых агентов.

СОСТОЯНИЕ ГЕМОГЛОБИНА ПОСЛЕ ЗАМОРАЖИВАНИЯ-ОТТАИВАНИЯ С ГЛИЦЕРИНОМ

State of Hemoglobin After Its Freezing-thawing With Glycerol

Тимченко Н.Н., Шупова Е.В.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, timchenko_n@list.ru

В настоящее время гемоглобин изучают в биофизических исследованиях [1]. В условиях действия низких температур происходят изменения структуры и функции белков. Исследования структуры и функции белков при замораживании биоматериала помогают выяснению механизмов криповреждения мембран, субклеточных органелл и клеток. Замораживание изолированных белков дает возможность отыскать причину и структурный уровень повреждения молекулы белка. Исследование состояния белков при низкотемпературном консервировании биоматериала может помочь определить выживаемость клеток после замораживания.

К факторам криповреждения структуры и функции белков относятся: концентрирование в остающейся жидкой фазе (при замораживании биоматериала) солей и других компонентов раствора, дегидратация макромолекул; изменение pH среды и условий межмолекулярных взаимодействий. При замораживании-оттаивании белков, имеющих четвертичную структуру, гиперконцентрация электролитов, возникающая в растворе при вымораживании воды, повышенная ионная сила, изменения pH раствора вызывают диссоциацию молекулы белка на субъединицы. Позже может возникать их реассоциация в гибридные формы, но добавление некоторых криопротекторов в среду замораживания предупреждает гибридизацию.

Для сохранения структурно-функционального состояния биологических объектов в процессе замораживания-оттаивания используются криопротекторы. Широко используемыми для эритроцитов являются глицерин и 1,2-ПД. Проведены исследования с ПЭГ-1500. Эти криопротекторы оказались эффективными и для ряда белков. Поэтому мы использовали глицерин для сохранения конформации гемоглобина.

Нами было изучено, как влияет глицерин на HbA. При исследовании влияния криопротектора на конформацию гемоглобина А использовали методы сольвентно-пертурбационной дифференциальной спектроскопии и анализа ИСП (первых производных спектров поглощения).

Линейный характер зависимости $\Delta E/E$ (отношение разности поглощения гемоглобина в глицерине и поглощения гемоглобина в физиологическом растворе к поглощению гемоглобина в физиологическом растворе) от концентрации глицерина для растворов гемоглобина А с глицерином соответствует литературным данным [2] и означает, что с помощью метода сольвентно-пертурбационной дифференциальной спектроскопии не

фиксируются изменения конформации белка при увеличении концентрации глицерина до 40%. Был проведен анализ ИСП НбА в физиологическом растворе (контроля) и растворов НбА с глицерином, который показал, что они практически не изменились.

После замораживания-оттаивания растворов НбА с глицерином не зафиксировано изменения конформационного состояния белков. Зависимости $\Delta E/E$ от концентрации глицерина для растворов НбА с глицерином после замораживания-оттаивания не изменились. Был проведен анализ ИСП растворов гемоглобина А с глицерином до и после замораживания-оттаивания. Наблюдается неизменность положений отрицательных максимумов ИСП растворов гемоглобина А с глицерином после замораживания-оттаивания от соответствующих образцов до замораживания-оттаивания. Интенсивности отрицательных максимумов в области 284-286 и 292 нм на ИСП растворов гемоглобина А с глицерином после замораживания-оттаивания практически не отличаются от соответствующих образцов до замораживания-оттаивания.

Полученные результаты могут быть связаны с изменением сольватной оболочки биополимеров. Благодаря наличию гидроксильных групп молекулы глицерина способны занимать часть сольватной оболочки НбА с сопутствующим изменением структуры и энергетических параметров макромолекулы, поскольку структура макромолекулы в растворе, как известно, поддерживается растворителем в ближайшем окружении макромолекулы. Стабилизация происходит благодаря водородным связям между неэлектролитами и биополимерами, причем неэлектролиты действуют как заменители воды, хотя эффекты действия растворителя не обязательно являются монотонной функцией состава растворителя.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что методом сольвентно-пертурбационной дифференциальной спектроскопии обнаружено, что предпочтительно использовать глицерин для низкотемпературного консервирования гемоглобина А.

1. Webb K.L., Dominelli P.B. Influence of high hemoglobin-oxygen affinity on human during hypoxia // *Front. Physiol*, 2022, doi: 10.3389/fphys.2021.763933.

2. Herskovits T.T., Greenblatt J. Solvent perturbation studies of heme proteins and other colored proteins. II. On the environment and location of the tryptophyl residues in hemoglobin // *Archives of biochemistry and biophysics*, 1969, vol. 130, pp. 30-38.

ЦВЕТОВЫЕ ПРЕДПОЧТЕНИЯ САМОК И САМЦОВ ГУППИ *POECILIA RETICULATA*: ПОВЕДЕНИЕ В РАСКРАШЕННЫХ КАНАЛАХ, РЕАКЦИЯ НА СВЕТОДИОДЫ И ЛАЗЕРЫ **Color Preferences of Female and Male Guppies *Poecilia reticulata*: Behavior in Colored Channels, Response to LEDs and Lasers**

Тихонов С.Ю.¹, Хавронюк И.С.¹, Воронин Д.П.¹, Кузнецов А.В.^{1,2}

¹ Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ

² Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь, РФ, mackenzieskye@yandex.ru

Зрение используется животными при добывании пищи, при избегании хищников и при выборе партнёра. Организмы, которые обладают зрением, ощущают свет определённой длины волны, исходящий от объектов и таким образом воспринимают окружающую среду, обрабатывая зрительные образы. Зрительное восприятие зависит от спектров поглощения светочувствительных рецепторов и уровней экспрессии генов опсинов. Каждый белок опсин связан с хромофором ретиналем и под действием света этот комплекс меняет форму, приводя к гиперполяризации мембраны палочек или колбочек [1,2]. Рыбы отличаются от большинства позвоночных высоким разнообразием опсинов в результате дупликаций и дивергенции их генов [3,4]. Гуппи *Poecilia reticulata* характеризуется ярко выраженным половым диморфизмом (самцы имеют яркий окрас в отличие от самок) и используется для изучения полового отбора по цвету, обусловленного выбором самки. Существует предположение, что эволюция окраски у самцов гуппи связана с разнообразием генов опсинов [5,6]. В этой связи мы изучали цветовые предпочтения самок и самцов гуппи.

Методика. *P. reticulata* содержали при температуре воды 25 °С. Эксперименты проводили в аквариуме (41x25x35 см) или в каналах (100x6x3 см). Сначала рыб помещали в белый канал, часть которого закрывали крышкой от дневного света, имитируя грот с одним входом-выходом или тоннель с двумя входами-выходами. На следующем этапе гуппи подсаживали в раскрашенные каналы и наблюдали за распределением рыб по цветным зонам при естественном освещении. Далее, использовали цветные светодиоды (LED): красный (620 нм), жёлтый (600 нм), зелёный (529 нм), синий (470 нм) и белый светодиод, а также полупроводниковые лазеры (~1 Вт): красный (650 нм), зелёный (532 нм), синий (405 нм) и ультрафиолетовый (395 нм) источник света. Для импульсного воздействия со случайными вспышками и паузами между ними длительностью до 1 с светодиоды подключали к электронной плате Arduino Nano. Светодиод размещали на одной стороне канала, после 5 мин экспозиции, опускали перегородку и подсчитывали долю рыб в светлой части канала. Лазерный луч направляли на тело рыб, плавающих в аквариуме при дневном свете либо в темноте. Каждый опыт повторяли 10 раз. Исследование длилось 6 месяцев и состояло из нескольких серий экспериментов, в которых участвовало 4 самца и 4 самки гуппи. Аминокислотные последовательности опсинов *P. reticulata* искали в базе NCBI, молекулярную

массу рассчитали с помощью пакета SMS, множественное выравнивание аминокислотных последовательностей провели в программе Clustal Omega, филогенетическое дерево визуализировали с помощью iTOL, пространственные модели опсинов построили на сервере Phyre2, sdf файл молекулы ретиналя конвертировали в mol2 и осуществили докинг ретиналя на SwissDock сервере. Визуализацию 3D-структур осуществляли с помощью UCSF Chimera.

Результаты. Опыты в гротах и тоннелях. Как самцы, так и самки гуппи предпочитали прятаться в затенённом месте. Доля рыб в гроте была $0,88 \pm 0,18$ для обоих полов, тогда как доля рыб в тоннелях составляла $0,58 \pm 0,26$ для самцов и $0,48 \pm 0,36$ для самок. В целом, рыбки проплывали тоннель, не задерживаясь в нём надолго.

Опыты в цветных каналах. *P. reticulata* помещали в канал, половинки которого выкрашены в красный, зелёный, голубой или белый цвет. По прошествии 5 мин подсчитывали долю рыбок в каждой половине. Гуппи чаще выбирали голубой цвет при сравнении с белым и белый при сравнении с красным, а также предпочитали голубой цвет красному, а красный зелёному. Поэтому, цветовые предпочтения можно расположить в следующем порядке: голубой > красный > зелёный (Таб. 1). Самцы и самки отдавали абсолютное преимущество голубому цвету по сравнению с зелёным, однако самки не проявляли заметного предпочтения голубому при сравнении с красным цветом.

Таблица 1. Цветовые предпочтения *Poecilia reticulata*

| Цвет | W | R | G | B |
|------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| W | | 0,41±0,25 | 0,45±0,29 | 0,60±0,20 |
| R | 0,58±0,25 | | 0,30±0,30 | 0,67±0,31 |
| G | 0,55±0,29 | 0,70±0,30 | | 0,61±0,34 |
| B | 0,40±0,20 | 0,32±0,31 | 0,38±0,34 | |

Примечание: выполнено по 10 повторных экспериментов на 4 самцах и 4 самках

Опыты с постоянным и мерцающим светодиодным освещением. В случае постоянного света в одном торце канала, самцы гуппи предпочитали держаться в отдалении от зелёного источника света. Доля особей в светлой зоне равнялась $0,18 \pm 0,2$. В меньшей степени, самцы и самки гуппи избегали синий свет, их доля в освещённой части канала составляла $0,33 \pm 0,31$ и $0,35 \pm 0,38$, соответственно. Гуппи относились индифферентно к белому, красному и жёлтому свету. Доля рыб в освещённой части канала варьировала от 0,4 до 0,55. Стоит отметить высокую корреляцию в световом поведении между самцами и самками гуппи при постоянном освещении разными длинами волн, $r=0,88$. Тем не менее, эта величина приняла значение $r=-0,22$ в случае применения случайных световых импульсов.

Опыты с лазерами на свету и в темноте. Оказалось, что в темноте гуппи пугаются белого и синего пучков света значительно больше, чем зелёного и красного, а на свету реакция самцов на синий свет менее выражена, чем самок.

Биоинформационный анализ опсинов *P. reticulata*. Отобраны 9 основных светочувствительных опсинов: красные – AQZ42196.1, AQZ42207.1, AQZ42218.1, BAU59418.1, синие – AQZ42272.1, NP_001284389.1, зелёные – BAU59421.1, BAU59422.1 и УФ – AQZ42257.1; их длина варьировала от 335 до 357 ак, а масса от 37,20 до 40,17 кДа. Эти белки сгруппированы в отдельные кластеры по чувствительности к основным световым диапазонам, причём опсины, чувствительные к красному свету, дивергировали раньше остальных (Рис. 1). Пространственные модели опсинов построены с достоверностью 100% и покрытием исходной матрицы не менее 95%. В результате докинга ретиналя встроился в опсины AQZ42207.1 и AQZ42257.1, чувствительные к красному и УФ свету, соответственно отрицательная свободная энергия Гиббса ($-\Delta G$) составила 7,84 и 8,15 ккал/моль.

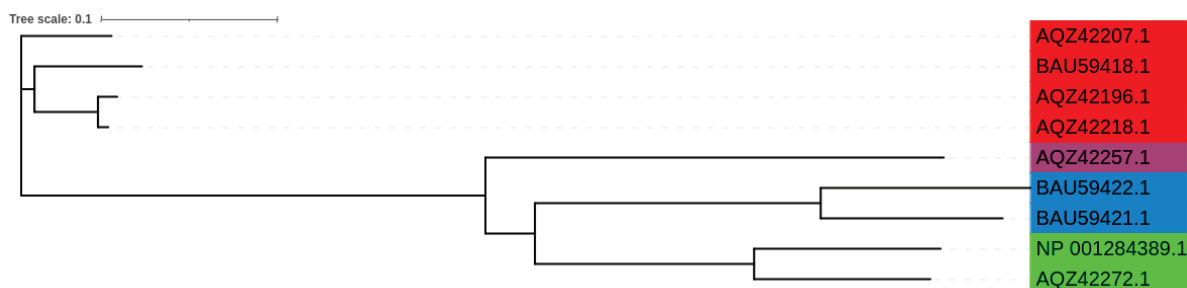


Рисунок 1. Филогенетическое дерево основных светочувствительных опсинов гуппи *P. reticulata*

Обсуждение. В наших экспериментах рыбы *P. reticulata* выбирали тёмные гроты вместо области каналов с белыми стенками. Гуппи демонстрировали стабильное поведение в цветных каналах и привыкание к постоянным источникам света, что проявилось в согласованном световом поведении между самцами и самками. Тем не менее, самки и самцы по-разному реагировали на случайные вспышки света, демонстрируя испуг разной величины и

непредсказуемый ответ на неожиданное включение света варьирующей длительности. В темноте рыбы также были более пугливы к вспышкам, чем на свету, что наглядно продемонстрировали опыты с лазерами. Остаётся невыясненным, почему гуппи предпочитают голубой свет красному и избегают зелёный, т. к. они не опускаются на большую глубину в естественных условиях. Наличие значительного числа опсинов, чувствительных к красному свету принято связывать с цветовым выбором самками полового партнёра [7]. Наблюдаемые в экспериментах светочувствительные реакции и цветовое поведение гуппи, возможно, обусловлены эволюционно молодыми опсинами, чувствительными к синему и к зелёному диапазонам.

Выводы.

- 1) Самцы и самки гуппи *P. reticulata* прячутся в гроте и кратковременно задерживаются в тоннеле.
- 2) Цветовые предпочтения рыб располагаются в следующем порядке: голубой > красный > зелёный.
- 3) Корреляция в световом поведении самцов и самок гуппи при постоянном освещении составляет 0,88 и снижается до -0,22 при случайных вспышках света с длительностью и временем задержки до 1 с.
- 4) Гуппи более явно пугаются источников белого и синего света в темноте, чем на свету.
- 5) У гуппи *P. reticulata* идентифицированы 9 основных светочувствительных опсинов (красные – AQZ42196.1, AQZ42207.1, AQZ42218.1, ВАУ59418.1, синие – AQZ42272.1, NP_001284389.1, зелёные – ВАУ59421.1, ВАУ59422.1, УФ – AQZ42257.1), построено 9 3D-моделей опсинов, ретиналь корректно встроился в 2 из них.

1. Marshall J., Carleton K.L., Cronin T. Colour vision in marine organisms // *Curr. Opin. Neurobiol.*, 2015, vol. 34, pp. 86-94.

2. Terakita A. The opsins // *Genome Biol.*, 2005, vol. 6, no. 3, p. 213.

3. Ward M.N., Churcher A.M., Dick K.J. et al. The molecular basis of color vision in colorful fish: four long wavelength-sensitive (LWS) opsins in guppies (*Poecilia reticulata*) are defined by amino acid substitutions at key functional sites // *BMC Evol. Biol.*, 2008, vol. 18, no. 8, p. 210.

4. Watson C.T., Gray S.M., Hoffmann M. et al. Gene duplication and divergence of long wavelength-sensitive opsin genes in the guppy, *Poecilia reticulata* // *J. Mol. Evol.*, 2011, vol. 72, no.2, pp. 240-252.

5. Sakai Y., Kawamura S., Kawata M. Genetic and plastic variation in opsin gene expression, light sensitivity, and female response to visual signals in the guppy // *Proc. Natl. Acad. Sci U S A.* 2018, vol. 115, no. 48, pp. 12247-12252.

6. Sandkam B., Young C.M., Breden F. Beauty in the eyes of the beholders: colour vision is tuned to mate preference in the Trinidadian guppy (*Poecilia reticulata*) // *Mol. Ecol.*, 2015, vol. 24, no. 3, pp. 596-609.

7. Weadick C.J., Chang B.S. Long-wavelength sensitive visual pigments of the guppy (*Poecilia reticulata*): six opsins expressed in a single individual // *BMC Evol. Biol.*, 2007, vol. 7, Suppl., S11.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА ЧЕЛОВЕКА С КАТЕХИНОМ И ИОНАМИ КОБАЛЬТА(II)

Interaction of Human Serum Albumin with Catechin and Cobalt (II) Ions

Федотова Е.В., Пастон С.В.

Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, РФ, st077318@student.spbu.ru

Известно, что глобулярные белки обладают высоким сродством к металлам. Ионы металлов могут связываться с белком и вызывать конформационные изменения [1]. Изменение конформации белка может привести к потере его функций, а также к развитию амилоидоза – появлению агрегатов, способных вовлекать все больше молекул белка, способствуя развитию патологического процесса [2]. Предполагается, что катехины, являющиеся биологически активными соединениями, которые проявляют антиоксидантные и противовоспалительные свойства, способны предотвратить нарушение структуры белка в результате его взаимодействия с ионами металлов [3]. В данной работе было изучена возможность взаимодействия модельного глобулярного белка сывороточного альбумина человека (САЧ) с катехином и ионами кобальта (II) в растворе.

В работе использованы методы ультрафиолетовой спектрофотометрии, инфракрасной и флуоресцентной спектроскопии, а также метод измерения дзета-потенциала. В данной работе исследовали растворы САЧ с катехином при постоянном соотношении [САЧ]:[Cat]=1:10 и варьировании концентрации ионов кобальта в пределах [Co²⁺]:[САЧ] от 0 до 100.

В спектрах УФ-поглощения и флуоресценции растворов белка с хлоридом кобальта не было обнаружено значительных изменений, что может свидетельствовать об отсутствии нарушений в третичной структуре белка при соотношениях концентраций [САЧ]:[Co²⁺] до 1:100. Исследование ИК спектров САЧ в присутствии ионов Co²⁺ показало снижение количества α -спиралей и увеличение содержания β -слоев в структуре белка с ростом концентрации катионов.

Спектры УФ поглощения и флуоресценции катехина перекрываются с соответствующими спектрами САЧ, поэтому были рассмотрены разностные спектры белка в многокомпонентных системах: из спектра раствора САЧ с катехином и CoCl₂ вычитали спектр раствора катехина с CoCl₂ той же концентрации. В присутствии ионов кобальта и катехина в растворе САЧ спектры поглощения и флуоресценции ароматических аминокислот в

составе белка претерпели изменения: наблюдалось снижение интенсивности разностных спектров поглощения и флуоресценции по сравнению со спектром САЧ в водном растворе. Это может свидетельствовать либо об изменении полярности окружения ароматических аминокислот белка (то есть о нарушении третичной структуры), либо о том, что молекула катехина взаимодействует с САЧ в непосредственной близости от хромофоров. Снижение интенсивности флуоресценции белка в трёхкомпонентных системах и смещение длины волны в максимуме спектров испускания (длина волны возбуждения 278 нм) при увеличении концентрации ионов кобальта также указывает на нарушение третичной структуры белка. При возбуждении в окрестности 230 нм наблюдается тушение флуоресценции в комплексе, что может говорить о комплексообразовании белка с катехином и ионами кобальта (II), либо о нарушении третичной структуры белка.

Связывание белка с ионами Co^{2+} отчетливо проявляется при измерении дзета-потенциала частиц белка в растворах CoCl_2 . Его значение резко растёт (уменьшается по модулю), приближаясь к нулю при $[\text{Co}^{2+}]:[\text{САЧ}] = 100$. Снижение поверхностного заряда белка способствует его агрегации в присутствии ионов кобальта (II). Можно предположить образование межмолекулярных β -складчатых агрегатов САЧ в присутствии ионов Co^{2+} . В трехкомпонентных растворах с катехином значения дзета-потенциала существенно не отличаются от значений в растворах альбумина с CoCl_2 , то есть катехин не препятствует комплексообразованию ионов Co^{2+} с сывороточным альбумином.

Часть исследований проведена с использованием оборудования ресурсного центра Научного парка СПбГУ «Оптические и лазерные методы исследования вещества».

1. Mijun P., Shuyun S., Yuping Z. Influence of Cd^{2+} , Hg^{2+} and Pb^{2+} on (+)-catechin 50 binding to bovine serum albumin studied by fluorescence spectroscopic methods // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2012, vol. 85, is. 1, pp. 190-197, doi: 10.1016/j.saa.2011.09.059.

2. Jakob-Roetne R., Jacobsen H. Alzheimer's disease: from pathology to therapeutic approaches // *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2009, vol. 48, pp. 3030-3059, doi: 10.1002/anie.200802808.

3. Prasanna G., Jing P. Polyphenol binding disassembles glycation-modified bovine serum albumin amyloid fibrils // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2021, vol. 246, p. 119001, doi: 10.1016/j.saa.2020.119001.

ДЕКОМПОЗИЦИЯ СПЕКТРА ПОГЛОЩЕНИЯ АЦЕТОНОВОГО ЭКСТРАКТА МИКРОВОДОРОСЛИ *ARTHROSPIRA (SPIRULINA) PLATENSIS* NORTH. GEITL. Decomposition of the absorption spectrum acetone extract of microalgae *Spirulina (Arthrospira) platensis* North. Geitl.

Чернышев Д.Н.¹, Ключкова В.С.¹, Лелеков А.С.², Серяк Е.С.¹

¹ Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, chernishev@gmail.com

² Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь, РФ

Методы измерения концентрации пигментов микроводорослей и разделения их смеси представляют собой методически трудную задачу в практическом и теоретическом плане. При работе с интенсивными культурами микроводорослей необходимо использовать такие методы, которые позволяют определять концентрацию пигментов за достаточно короткое время. В большинстве исследований оценка концентрации выделенных пигментов определяется спектрофотометрическим методом. Стандартная биохимическая методика [1] предполагает экстракцию фотосинтетических пигментов микроводорослей каким-либо полярным растворителем, центрифугирование и спектрофотометрирование образцов с последующим расчётом содержания пигментов по известным экстинкциям. Однако такой подход позволяет оценить только те пигменты микроводорослей, максимумы поглощения которых не перекрываются, что делает невозможным разделение каротиноидов. Для решения этой проблемы используют методы тонкослойной, жидкостной хроматографии, которые требуют специализированного оборудования и длительной пробоподготовки.

Один из простых способов разделения и идентификации пигментов микроводорослей — это декомпозиция спектра ацетонового экстракта математическими моделями. Во многих работах [2, 3] предложено использовать кривые Гаусса для описания поглощения каждого пигмента. Каждый отдельный пик был описан выражением:

$$D(\lambda) = D_{\max} e^{-0,5 \left(\frac{\lambda_i - \lambda_{\max}}{\sigma} \right)^2},$$

где: $D(\lambda)$ — оптическая плотность, отн. ед; D_{\max} — амплитуда пика, отн. ед; λ_i — длина волны, нм; λ_{\max} — положение максимума пика, нм; σ — полуширина пика, нм.

В настоящей работе было выполнено разделение и анализ накладывающихся полос пигментов в спектре поглощения экстракта методом аппроксимации с использованием табличного процессора MS Excel. При реализации надстройки «Поиск решения». При этом оптимизировалась целевая функция, а именно сумма квадратов отклонений, стремилась к нулю, поиск решения проводился методом общего понижающего градиента (ОПГ).

В работе использовали культуру *Arthrospira (Spirulina) platensis* North., полученную из коллекции ФИЦ Института биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь. Культуру выращивали в лабораторной установке на питательной среде Заррук в накопительном режиме. Использовался фотобиореактор плоскопараллельного типа толщиной 2 см, площадь рабочей поверхности 0,05 м², объем 1 л. Спектры поглощения регистрировались в диапазоне от 400 до 750 нм на спектрофотометре Unico UV-Vis 4820 с шагом 0,5 нм.

Было проведено описание спектров поглощения ацетонового экстракта микроводоросли *Arthrospira platensis* алгебраической суммой гауссиан в области от 400 до 750 нм. Полученные значения концентрации пигментов хорошо согласуются со стандартными методами. Реализован метод математического разделения спектра поглощения ацетонового экстракта в программе Microsoft Excel. Вычисления, выполняющие приближения концентраций пигментов путем минимизации суммы квадратов отклонений между истинным спектром поглощения и его математической моделью, выполнены при помощи табличного процессора с использованием инструмента поиска решения. Спектр поглощения культуры приближали с помощью математической модели, в которой неизвестными параметрами являются концентрации хлорофилла а, зеаксантина, миксоксантофилла. Несмотря на то, что многими исследователями отмечается наличие хлорофилла b в клетках спирулины [4], результаты моделирования свидетельствуют об отсутствии вклада данного пигмента в суммарный спектр поглощения. Предложенный способ математической обработки спектра статистически не отличается от стандартной методики и может быть использован как дополнительный метод определения концентрации пигментов в экстракте. Так же реализация данного метода позволяет наглядно оценить вклад отдельных пигментов в общий спектр.

1. Jeffrey S.W., Mantoura R.F.C., Wright S.W. Phytoplankton pigments in oceanography: guidelines to modern methods. UNESCO, 1997, 661 p.

2. Kupper H., Seibert S., Parameswaran A. Fast, sensitive and inexpensive alternative to analytical pigment HPLC: quantification of chlorophylls and carotenoids in crude extracts by fitting with Gauss peak spectra // *Analyt. Chem.*, 2007, vol. 79, no. 20, pp. 7611-7627.

3. Чернышев Д.Н., Клочкова В.С. Разделение нативного спектра поглощения культуры *Arthrospira (Spirulina) platensis* // *Актуальные вопросы биологической физики и химии*, 2021, т. 6, № 2, с. 217-221.

4. Piovani A, Battaglia J, Filippini R. et al. Pre- and early post-treatment with *Arthrospira Platensis (Spirulina)* extract impedes lipopolysaccharide-triggered neuroinflammation in microglia // *Front. Pharmacol.*, 2021, vol. 12, doi: 10.3389/fphar.2021.724993.

МОДЕЛЬ ПОСТРОЕНИЯ СИСТЕМЫ КООРДИНАТ «СХЕМА ТЕЛА» НА ОСНОВЕ СПЕКТРАЛЬНОГО АНАЛИЗА АКУСТОЭНЦЕФАЛОГРАММЫ Model for Constructing a "Body Diagram" Coordinate System Based on Spectral Analysis of an Acoustic Encephalogram

Шабанов Г.А., Рыбченко А.А., Луговая Е.А.

Научно-исследовательский центр «Арктика» ДВО РАН, г. Магадан, г. Владивосток, РФ, neurokib@mail.ru

Механоощущение – это способность обнаруживать динамические механические раздражители (давление, растяжение, напряжение сдвига), и оно необходимо для широкого спектра процессов, включая наше восприятие тела (кожи, сухожилий и мышц), осознание собственного «Я» в пространстве. Еще в 1906 году А. Пуанкаре писал: «Мы не были бы способны построить пространство, если бы не имели инструмента для его измерения. А инструмент, к которому мы все относим, которым мы инстинктивно пользуемся – это наше собственное тело» [1]. Поле кожной, мышечной, висцеральной чувствительности, осознание собственного тела и связанные с этим когнитивные процессы – громадное число функций от клеточного до организменного уровня – представлены в системе координат «схема тела». Общепринято, что физиологический подход в изучении различных функций требует анализа регулирующих или модулирующих влияний из спонтанно активных ретикулярных активирующих структур мозга, а их функциональную гетерогенность можно рассматривать как самостоятельный сложный нейрофизиологический механизм. В наших исследованиях был сделан вывод, что энергия колебаний, как наиболее простая и древняя форма передачи и аккумуляции энергии, используется природой для формирования неспецифическими структурами мозга фонового адаптационного потенциала – многочастотной матрицы множества функциональных состояний [2]. Важнейшим признаком активности такой системы должно быть наличие в ней достаточно длительных периодических режимов, формирующих пространственную организацию и функциональное состояние вышележащих мозговых структур, динамический тонус периферических эффекторов и организма в целом. Для каждой функции – от организменных до клеточных, выстраивается на основании потребностей частотный кластер, состоящий из нервных и соматических клеток, организующим фактором которых является одна частота, а функциональное состояние определяется амплитудой механических микровибраций. В любой клетке экспрессия гена вызывает микровибрацию частоты, характерной только для этого гена. И наоборот, внешние вибрации вызывают экспрессию молчащего ранее гена. Такая модель

корректно решает задачи «глобального доступа» и синхронизации работы клеток в частотном кластере вне зависимости от их расположения в пространстве, наличия и траектории нервных проводников. Клеточные одночастотные кластеры посредством явлений синхронизации и резонанса тесно связаны между собой в акустические (полевые) структуры и нейронные (синаптические) сети, которые обеспечивают иерархию функций и целостность организма, представляют потенциально громадный набор конкурирующих потребностей.

Спектральный анализ акустического сигнала головного мозга носил ряд особенностей – полоса анализируемого сигнала от 0,1 до 27 Гц, количество спектральных гармоник 8400, для выделения длительно текущих осцилляций активирующей системы мозга оптимальное время интегрирования составило 160 сек, точность определения спектральных гармоник до четвертого знака после запятой обеспечивал рубидиевый стандарт частоты Ч1-1013.

Механическое раздражение любого участка кожи (от слабого до сильного) ведет к появлению в частотном спектре новой спектральной гармоники измененной амплитуды. Картирование различных участков кожи показало их высокую частотную специфичность. Для формирования системы координат частотной матрицы кожной чувствительности по оси ординат были отложены томы (32 дерматома от С1 до К), по оси абсцисс – семь участков выхода кожных нервов - моды (три на передней поверхности тела, три на задней и один на боковой). Весь частотный диапазон от 0,1 до 27 Гц был разбит на 7 октав – мод. Число мод может быть увеличено до (7*5, 7*25 и т.д.) в зависимости от требуемого разрешения. Таким образом, для активирующей системы мозга в многочастотную матрицу множества функциональных состояний была вписана соматическая система координат, что открывает возможности для создания технологической платформы по функционально топической диагностике заболеваний внутренних органов и систем организма, использования общепринятых в медицине подходов и терминов по локализации любых функций, очагов патологии, стадий воспалительного процесса и опухолей.

Представление о восприятии и осознании своего тела на основе механизмов, имеющих топографическую клеточную и волновую природу, позволит в значительной степени продвинуть исследования по диагностике дисфункций и заболеваний внутренних органов, интеграции соматических и когнитивных функций организма.

1. Пуанкаре А. Наука и метод. О науке. М.: Наука, 1983.

2. Шабанов Г.А., Максимов А.Л., Рыбченко А.А. Функционально-топическая диагностика организма человека на основе анализа ритмической активности головного мозга. Владивосток: Дальнаука, 2011, 206 с.

КОНФОРМАЦИОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ДНК ПРИ СВЯЗЫВАНИИ С СОЕДИНЕНИЯМИ МАРГАНЦА, СОДЕРЖАЩИМИ ФЕНАНТРОЛИНОВЫЕ ЛИГАНДЫ DNA Conformational Changes upon Binding with Manganese Compounds Containing Phenanthroline Ligands

Шатица М.П.¹, Демидов В.Н.², Касьяненко Н.А.¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, РФ, st067901.@student.spbu.ru

² Институт химии силикатов РАН, г. Санкт-Петербург, РФ

Металлы, образующие комплексы с органическими лигандами, в настоящее время привлекают большое внимание как потенциальные средства для лечения рака. Использование марганца в качестве комплексообразующего иона направлено на минимизацию побочных эффектов при возможной замене высокоэффективных, но токсичных и неизбирательных препаратов платины (цисплатин, карбоплатин, оксалиплатин). В отличие от платины, марганец достаточно широко представлен в организме: он участвует в регуляции активности ферментов, играет важную роль в поддержании функции мозга и др. Дополнительное преимущество рассматриваемых соединений связано с введением в координационную сферу марганца фенантролина, проявляющего биологическую активность, что может привести к синергетическому эффекту.

Основной молекулярной мишенью для действия таких металлокомплексов *in vivo* является молекула ДНК, поэтому изучение молекулярных основ комплексообразования новых соединений марганца с ДНК представляет значительный интерес.

В работе проводилось сравнение конформационных изменений ДНК при формировании комплексов с соединениями марганца, содержащими в координационной сфере одну или три молекулы фенантролина. Было также рассмотрено взаимодействие свободного фенантролина с ДНК.

В ходе исследований использовали высокомолекулярную ДНК тимуса телят (коммерческий препарат компании Sigma Aldrich). Молекулярная масса образцов ДНК определялась вискозиметрически по значению характеристической вязкости ДНК в 0,15 М NaCl. Изучение комплексообразования проводилось в водном растворе с добавлением низкомолекулярной соли – 0,005 М NaCl. Были использованы экспериментальные методы: спектрофотометрия, низкоградиентная вискозиметрия, динамическое светорассеяние и двойное лучепреломление в потоке, было проведено изучение плавления ДНК и спектрофотометрическое титрование. Также было проанализировано влияние ионной силы раствора на комплексообразование.

Спектры УФ поглощения соединений имеют две хорошо разрешенные полосы, но при этом пересекаются со спектральной областью, в которой поглощает ДНК. Способ анализа спектральных характеристик таких систем

предложен в работе. Результаты спектрофотометрических исследований показывают, что при взаимодействии соединений марганца с ДНК фенантролин остается в координационной сфере марганца. При связывании фенантролиновые лиганды находятся в контакте с атомными группами ДНК.

Данные гидродинамических методов указывают на увеличение объема молекулярного клубка ДНК при ее связывании с соединениями марганца с фенантролином, как это наблюдается и для свободного фенантролина. Это может быть связано с интеркаляцией фенантролинового лиганда. При этом оптическая анизотропия ДНК не изменяется, в отличие от результата связывания свободных ионов Mn^{2+} с основаниями макромолекулы [1]. Неизменность оптической анизотропии указывает на постоянство персистентной длины ДНК в процессе взаимодействия.

В работе проведена оценка констант связывания соединений с ДНК.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что исследуемые соединения связываются с ДНК. Можно ожидать, что они проявят биологическую активность и в системах *in vivo*.

Авторы выражают благодарность д.х.н. Демидову В.Н. за предоставленные соединения марганца. Результаты частично получены с использованием оборудования ресурсного Центра диагностики функциональных материалов для медицины, фармакологии и нанoeлектроники СПбГУ.

1. Касьяненко Н.А., Дьяконова Н.Е., Фрисман Э.В. Исследование молекулярного механизма взаимодействия ДНК с двухвалентными ионами металлов // Молекулярная биология, 1989, т. 23, № 4, с. 975-982.

РАЗМЕРНАЯ СТРУКТУРА КЛЕТОК НАКОПИТЕЛЬНОЙ КУЛЬТУРЫ *PORPHYRIDIUM PURPUREUM* (BORY) ROSS

The Size Structure of the Cells of the Batch Culture *Porphyridium Purpureum* (Bory) Ross

Шумейко Д.М.¹, Клочкова В.С.¹, Лелеков А.С.²

¹ Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, diana_shumeyko25@mail.ru

² Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь, РФ, a.lelekov@yandex.ru

Рост микроводорослей в культуре напрямую связан с ростом каждой отдельной клетки, а также с её клеточным циклом, длительность которого зависит от физико-химических свойств среды. Интенсивность света является основным фактором, который определяет скорость роста микроводорослей и размерную структуру популяции. В литературе практически отсутствуют данные о механизмах влияния света на жизненный цикл клетки микроводорослей в условиях интенсивной культуры. Красная морская микроводоросль *Porphyridium purpureum* (Bory) Ross может рассматриваться как модельный объект при проведении подобных исследований благодаря практически сферическим клеткам от 4 до 9 мкм в диаметре, которые окружены мембраной с сульфатной полисахаридной оболочкой [1]. С практической точки зрения порфиридиум представляет интерес благодаря содержанию таких биологически активных веществ как: фотосинтетические пигменты (хлорофилл *a*, каротиноиды, В-фикоэритрин), внеклеточные экзополисахариды, а также ненасыщенные жирные кислоты, в том числе арахидоновая (накапливается до 36% от общего количества жирных кислот) и эйкозапентаеновая кислоты [2]. Цель данной работы – исследовать размерную структуру накопительной культуры *P. purpureum* на разных фазах роста, которые характеризуются различным притоком световой энергии в расчёте на одну клетку.

Работа выполнялась на базе кафедры “Физика” СевГУ. Объектом исследования являлась красная микроводоросль *Porphyridium purpureum* (Bory) Ross, полученная из коллекции из ЦКП “Коллекция гидробионтов Мирового океана” ФИЦ ИнБЮМ. Культивирование осуществляли в плоскопараллельных фотобиореакторах толщиной 2 см с рабочим объёмом 1 л и площадью освещаемой поверхности 0,05 м² при круглосуточном искусственном освещении светодиодными лампами LCD Feron LB-213 мощностью 10 Вт. Освещённость поверхности фотобиореактора определяли люксметром Ю-116, в среднем она составляла 5 клк. Культивирование осуществляли на питательной среде для красных морских водорослей [3]. Рост культуры регистрировали оптическим методом, определяя оптическую плотность D_{750} на фотометре КФК-2. Перед проведением измерений оптической плотности в культиватор добавляли дистиллированную воду с целью компенсации испарения воды. Температуру суспензии измеряли ртутным термометром непосредственно в культиваторе, абсолютная погрешность измерений составляла $\pm 0,5$ °С. Температура среды колебалась в диапазоне 24–26 °С. Барботаж культуры *P. purpureum* осуществляли аквариумным компрессором, скорость подачи воздуха составляла 0,5 л/л культуры в минуту. Размеры клеток определяли на лазерном анализаторе «Ласка-ТМ»

В течение эксперимента на каждой фазе роста накопительной кривой культуры *P. purpureum* определялась размерная структура клеток. На экспоненциальной, линейной, замедления и стационарной фазах роста средний диаметр клеток практически не изменялся и составлял 8,9 – 9,3 мкм, что соответствует литературным данным для этого вида [4]. Аналогичные данные приводятся в литературе для микроводоросли *Chlorella protothecoides* [5]. Авторами цитируемой работы показано, что средний диаметр клеток по ширине и по длине заметно не изменялся с течением времени. Размер клеток приблизительно соответствовал нормальному распределению. Во

всех случаях средний диаметр клеток находился в пределах 3,93–4,12 мкм в длину и 2,95–3,15 мкм в ширину, соответственно.

Таким образом, в условиях обеспеченности биогенными элементами размеры клеток не зависят от фазы роста накопительной культуры *P. purpureum*. Полученные данные могут послужить основой при разработке моделей роста накопительной культуры микроводорослей. Постоянство среднего размера клеток позволяет отказаться от сложных распределённых моделей популяции клеток. Рост культуры может быть описан простейшими линейными дифференциальными уравнениями, основным параметром которых является биомасса совокупная масса клеток культуры.

1. Dermoun D. et al. Modelling of growth of *Porphyridium cruentum* in connection with two interdependent factors: light and temperature // Bioresource technology, 1992, т. 42, no. 2, pp. 113-117.

2. Akimoto M., Shirai A., Ohtaguchi K., Koide, K. Carbon dioxide fixation and polyunsaturated fatty acid production by the red alga *Porphyridium cruentum* // Appl. Biochem. Biotechnol., 1998, vol. 73, pp. 269-278.

3. Тренкеншу Р.П., Терсков И.А., Сидько Ф.Я. Плотные культуры морских микроводорослей // Известия Сибирского отделения Академии наук СССР. Серия биологических наук, 1981, т. 5, № 1, с. 75-82.

4. Орлова Т.Ю. и др. Изменение ультраструктуры морских микроводорослей из разных отделов в накопительной культуре // Биология моря, 2019, т. 45, № 3, с. 188-196, doi 10.1134/S0134347519030100.

5. Zhao J.M., Ma C.Y., Liu L.H. Temporal scaling of the growth dependent optical properties of microalgae // Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer, 2018, vol. 214, pp. 61-70.

АНАЛИЗ ВТОРИЧНОЙ СТРУКТУРЫ ПЕПТИДА Аβ (1-42) В ОБЛАСТИ АМИД I МЕТОДОМ СПЕКТРОСКОПИИ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ

Analysis of the Secondary Structure of Aβ (1-42) Peptide in the Amide I Region by Raman Spectroscopy

Шутиков А.А., Арзуманян Г.М., Маматкулов К.З., Арынбек Е., Закрытная Д.С.
Объединенный институт ядерных исследований, г. Дубна, РФ, artyom.shutikov@nf.jinr.ru

В настоящее время изучение причин болезни Альцгеймера (БА) занимает важнейшее место в биофизических и биомедицинских исследованиях. Безусловно, данный патогенез еще не изучили до конца, однако многие исследования имеют ряд важных результатов. Считается, что одним из признаков БА является накопление амилоидных бляшек пептидов Аβ в мембранах нейронных клеток мозга человека [1]. Нейротоксичность основных компонентов пептидов Аβ, может быть опосредована прямым взаимодействием между белками и липидными мембранами [2].

Данная работа посвящена изучению конформационных изменений пептида Аβ (1-42) в присутствии фосфолипидной системы – в миметиках, таких как липосомы и липодиски. Для более детального анализа липид-белкового взаимодействия использовали метод комбинационного рассеяния, который является неинвазивным, быстрым и одним из мощных диагностических инструментов не требующим сложной подготовки и большого объема исследуемого материала [3]. В данной работе мы анализировали конформационные изменения чистого пептида Аβ со временем, в том числе в системе фосфолипидных мембран.

Целью нашего исследования было выяснить закономерность структурных изменений в области Амид I в рамановских спектрах пептидов, способствующих формированию амилоидных бляшек. В качестве фосфолипидов для исследования были выбраны: полностью насыщенный фосфолипид DMPC. Спектральный анализ выявил, что рамановский пик в области Амид I – (1600-1700) см⁻¹, наиболее чувствителен к конформационным изменениям. В результате работы было установлено, что растворенный в воде белок, в отсутствие фосфолипидной системы, склонен к агрегации. При добавлении пептида Аβ в процессе формирования липосом, увеличивается вероятность встраивания белка в липидный бислой. В такой системе белок переходит в более стабильную структуру: вторичная структура белка сохраняет *α-helix* конформацию. При добавлении пептида Аβ к сформированным липосомам, уменьшается вероятность встраивания пептида в структуру бислоя, что приводит к формированию амилоидных фибрилл. В случае с липодисками, со встроенным пептидом Аβ, его структура меняется на *β-turn* конформацию. Полученные экспериментальные Рамановские спектральные данные также подтверждаются с результатами моделирования – молекулярной динамики (MD).

1. Imanbekova M., Suarasan S., Rojalin T. et al. Identification of amyloid beta in small extracellular vesicles via Raman spectroscopy // Royal society of chemistry, 2021.

2. Accardo A., Shalabaeva V., Cotte M. et al. Amyloid β Peptide Conformational Changes in the Presence of a Lipid Membrane System // Langmuir, 2014, vol. 30, no. 11.

3. Surovtsev N.V. Raman spectroscopy of phospholipid membranes. Institute of Automation and Electrometry, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia, 2021.

СЕКЦИЯ 2. МОДЕЛИРОВАНИЕ В БИОФИЗИКЕ И БИОИНФОРМАТИКА

ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ КОНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ МОЛЕКУЛ ЛАКТОФЕРРОКСИНОВ

Theoretical Conformational Analysis of Lactoferroxins Molecules

Агаева Л.Н.¹, Абдинова А.А.², Ахмедова С.Р.³, Ахмедов Н.Ф.¹, Ахмедов Н.А.¹

¹ Бакинский государственный университет, г. Баку, Азербайджан, leylanamig@mail.ru

² Азербайджанский государственный педагогический университет, г. Баку, Азербайджан

³ Азербайджанский технический университет, г. Баку, Азербайджан

Опиоидные пептиды вызывают обезболивание, успокоение и засыпание, также эйфорическое состояние и ряд вегетативных реакций. Эти пептиды бывают животного и растительного происхождения. Ряд экзогенных пептидов, получаемых с пищей, обладают опиоподобными свойствами. Такие пептиды были названы экзорфинами. Открытие опиоидной активности пептидных компонентов пищи послужило основанием предположить, что некоторые виды пищи могут воздействовать на центральную нервную систему подобно опиатным препаратам. Обнаружен ряд молочных экзорфинов, имеющих свойства антагонистов опиоидных рецепторов. К ним относятся казоксины А, В, С, человеческий казоксин D, а также лактоферроксины А, В и С, а также альфа и бета лакторфины [1].

Расчет молекул лактоферроксинов выполнен с помощью метода теоретического конформационного анализа. Потенциальная функция энергии молекулы выбрана в виде суммы невалентных, электростатических и торсионных взаимодействий и энергии водородных связей.

Трехмерная структура молекулы лактоферроксина А (Н-Тур1-Leu2-Gly3-Ser4-Gly5-Тур6-ОН) была исследована фрагментарно. Результаты расчета показали, что возникает энергетическая дифференциация между конформациями, формами основных цепей и шейпами. В энергетический интервал (0-6.0) ккал/моль попадают конформации четырнадцати шейпов пептидного скелета. Эти шейпы представлены четырнадцатью формами основной цепи. Пространственная структура молекулы лактоферроксина В (Н-Arg1-Тур2-Тур3-Gly4-Тур5-ОН) была исследована фрагментарно. Результаты расчета показали, что возникает энергетическая дифференциация между конформациями, формами основной цепи и шейпами. В энергетический интервал (0-5,0) ккал/моль попадают конформации одиннадцати шейпов пептидного скелета.

Первичные структуры лактоферроксина А и В резко отличаются. Лактоферроксин А состоит из шести аминокислотных остатков, а лактоферроксин В включает пять аминокислотных остатков. У лактоферроксина А аминокислотная последовательность включает по два остатка Тур и Gly, а у лактоферроксина В имеет место три остатка Тур и один остаток Gly. Сравнение полученных низкоэнергетических конформаций лактоферроксинов А и В показывает, что у них достаточно много общего. В маленький энергетический интервал 0-3.0 ккал/моль у этих молекул попадают много конформаций. Лактоферроксин А представлен 14-ю, а лактоферроксин В – 11-ю конформациями. В обеих молекулах глобальной является полностью свернутая конформация шепы ffff.

Вторые низкоэнергетические конформации лактоферроксинов А и В тоже очень похожи. В обеих молекулах N-конец имеет свернутую структуру, а С-конец молекул имеет развернутую форму. Следующие низкоэнергетические конформации молекул имеют полусвернутые формы основной цепи. Поэтому можно именно этим объяснить то, что обе молекулы выполняют общую биологическую функцию. Можно предположить, что в выполнении биологической функции участвуют тирозиновые аминокислотные остатки. В похожих конформациях их боковые цепи в пространстве находятся приблизительно в одинаковых положениях.

Таким образом, пространственную структуру молекулы лактоферроксина А (Н-Тур1-Leu2-Gly3-Ser4-Gly5-Тур6-ОН) можно представить четырнадцатью структурными типами и можно предположить, что молекула свои физиологические функции осуществляет именно в этих структурах, пространственную структуру молекулы лактоферроксина В (Н-Arg1-Тур2-Тур3-Gly4-Тур5-ОН) можно представить одиннадцатью структурными типами и можно предположить, что молекула свои физиологические функции осуществляет именно в этих структурах. На основе полученных трехмерных структур можно предложить для данных молекул их синтетические аналоги. Теоретический конформационный анализ пентапептидной молекул лактоферроксин А и В привел к таким структурным организациям молекул, которые не исключают реализацию этих молекулой целого ряда функций, требующих строго специфических взаимодействий с различными рецепторами.

1. Чеснокова Е.А., Сарычева Н.Ю., Дубынин В.А., Каменский А.А. Опиоидные пептиды, получаемые с пищей и их влияние на нервную систему // Успехи физиологических наук, 2015, т. 46, № 1, с. 22-46.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ГЛУТАМАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ГИППОКАМПА ПРИ ОКСИДАТИВНОМ СТРЕССЕ

Modeling of Glutamate Receptors of the Hippocampus under the Oxidative Stress

Аксенова С.В., Батова А.С., Бугай А.Н., Душанов Э.Б.

Объединенный институт ядерных исследований, г. Дубна, РФ, *kgyr@mail.ru*

Гиппокамп хорошо известен как центр управления памятью, который имеет решающее значение для хранения и последующего извлечения событий повседневной жизни для формирования поведения в будущем. Глутаматные рецепторы принимают непосредственное участие в координировании активности сетей нейронов гиппокампа, чтобы обеспечить кодирование, консолидацию и извлечение воспоминаний [1,2]. Понимание механизмов нарушения синаптической пластичности вследствие оксидативного стресса в структурах мозга, связанных с обучением и хранением информации, необходимо для улучшения терапевтических подходов при лечении неврологических расстройств, связанных с потерей памяти.

Процессы оксидативного стресса могут активироваться на фоне развития дисбаланса в нейротрансмиттерной системе при различных когнитивных нарушениях и ментальных заболеваниях [3,4]. С наибольшей вероятностью в белковых молекулах при окислительном стрессе наблюдается модификация цистеина (Cys → Ocs, сульфоновая кислота), метионина (Met → Omt, метионин сульфон), тирозина (Tyr → Niy/3ct, 3-нитротирозин /3-хлортирозин), гистидина (His → Ohi, 2-оксо-гистидин) и триптофана (Trp → 4pq/Oia, 5-гидрокситриптофан/оксидол-аланин) [5].

Для оценки воздействия свободных радикалов на структуру глутаматных рецепторов было проведено молекулярно-динамическое моделирование рецепторов AMPA и NMDA, имеющих в своей структуре повреждения тирозина Tyr731, 732 и цистеина Cys765, 819, 718, 773 в неактивном состоянии и в активной конформации. В качестве исходных трёхмерных моделей были выбраны глутаматные рецепторы с известной кристаллической структурой из базы PDB: 6WHR, 6WHT (активная конформация); 5L1B, 6DM1 (открытое состояние).

Изучение сетевой активности нейронов с различными типами глутаматных рецепторов проводилось в модели нейронной сети CA3 области гиппокампа [6]. Наибольший интерес представляет исследование θ - и γ -ритмов гиппокампа, т.к. они оказывают определяющее влияние на формирование памяти.

В результате исследования были выявлены различия в амплитуде тета- и гамма-частотных диапазонов в нейронных сетях с различными модельными структурами глутаматных рецепторов (табл. 1).

Таблица 1. Соотношение проводимости G поврежденного рецептора NMDA и AMPA к проводимости G_{base} неповрежденного рецепторного канала NMDA и AMPA

| | | | |
|-------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Тип повреждения | Tyr731 → Niy731 | Cys765 → Ocs765 | Cys819 → Ocs819 |
| $G_{NMDA}/G_{baseNMDA}$ | 0,918 | 1,0712 | 0,9801 |
| Тип повреждения | Tyr732 → Niy732 | Cys718 → Ocs718 | Cys773 → Ocs773 |
| $G_{AMPA}/G_{baseAMPA}$ | 0,4088 | 0,5463 | 0,4734 |

В ходе анализа сетевой активности нейронов были выявлены изменения проводимости ионного канала глутаматных рецепторов и локального потенциала в зависимости от типа повреждения. В случае повреждения Tyr731 и Cys765 NMDA-рецептора в нейронной сети наблюдается возрастание амплитуды тета- и гамма-частотных диапазонов. При модификации Cys819 рецепторов NMDA в поведении нейронной сети имеет место снижение тета-частоты и увеличение частоты гамма-диапазона. Изменения ритмов модели сети гиппокампа, содержащей поврежденные рецепторы AMPA, были связаны со снижением амплитуды тета- и гамма-частотных диапазонов по сравнению с сетью, содержащей нативные формы рецепторов.

1. Sosa M., Gillespie A.K., Loren M., Frank L.M. Neural Activity Patterns Underlying Spatial Coding in the Hippocampus // *Curr Top Behav Neurosci.*, 2018, vol. 37, pp. 43-100, doi: 10.1007/7854_2016_462.

2. Cravens C.J., Vargas-Pinto N., Christian K.M., Nakazawa K. CA3 NMDA receptors are crucial for rapid and automatic representation of context memory // *EJN*, 2006, vol. 24, pp. 1771-1780, doi: 10.1111/j.1460-9568.2006.05044.x.

3. Babaei P. NMDA and AMPA receptors dysregulation in Alzheimer's disease // *European Journal of Pharmacology*, vol. 908, 2021, doi: 10.1016/j.ejphar.2021.174310.

4. Бойко А.С. Окислительный стресс и глутаматергическая эксайтотоксичность в развитии лекарственно-индуцированной тардивной дискинезии // *Фундаментальные исследования*, 2014, № 10-6, с. 1220-1226.

5. Sahoo N., Hoshi T., Heinemann S.H. Oxidative Modulation of Voltage-Gated Potassium Channels. *Antioxid Redox Signal.*, 2014, vol. 21, no. 6, pp. 933-952, doi: 10.1089/ars.2013.5614.

6. Neymotin S.A. et al. Ketamine disrupts theta modulation of gamma in a computer model of hippocampus // *J. Neurosci.*, 2011, vol. 31, pp. 11733-11743, doi: 10.1523/JNEUROSCI.0501-11.2011.

**МУЛЬТИФАЗНАЯ ЧИСЛЕННАЯ МОДЕЛЬ КРИВОЙ ДОЖИТИЯ: ПОСТРОЕНИЕ И
ВАЛИДАЦИЯ НА ДАННЫХ HUMAN MORTALITY DATABASE**
**Multiphase Computational Model of the Survival Curve: Construction and Validation on Human Mortality
Database Data**

Алексеев А.А.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, alekseev@physics.msu.ru

В исследовании старения довольно часто рассматриваются кривые дожития, которые показывают уменьшение количества оставшихся животных в эксперименте на дожитие с течением времени относительно исходного их количества. Эти кривые используются как для общей оценки динамики смертности, а также и для вычисления средней (СПЖ) и максимальной (МПЖ) продолжительности жизни животных. Величины СПЖ и МПЖ используются для сравнительной оценки влияния различных факторов среды, а также генетических модификаций в задачах поиска геронпротекторов (веществ, замедляющих процессы старения), а также генов, связанных с базовыми процессами старения или просто имеющими значимую корреляцию с возрастом (о том, что стоит за подобной корреляцией, далеко не всегда можно достоверно судить). Также для анализа таких кривых применяются методы математической биологии, в частности, теоретические модели Гомертца и Вейбулла [2]. Хотя данные модели имеют развёрнутые математические основания, однако они не позволяют точно описать кривую дожития в ряде случаев, в том числе для данных из базы Human Mortality Database [3] или экспериментов для модельных животных, где кривая очевидно двухфазная – с низкой смертностью в молодом возрасте, и с негладким переходом к стадии ускоренного роста смертности, для карликовых мышей Эймса, где показан эффект «откладывания» экспоненциальной фазы старения в результате модификации рецептора гормона роста GHR [1], или для экспериментов на дожитие с 8926 особями дрозофил [4]. Однако, до последнего времени явным образом допущение двухфазность или многофазность при описании кривой дожития в литературе нам не известно, за одним исключением – в одной из глав в работе [5] рассматривалась двухфазная модель старения для кривых дожития дрозофил.

Нами была поставлена задача описание всего разнообразия кривых смертности для ряда животных различных групп (насекомые, пресмыкающиеся, млекопитающие) с помощью одной модели с различными наборами параметров для разных видов животных. В качестве первого шага мы взяли данные (кривые дожития) из базы [3], при этом были взяты несколько территориально удалённых стран, и когорты разных лет рождения.

В основу нашей численной модели было положена кусочно-заданная зависимость для коэффициента смертности (КС) от возраста, имеющая 5 фаз, включая фазу высокой смертности после рождения, уменьшение смертности в зрелом возрасте и экспоненциальный рост смертности (с определённого возраста) из-за старения. Модель имеет три параметра, определяющие смертности в начальный момент времени, в минимуме смертности и на «плато» в среднем возрасте. Кроме того, четыре параметра для возрастов перехода между фазами, а также коэффициент в показателе экспоненты. Также в модель добавлена коэффициент «стохастической» смертности, который не зависит от возраста и не связан со старением. Всего модель имеет 9 параметров. Кроме того, модель явным образом учитывает гетерогенность популяции по «исходному здоровью» и описывает уменьшение стрессоустойчивости (СУ) организма при воздействии случайных внешних факторов, причём скорость снижения СУ пропорциональна априорно заданной многофазной зависимости КС от возраста.

В ходе расчётов «запас здоровья» каждого из группы «виртуальных индивидов» снижался, после снижения ниже определённой границы (которая также является параметром модели), для «индивида» фиксировался факт смерти. Таким образом, рассчитывалась вся кривая дожития. Для получения усреднённой кривой данный алгоритм выполнялся итеративно некоторое число раз (оптимальное его значение определено в ходе численных «экспериментов»). Далее, для каждой рассмотренной кривой проводилась процедура идентификации параметров модели (фиттинг). Вычисления производились с помощью языка программирования R, оптимизационная задача решалась с помощью функции `optim`, доверительные интервалы для параметров оценивались с помощью процедуры бутстрепа.

Таким образом, были идентифицированы параметры модели для набора кривых дожития людей из базы [3], и, в целом, показана эффективность многофазного подхода при моделировании кривых дожития. Данный подход мы планируем в дальнейшем использовать для анализа кривых дожития для модельных животных, с целью выработки общего подхода к оценке параметров модели для эффекта «отложенного» старения [1], так и обоснования резонности использования величин МПЖ и СПЖ во множестве экспериментальных исследованиях в области старения, поскольку в величинах МПЖ и СПЖ отражаются как эффекты самого старения, так и множество особенностей постановки экспериментов, и воздействие факторов среды.

1. Bartke A. et al. Extending the lifespan of long-lived mice // *Nature*, 2001, vol. 414, no. 6862, p. 412.
2. Крутько В.Н., Донцов В.И. Системные механизмы и модели старения. М.: URSS. – 2008.
3. Human Mortality Database, <https://www.mortality.org/>
4. Handbook of the Biology of Aging Sixth Edition, 2006, Fig. 10.1
5. Марчук Г.И. Геронтология in silico: становление новой дисциплины. 2007, 377 с.

**ВАЛИДАЦИЯ ЭМПИРИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ СКОРОСТИ ХЛОРОПЛАСТНОЙ
АТФ-СИНТАЗЫ ДЛЯ РАЗНЫХ pH СТРОМЫ И ЛЮМЕНА**
Validation of the Empirical Model for Chloroplast ATP Synthase Rate for Different Stromal and Lumenal pH

Алексеев А.А.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, alekseev@physics.msu.ru

Описание зависимости скорости синтеза/гидролиза АТФ-синтазы от ΔpH , которая имеет сигмоидную форму [1] – важная задача при биофизическом описании процессов в хлоропластах. В литературе имеется ряд работ, содержащих модели АТФ-синтазы (хлоропластной [2,3] и митохондриальной [4]), в которых скорость синтеза АТФ представлена в виде функции различных переменных: мембранного потенциала $\Delta\psi$, трансмембранного протонного градиента $\Delta pH = pH_{in} - pH_{out}$, а также концентраций АТФ, АДФ и неорганического фосфата. Однако, в литературе мы не нашли модель АТФ-синтазы, в которой была бы дана зависимость скорости синтеза сразу от нескольких величин - ΔpH мембраны, pH с внешней стороны мембраны, концентраций АТФ и АДФ. В нашей модели мы использовали функцию сигмоиды для скорости синтеза:

$$V_{ATP_{synth}}(\Delta pH) = (y_2 - y_1) / (1 + \exp(-\alpha(\Delta pH - \Delta pH_{05})) + y_1,$$

каждый из параметров которой определён как произведение двух явных функций от параметров

$$pH_{out} (\equiv pH \text{ стромы}) \text{ и } Q = [ATP]_c / [ADP] / [P_i]: y_1 = f_{11}(Q) \cdot f_{12}(pH_{out}),$$

$$y_2 = f_{21}(Q) \cdot f_{22}(pH_{out}), \Delta pH_{05} = f_{31}(Q) \cdot f_{32}(pH_{out}), \alpha = f_{41}(Q) \cdot f_{42}(pH_{out}).$$

Параметры четырёх полиномиальных функций f_{ij} , $i = [1, 4]$ определялись путём фиттинга данных для скорости синтеза АТФ в зависимости от ΔpH при различных значениях параметра и pH_{out} из работы [1]. На рисунке 1 сплошные линии – результаты непосредственного фиттинга параметров $V_{ATP_{synth}}(\Delta pH)$, пунктирные линии – результат фиттинга с использованием функций f_{ij} .

Вычисления производились с помощью языка R (для фиттинга использована функция оптимизации `optim`). Как мы полагаем, качество оптимизации позволяет использовать функции с найденными параметрами как основу для получения полного набора функций модели f_{ij} .

Полученная эмпирическая модель может быть в дальнейшем использована для дополнения ранее развитой модели процессов фотосинтеза [5].

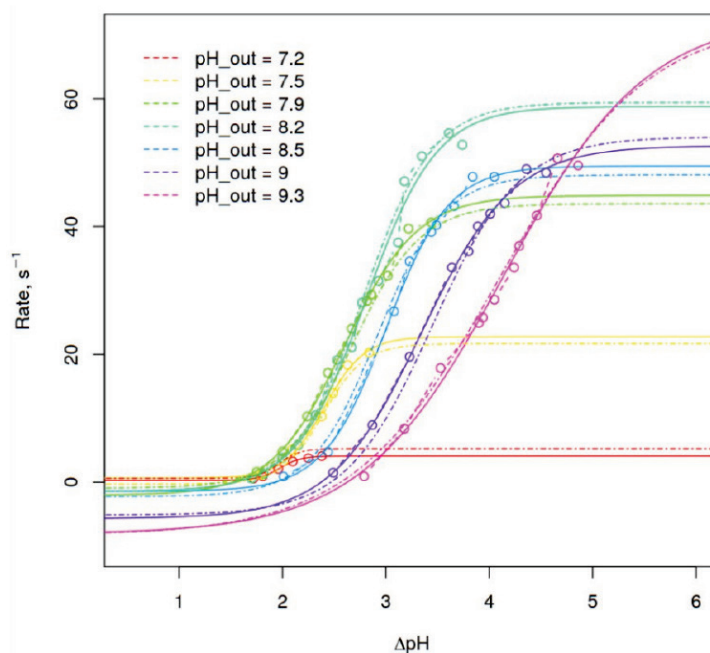


Рисунок 1. $V_{ATP_{synth}}(\Delta pH)$ для разных pH_{out}

1. Possmayer F.E., Graber P. The pH_{in} and pH_{out} Dependence of the Rate of ATP Synthesis Catalyzed by the Chloroplast H^+ -ATPase, CFoFr, in Proteoliposomes // The Journal of Biological Chemistry, 1994, vol. 269, no. 3, pp. 1896-1904.

2. Anandakrishnan R. et al. Biophysical comparison of ATP synthesis mechanisms shows a kinetic advantage for the rotary process // PNAS, 2016, vol. 113, no. 40, pp. 11220-11225.

3. Nath S., Jain S. Kinetic modeling of ATP synthesis by ATP synthase and its mechanistic implications // Biochemical and biophysical research communications, 2000, vol. 272, no. 3, pp. 629-633.

4. Jain S., Nath S. Kinetic model of ATP synthase: pH dependence of the rate of ATP synthesis // FEBS Letters, 2000, vol. 476, no. 3, pp. 113-117.
5. Alekseev A.A. et al. Theoretical study of fluorescence of photosynthetic pigments at complex dependence of intensity of exciting light on time // Biophysics, 2012, vol. 57, pp. 68-71.

ВЕБ-СЕРВИСЫ ДЛЯ ПРЕДСКАЗАНИЯ МИШЕНЕЙ микроРНК С ПОМОЩЬЮ НЕЙРОННЫХ СЕТЕЙ

Web-services for microRNA Target Prediction using Neural Networks

Аристархов М.А.¹, Дергилев А.И.^{2,3}, Бабенко В.Н.^{2,3}, Орлов Ю.Л.^{1,2,3}

¹ Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), г. Москва, РФ, orlov@d-health.institute

² Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск, РФ

³ Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск, РФ

Поиск генов мишеней микроРНК является важной задачей биоинформатики, требующей разработки новых программных средств и веб-сервисов [1,2]. МикроРНК - короткие некодирующие молекулы РНК длиной 18—25 нуклеотидов (в среднем 22), которые регулируют экспрессию генов. микроРНК играют важную роль в регуляции метаболизма и являются объектом активного исследования, в том числе в биологии растений, исследовании ответа на стрессовые воздействия окружающей среды [2]. Понимание их биологических функций может помочь в разработке новых лекарственных препаратов и методов лечения различных заболеваний. Необходимо исследование микроРНК и определение их мишеней в геноме [3].

Существующие решения связано с техническими проблемами (<https://mirdb.org/>). Молекула микроРНК может не полностью быть комплементарной молекуле-мишени мРНК, но все равно вызывает регуляцию экспрессии генов. МикроРНК способствует деградации мРНК или подавляет ее трансляцию, и этот процесс может происходить без полной комплементарности мишени. Это затрудняет однозначное определение мишени молекулы, в связи с невозможностью точно определить мишень по принципу комплементарности. Кроме того, одна молекула микроРНК может соответствовать сразу нескольким генам-мишеням. В данной ситуации важно использование нейронных сетей. Нейросети — это компьютерные системы, которые могут обрабатывать и анализировать данные, используя методы машинного обучения. В медицине нейросети используются для различных задач, таких как диагностика, прогнозирование, классификация и сегментация. Для нашего веб-сервиса мы используем нейронную сеть Mitar, основанную на глубоком обучении (DL-based), которая способна предсказывать мишени для микроРНК с более высокой точностью. Подход объединяет сверточные нейронные сети (CNN), которые преуспевают в изучении пространственных объектов, и рекуррентные нейронные сети (RNN), которые распознают последовательные объекты.

Для разработки использовался PyCharm — интегрированная среда разработки на языке Python, созданная компанией JetBrains. Он является инструментом для разработки с использованием современных веб-фреймворков, например, Django, Flask, Google App Engine, Pyramid и web2py. Для разработки серверной части использован веб-фреймворк Flask языка Python. Flask — это упрощенная платформа Python для веб-приложений, которая обеспечивает основные возможности маршрутизации URL-адресов и визуализации страниц. Сервис работает на архитектуре Rest. Для работы с данным сервисом разработаны несколько html страниц, которые будут возвращаться ответом на запрос в сервис. Html - язык маркировки гипертекстов, который не зависит от типа компьютерной платформы.

В результате разработан веб-сервис для предсказания микроРНК с использованием нейронной сети. Был проведен сравнительный анализ современных нейронных сетей для данной задачи. С помощью языка программирования Python и библиотеки Flask была разработана серверная часть сервиса. Она включает в себя набор функций, которые должны вызываться при поступлении HTTP запроса. Главная страница сервиса содержит форму для вставки последовательности микроРНК. При нажатии на кнопку сначала идет проверка на заполненность поля для ввода последовательности, если поле заполнено, то создается http запрос, который отправляется на серверную часть. Серверная часть, получая запрос в формате json.

В настоящей работе проведен анализ существующей литературы в области баз данных в Интернете, обращая внимание на основные модели прогнозирования мишеней микроРНК. Использование данных моделей помогает улучшить эффективность микроРНК и сократить количество атак на лекарства.

Среди известных налогов есть только сервисы использующие экспериментально подтвержденные данные, а использующие нейронные сети отсутствуют. Планируется продолжение исследований на основе данной работы с целью повысить эффективность работы сервиса и добавить больше функционала.

Работа поддержана грантом РФФ 23-44-00030.

1. Quillet A., Saad C., Ferry G. et al. Improving Bioinformatics Prediction of microRNA Targets by Ranks Aggregation // Front. Genet., 2020, vol. 10, p. 1330, doi: 10.3389/fgene.2019.01330.

2. Wang J., Meng X., Dobrovolskaya O.B. et al. Non-coding RNAs and Their Roles in Stress Response in Plants // Genomics Proteomics Bioinformatics, 2017, vol. 15, no. 5, pp. 301-312, doi: 10.1016/j.gpb.2017.01.007.

3. Orlov Y.L., Dobrovolskaya O., Yuan C.H. et al. Integrative computer analysis of antisense transcripts and miRNA targets in plant genomes // Journal of Stress Physiology & Biochemistry, 2012, vol. 8, no. 3, S. 7.

ТРЕХМЕРНАЯ СТРУКТУРА МОЛЕКУЛ СОЙМОРФИНОВ Three Dimensional Structure of the Soymorfin Molecules

Ахмедов Н.А., Агаева Л.Н., Исмаилова Л.И.

Бакинский государственный университет, Институт физических проблем, г. Баку, Азербайджан, *Namiq.49@bk.ru*

Опиоидные пептиды в настоящее время считаются наиболее изученной группой сигнальных веществ пептидной природы. Опиум вызывает обезболивание, успокоение и засыпание, также эйфорическое состояние и ряд вегетативных реакций. Опиоидные пептиды бывают животного и растительного происхождения. Ряд экзогенных пептидов, получаемых с пищей, обладают опиоподобными свойствами. Такие пептиды были названы экзорфинами. Открытие опиоидной активности пептидных компонентов пищи послужило основанием предположить, что некоторые виды пищи могут воздействовать на центральную нервную систему подобно опиатным препаратам. Экзорфины выделены из различных видов растений. Сойморфины-5, -6 и -7, являющиеся производными β-коглицинина сои, были обнаружены сравнительно недавно. Сойморфины в заметных количествах образуются при переваривании сои: при расщеплении β-субъединицы β-коглицинина сои панкреатической эластазой *in vitro* сойморфин-5 составляет 9,1% всех продуктов. По структуре сойморфины более всего сходны с человеческим β-казморфином-4. Интересно, что сойморфины – первые известные экзорфины растительного происхождения, являющиеся селективными лигандами μ-рецепторов. Для других опиоидоподобных растительных пептидов характерно сродство к β-рецепторам. Опыты на препаратах подвздошной кишки морской свинки показали, что сойморфины даже в большей степени μ-селективны, чем β-казморфины. Возможное нейротропное действие сойморфинов важно исследовать в связи с тем, что соевый белок широко используется в пищевой промышленности [1].

Расчет молекулы выполнен с помощью метода теоретического конформационного анализа. Потенциальная функция системы выбрана в виде суммы невалентных, электростатических и торсионных взаимодействий и энергии водородных связей. Пространственная структура сойморфина-5 (Thr1-Pro2-Phe3-Val4-Val5-NH₂) исследована на основе низкоэнергетических конформаций соответствующих аминокислотных остатков. Результаты расчета показали, что возникает энергетическая дифференциация между формами основной цепи и конформациями. В небольшой энергетический интервал 0-15 кДж/моль попадают конформации всех восьми шейпов основной цепи.

Пространственная структура молекулы сойморфина-6 рассчитана на основе низкоэнергетических конформаций сойморфина-5 и метиламида N-ацетил-L-аспарагина. Низкоэнергетические конформации молекулы сойморфина-5 представлены в таблице 1. Результаты расчета молекулы сойморфина-6 показали, что происходит энергетическая дифференциация между формами основной цепи и конформациями. В энергетический интервал 0-30 кДж/моль попадают конформации восьми шейпов.

Трехмерная структура молекулы сойморфина-7 (Tyr1-Pro2-Tyr3-Val4-Val5-Asn6-Ala7-NH₂) была исследована фрагментарно. Сначала, на основе низкоэнергетических конформаций соответствующих аминокислотных остатков изучена пространственная структура пентапептидной молекулы сойморфина-5 (Tyr1-Pro2-Tyr3-Val4-Val5-NH₂) и определены ее стабильные конформации. На втором этапе, на основе низкоэнергетических конформаций молекулы сойморфина-5 и аминокислотного остатка Asn6 была рассчитана пространственная структура сойморфина-6 (Tyr1-Pro2-Tyr3-Val4-Val5-Asn6-NH₂). На третьем этапе, на основе оптимальных конформаций сойморфина-6 и аминокислотного остатка Ala7 исследована трехмерная структура сойморфина-7. Результаты расчета показали, что возникает энергетическая дифференциация между конформациями, формами основных цепей и шейпами. В энергетический интервал 0-43.0 кДж/моль попадают конформации восьми шейпов.

Таким образом, пространную структуру молекул сойморфина-5, сойморфина-6 и сойморфина-7 можно представить восемью структурными типами и можно предложить, что молекулы свои физиологические функции осуществляет в этих структурах. Сравнение низкоэнергетических структур сойморфинов показывают, что во всех молекулах первые четыре низкоэнергетические конформации являются представителями структурных типов efef, efef, efff, effe у сойморфина-5, efffff, efef, efffe, effee у сойморфина-6, efffff, efef, efffe, effee у сойморфина-7. На основе этих структур можно предложить их искусственные аналоги для синтетиза.

1. Чеснокова Е.А., Сарычева Н.Ю., Дубынин В.А., Каменский А.А. Опиоидные пептиды, получаемые с пищей и их влияние на нервную систему // Успехи физиологических наук, 2015, т. 46, № 1, с. 22-46.

**ВОЗМОЖНОСТИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА ДЛИТЕЛЬНЫХ СИГНАЛОВ
ИНДУКЦИИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ И P700 РЕДОКС ПРЕВРАЩЕНИЙ С УЧЕТОМ
ПЕРЕХОДОВ СОСТОЯНИЙ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ПРОЦЕССОВ ТИЛАКОИДНЫХ МЕМБРАН
ВОДОРОСЛИ И ЦИАНОБАКТЕРИИ.**

**Modeling and Quantifying Chl Fluorescence and P700 Induction Signals Account for State 2–State 1 Transitions
in Thylakoid Membranes of Microalga and Cyanobacterium**

Беляева Н.Е., Булычев А.А., Пашченко В.З., Ризниченко Г.Ю., Рубин А.Б.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, natalmurav@yandex.ru

Известно, что у хлоропластов (в листьях, водорослях) и цианобактерий реакционные центры (РЦ) фотосистем 1 и 2 (ФС1 и ФС2) имеют сходную структуру, обеспечивая свето-индуцированное разделение зарядов с образованием в РЦ ФС2 обратимой радикальной пары на пикосекундах и стабилизацией электронов на Q_A до наносекунд. Но захват квантов на десятках фемтосекунд происходит в антеннах, ассоциированных с ФС1, ФС2 различным образом в тилакоидных мембранах (ТМ) хлоропластов и цианобактерий. Приток энергии света в системы ТМ хлоропластов обусловлен процессами: во внутри-мембранных LHCI, LHСII комплексах молекул хлорофилла (Chl) *a/b* в сравнении с экстремембранными комплексами фикобилисом (PBS) в цианобактериальных клетках. При различной пространственной структуре двух систем ТМ (эукариоты и прокариоты) [1,2] организация электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) является для них сходной и обеспечивает согласование реакций переноса электрона (ПЭ) в сопряжении с переносом протонов H^+ (ПП) [1-6]. Как результат, цепочки реакций ПЭ/ПП организованы по градиенту редокс потенциалов компонент ЭТЦ. В РЦ ФС2 процессы одноэлектронного ПЭ на временах наносекунд согласованы с двухэлектронным образованием Q_B с характерными временами сотни микросекунд. Затем, согласованные во времени реакции ПЭ/ПП включены в потоки заполнения электронами протонированного пула хинонов PQ/PQH₂, в процессы цитохромного комплекса (Cyt *b₆f*) и восстановление метаболитов Fd и NADPH. Согласно приведенным выше цепочкам ЭТЦ, для кинетических констант, применимых к количественному описанию реакций в системах ТМ, надо использовать величины констант в диапазоне: пико(пс)-нано(нс)-микро(мкс)-милли (мс) –секунды.

При математическом описании работы систем ТМ необходим учет полного энергетического баланса: потерь, сопутствующих потокам зарядов и затрат на энергизацию структур ТМ вследствие действия света [3-6]. Расчеты выявили зависимость от интенсивности актиничного света диссипативных потерь энергии как при рекомбинации зарядов [3], так и в случае прямого NPQ тушения, связанного с закислением люмена на свету [5-6]. Расчеты в модели Т-М концентраций $[H^+]$ и противоионов люмена и стромы тилакоида воспроизводят динамику $pH_L(t)$, $pH_S(t)$ и трансмембранного электрического потенциала $\Delta\Psi(t)$. Итог формирования pmf (протон движущей силы) зависит от параметров пассивного (утечки, V_{H^+}) и активного (АТФаза, V_{ATP}) переноса H^+ . Динамические стадии энергизации мембраны тилакоида можно сопоставлять с ходом OJIPSMТ кинетики ИФ и OABCDE изменений P700 для решений модели Т-М, фитированных по измерениям. Нами использованы данные для клеток микроводоросли *Scenedesmus obliquus* (кривые ИФ) и цианобактерии *Synechocystis sp.* PCC 6803 (параллельные измерения ИФ и P700 [7]) и проведен расчет в модели Т-М на временной шкале от пикосекунд до десятков секунд при условии включения в расчет формулы (источник [8]) переходов 2→1 в балансе световой энергии между ФС1 и ФС2 в зависимости от состояния пула хинонов. Расчеты по фитированию дают численные значения параметров процессов, перечисленных выше. В итоге, нами достигается количественное описание систем двух типов ТМ, что отличает исследование от работ [7,9] по анализу измерений на временной шкале от микросекунд до 5-10 минут, где кривые ИФ (и P700 в [7]) объяснены качественно с учетом эффектов регуляции «State transitions» 1→2 и 2→1. В модели Т-М было проверено, в какой степени кинетические стадии сигналов, измеренных при световой индукции образцов, чувствительны к модификациям в допустимых диапазонах величин V_{H^+} и V_{ATP} , которые в расчетах отличаются для ТМ *Scenedesmus* и *Synechocystis*. Дальнейший модельный анализ актуален для изучения стадий электрохимического контроля процессов ТМ при длительной (до минут) световой индукции.

1. Stirbet A., Lazár D., Papageorgiou G.C. Govindjee. In: Cyanobacteria: From Basic Science to Applications Mishra AK, Tiwari DN, Rai AN, eds. Academic Press, Elsevier, 2019, pp. 79-130
2. Mullineaux C.W. Co-existence of photosynthetic and respiratory activities ... // BBA, 2014, vol. 1837, pp. 503-511.
3. Belyaeva N.E., Bulychev A.A., Riznichenko G.Yu., Rubin A.B. // Biophysics, 2011, vol. 56, no. 3, pp. 464-477.
4. Belyaeva N.E., Bulychev A.A., Riznichenko G.Yu., Rubin A.B. // Photosynth. Res., 2016, vol. 130, pp. 491-515.
5. Belyaeva N., Bulychev A., Riznichenko G., Rubin A. // Photosynth. Res., 2019, vol. 140, pp. 1-19.
6. Belyaeva N.E., Bulychev A.A., Pashchenko V.Z. et al. Dynamics of processes in thylakoid membranes of algae ... // Biophysics, 2022, vol. 67, no. 5, pp. 708-725
7. Elanskaya I.V., Bulychev A.A., Lukashev E.P., Muronets E.M. // BBA – Bioenergetics, 2021, vol. 1862, p. 148318
8. Ebenhöf O., Fucile G., Finazzi G. et al. // Philos. Trans. R. Soc. B, 2014, vol. 369, p. 20130223.

9. Kodru S., Malavath T., Devadasu E. et al. The slow S to M rise ... // *Photosynth. Res.*, vol. 2015, no. 125 (1-2), pp. 219-231.

МОДЕЛИРОВАНИЕ КЛЕТОЧНОЙ ДИНАМИКИ В ЭПИДЕРМИСЕ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА Modeling of Cell Dynamics in the Human Skin Epidermis

Бескудрова А.С.¹, Пантелеев А. А.², Шинин В.В.², Левашова Н. Т.¹, Сидорова А.Э.¹

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, *sky314bone@mail.ru*

² НИЦ Курчатовский институт, г. Москва, РФ, *alexbes17@yandex.ru, a.a.pantel@gmail.com, vshinin@gmail.com, natasha@wanaku.net*

Эпидермис – внешний слой кожи, выступающий в роли физиологического барьера организма. Уникальной особенностью эпидермиса является его способность к непрерывному самообновлению, происходящему благодаря пролиферации базальных кератиноцитов, клеток внутреннего слоя эпидермиса и дифференцировке кератиноцитов супрабазальных (внешних) слоёв. О процессах самообновления известно многое. Почти полностью описан каскад преобразований в процессе дифференцировки. Подробно изучены стадии клеточного цикла, активного при пролиферации клеток. Однако до сих пор не ясно, каким образом устанавливается баланс между этими процессами и что является активатором каждого из них.

В отношении клеточной судьбы существуют две основные модели: детерминистическая модель Поттена [1] и стохастическая модель Клейтона [2,3]. Ключевыми отличиями моделей является наличие в эпидермисе особых клеток, обладающих высоким пролиферативным потенциалом. И в первом случае обеспечение эпидермиса клетками происходит благодаря наличию в нём пролиферативных единиц, ограниченных по площади и строго детерминированных по своим функциональным состояниям, а во втором – благодаря случайным пролиферативным событиям, равномерно распределённым по базальному слою. В своей работе мы совместили обе модели, считая, что клетки базального слоя эпидермиса могут пребывать в 2 состояниях – состоянии покоя и состоянии коммитированности в дифференцировку, что соответствует модели Поттена, при этом переходы между состояниями происходят случайным образом в соответствии с моделью Клейтона. Мы также предположили, что в качестве центрального регулятора клеточной активности может выступать фактор, индуцируемый гипоксией-1 (HIF-1). HIF-1 является центральным механизмом адаптации живых систем к внешним изменениям во внешних условиях и также играет значительную роль в контроле некоторых ключевых функций эпидермиса [4,5]. HIF-1 имеет две субъединицы, HIF-1a и ARNT(HIF-1b), которые могут образовывать гетеродимер, проявляющий свойства HIF-1a или гомодимер ARNT.

Для проверки гипотезы при помощи флуоресцентной микроскопии были исследованы образцы эпидермиса кожи человека на предмет активности ARNT и HIF-1a. Экспериментально была показана гетерогенность ARNT в базальном слое эпидермиса и наличие активации HIF-1a при воспалении. На основании исследования паттернов экспрессии и транскрипционных факторов ARNT и HIF-1a на препаратах фрагментов эпидермиса *in toto*, а также на основании литературных данных разработана математическая модель, учитывающая иерархию/функциональную гетерогенность клеток базального слоя. Данные моделирования позволяют выдвинуть гипотезу, что потенциально систему HIF-1a/ARNT можно рассматривать в качестве центрального регулятора и стабилизатора процессов самообновления процессов, протекающих в эпидермисе.

1. Potten C.S. Cell replacement in epidermis (keratopoiesis) via discrete units of proliferation // *International Review of Cytology*, 1981, vol. 69, pp. 271-318, doi: 10.1016/s0074-7696(08)62326-8.

2. Clayton E., Doupe D.P., Klein A.M. et al. A single type of progenitor cell maintains normal epidermis // *Nature*, 2007, vol. 446, no. 7132, pp. 185-189, doi: 10.1038/nature05574.

3. Doupe D.P., Klein A.M., Simons B.D., Jones P.H. The ordered architecture of murine ear epidermis is maintained by progenitor cells with random fate // *Developmental Cell*, 2010, vol. 18, no. 2, pp. 317-323, doi: 10.1016/j.devcel.2009.12.016.

4. Lee J.W., Bae S.H., Jeong J.W. et al. Hypoxia-inducible factor (HIF-1)alpha: its protein stability and biological functions // *Experimental & Molecular Medicine*, 2004, vol. 36, no. 1, pp. 1-12, doi: 10.1038/emm.2004.1.

5. Ke Q., Costa M. Hypoxia-Inducible Factor-1 (HIF-1) // *Molecular Pharmacology*, 2006, vol. 70, no. 5, pp. 1469-1480, doi:10.1124/mol.106.027029.

**МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЭВОЛЮЦИИ
ТРАНСГЕННЫХ БАКТЕРИЙ: «ПЛАЗМИДНЫЙ ПАРАДОКС»**
Mathematical Modeling of the Experimental Evolution of Transgenic Bacteria: “Plasmid Paradox”

Брильков А.В.¹, Брилькова Е.В.^{1,2}, Жабрун И.В.¹, Ганусов В.В.³, Логинов Ю.Ю.⁴, Шуваев А.Н.¹

¹ Сибирский федеральный университет, г. Красноярск, РФ, abrilkov@sfu-kras.ru

² Институт биофизики ФИЦ СО РАН, г. Красноярск, РФ, evmorbril@mail.ru

³ University of Tennessee, Knoxville, USA, vitaly.ganusov@gmail.com

⁴ Сибирский государственный технический университет им. акад. М.Ф. Решетнева, г. Красноярск, РФ, loginov@sibsau.ru

Для прогнозирования сохранения и распространения генетически модифицированных микроорганизмов (ГМО) в различных природных экосистемах и, в целом, экологических последствий интродукции, необходимым этапом является математическое моделирование. Это позволяет изучать закономерности выживания трансгенных микроорганизмов в определенных экологических условиях с учетом различных характеристик трансгенных штаммов, например, стабильности плазмид в новых клетках, «стоимости» поддержания конъюгативных и некоъюгативных плазмид, эффективности экспрессии клонированных на плаزمиде генов и других.

«Плазмидный парадокс» заключается в том, что хотя обычно присутствие плазмид, содержащих клонированные гены, снижает удельную скорость роста трансгенных бактерий, но при длительном росте бактерий в неселективных условиях (т. н. «экспериментальная эволюция», 20-30 или более генераций исходной формы) стоимость приспособленности, снижается на порядок-два. Это, например, хорошо показано на плазмиде резистентности к антибиотикам у клинических изолятов, причем трансгенные штаммы содержали как конъюгативные, так и некоъюгативные плазмиды, с необходимыми делециями обозначенных оперонов, при разных температурах, в новых штаммах бактерий, при разной копияности и экспрессии клонированных на плазмиде генов и т.д. [1].

Причины такого значительного изменения в стабильности плазмид пока не были определены в каждом случае достаточно точно. В данной работе показано, что «компенсаторные мутации», в принципе, снижают стоимость плазмид для популяции на порядок-два. Интеграция клонированных генов из плазмид в хромосомы, новые штаммы бактерий-хозяев при горизонтальном переносе клонированных генов, новое сообщество организмов, куда встраивается трансгенный штамм бактерий, тоже играют большую роль в распространении плазмид трансгенных бактерий. Это связано с изменением разницы в скоростях роста плазмидных и бесплазмидных клеток (селективный коэффициент), с изменением вероятности образования бесплазмидных клеток, копияности плазмид и экспрессии клонированных генов в разных экологических условиях.

1. Brockhurst M.A., Harrison E. Ecological and evolutionary solutions to the plasmid paradox // *Trends Microbiol.*, 2022, vol. 30, no. 6, pp. 534-543.

**МОДЕЛИРОВАНИЕ И КОМПЬЮТЕРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ХИРАЛЬНЫХ СВОЙСТВ
ПЕПТИДНЫХ НАНОТРУБОК НА ОСНОВЕ ДИЛЕЙЦИНА И ДИЗОЛЕЙЦИНА**
Simulation and Computer Study of Chiral Properties of Peptide Nanotubes based on Dileucine and Diisoleucine

Быстров В.С.¹, Филиппов С.В.¹, Лихачев И.В.¹, Леденева О.Р.², Белова Е.В.²

¹ Институт математических проблем биологии РАН – филиал ИПМ им. М.В. Келдыша РАН, г. Пущино, РФ, vsbys@mail.ru

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ

Исследование пептидных наноструктур на основе различных аминокислот является актуальным направлением современной биофизики и молекулярной биологии, фармакологии и нанобиотехнологии. Это важно для многих практических применений: для систем доставки лекарств, создания различных молекулярных машин, создания гибридных гетероструктур для наноэлектроники, разнообразных сенсоров. Здесь важно то, что эти пептидные наноструктуры и спиральные нанотрубки на основе дипептидов, проявляют набор пьезо-, сегнето- и фотоэлектрических свойств, которые и лежат в основе многочисленных практических применений.

В настоящее время имеется уже значительное количество экспериментов по исследованию свойств таких наноструктур на основе дипептидов. Среди них наиболее изученными являются дифенилаланиновые нанотрубки (FF PNT) [1-3]. Хорошо известно, что, как и фенилаланин, все аминокислоты, имеют свои электрические дипольные моменты и при их самоорганизации в различные сложные структуры, они проявляют полярные и сегнетоэлектрические свойства с большими значениями спонтанной поляризации и пьезо-электрических

коэффициентов. Все это вызывает большой интерес к их исследованиям и применениям. В частности, к таким аминокислотам с разветвленной цепью, как лейцин (L или Leu) и изолейцин (I или Ile) [4].

Известно, также, что в зависимости от своей стерео-конформации, две формы одной молекулы могут быть различны по проявлению оптической и биологической активности. Это свойство молекул - «хиральность» - очень важно для их функционирования, как в живых системах, так и в молекулярной электронике, и технических системах [3]. Изучение FF PNT показало, что как значение поляризации, так и другие физические свойства тесно связаны с тем, на основе аминокислот и дипептидов какой хиральности они образованы: левой L-FF или правой D-FF [1-3,5,6]. Поэтому крайне важным представляется изучение физических свойств и формирования наноструктур различной хиральности L и D из дипептидов на основе лейцина (L-LL и D-LL) и изолейцина (L-II и D-II). Однако, еще не все эти наноструктуры достаточно хорошо изучены экспериментально. В этой связи, очень эффективно является их исследование с помощью методов компьютерного моделирования.

В данной работе представлены результаты моделирования и изучения свойств пептидных нанотрубок на основе дилейцина и диизолейцина разной хиральности, расчетов величины и знака хиральности нанотрубок на их основе. Расчеты хиральности спиральных нанотрубок LL и II PNT проведены методом смешанного векторно-скалярного произведения дипольных моментов отдельных дипептидов, расположенных последовательно по витку спирали нанотрубки [5]. Этот подход и алгоритм расчета, реализованный в виде Tcl/Tk скрипта в специальных опциях Tool Command Language программного пакета HyperChem [7], аналогичен примененному ранее для FF PNT [5]. В отличие от нанотрубок FF PNT, у которых на 1 виток спирали приходилось 6 молекул дипептидов FF, в нанотрубках LL PNT и II PNT на 1 виток спирали приходится по 4 молекулы дипептида LL или II. Тем не менее, не смотря на разницу, данный подход расчета хиральности этих спиральных структур приводит к аналогичному результату: на основе дипептидов левой хиральности L-LL и L-II (имеющих знак «-») образуются нанотрубки с правой хиральностью D (имеющих знак «+»), и наоборот, на основе D-LL и D-II - нанотрубки с левой хиральностью L. Это как раз и соответствует закону изменения знака хиральности при переходе молекулярных структур на следующий уровень их иерархической самоорганизации [6].

Таким образом, полученные новые результаты расчета хиральности пептидных нанотрубок на основе дилейцина и диизолейцина, убедительно показали, что они также, как и дифенилаланиновые нанотрубки, меняют знак своей хиральности в зависимости от хиральности исходных дипептидов, что подтверждает общую закономерность иерархической самоорганизации биомолекулярных структур.

1. Bystrov V.S., Zelenovskiy P.S., Nuraeva A.S. et al. Chiral Peculiar Properties of Self-Organization of Diphenylalanine Peptide Nanotubes: Modeling of Structure and Properties // *Math. Biol. Bioinform.*, 2019, vol. 14, pp. 94-125.

2. Bystrov V.S., Filippov S.V. Molecular modelling and computational studies of peptide diphenylalanine nanotubes, containing waters: Structural and interactions analysis // *J. Mol. Model.*, 2022, vol. 28, pp. 1-24.

3. Zelenovskiy P.S., Nuraeva A., Kopyl S. et al. Chirality-Dependent Growth of Self-Assembled Diphenylalanine Microtubes // *Cryst. Growth Des.*, 2019, vol. 19, pp. 6414-6421.

4. Leuchtag H.R. Voltage-Sensitive Ion Channels: Biophysics of Molecular Excitability. Springer, 2008, 529 p.

5. Bystrov V., Sidorova A., Lutsenko A. et al. Modeling of Self-Assembled Peptide Nanotubes and Determination of Their Chirality Sign Based on Dipole Moment Calculations // *Nanomaterials*, 2021, vol. 11, p. 2415.

6. Tverdislov V.A. Chirality as a primary switch of hierarchical levels in molecular biological systems // *Biophysics*, 2013, vol. 58, pp. 128-132.

7. HyperChem 8. Tools for Molecular Modeling. Professional Edition for Windows AC Release 8.0 USB (on CD). Gainesville, FL 32601 United States: Hypercube. Inc. 2011.

ТЕРМОДИНАМИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ, ОПИСЫВАЮЩАЯ РАВНОВЕСНОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ БЕЛКОВЫХ АГРЕГАТОВ НА МАТРИЦЕ ПО РАЗМЕРАМ Thermodynamic Model Describing the Equilibrium Distribution of Protein Aggregates on a Matrix by Size

Василенко Е.О.¹, Козин С.А.¹, Митькевич В.А.¹, Нечипуренко Ю.Д.^{1,2}

¹ Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, г. Москва, РФ

² Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, nech99@mail.ru

Развитие многих нейродегенеративных заболеваний связано с образованием в организме патологических белковых агрегатов. Механизмы заболеваний этой группы обладают рядом гомологий, что позволяет предлагать подходы, общие для всех таких механизмов. Один из таких механизмов – прионный: белки, принявшие патологическую конформацию, могут индуцировать агрегацию [1]. При помощи статистической термодинамики [2,3] построена математическая модель, позволяющая получать равновесные распределения белковых агрегатов по размерам. В модели используется небольшое число параметров: константа связывания белка с матрицей (описывающая инициацию роста агрегата), а также константы ассоциации, каждая из которых соответствует образованию одного из типов связей между белками в агрегате. Графики распределений, генерируемые моделью, сопоставляются с экспериментальными распределениями [3] амилоидных фибрилл по длине в растворе, что

позволяет получать оценки констант ассоциации. Модель может быть применена для исследования патологической агрегации белков разной природы. Понимание молекулярного механизма образования таких агрегатов позволит подобрать эффективные инструменты подавления патологии, блокирующие развитие агрегации белков.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 19-74-30007).

1. Kozin, S.A. Role of Interaction between Zinc and Amyloid Beta in Pathogenesis of Alzheimer's Disease // *Biochemistry Moscow*, 2023, vol. 88 (Suppl 1), pp. S75-S87, doi: 10.1134/S0006297923140055.

2. Нечипуренко Ю.Д. Анализ связывания биологически активных соединений с нуклеиновыми кислотами. Москва; Ижевск: Ин-т комп. исслед., 2015, 187 с., ISBN 978-5-4344-0295-8.

3. Spouge J. Equilibrium polymer size distributions // *Macromolecules*, 1983, vol. 16, no. 1, pp. 121-127, doi: 10.1021/ma00235a024.

4. Xue W.F., Homans S.W., Radford S.E. Amyloid fibril length distribution quantified by atomic force microscopy single-particle image analysis // *Protein Engineering, Design & Selection*, 2009, vol. 22, no. 8, pp. 489-496, doi: 10.1093/protein/gzp026.

НЕЙРОСЕТЕВОЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ВНЕШНИХ БИОТИЧЕСКИХ И АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА РАЗВИТИЕ МИКРОЗЕЛЕНИ В СИСТЕМЕ ЗАЩИЩЕННОГО ГРУНТА

Neural Network Analysis of the Influence of External Biotic and Abiotic Factors on the Development of Microgreen in Protected Ground

Воробьев Н.И.¹, Пухальский Я.В.²

¹ Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии, г. Санкт-Петербург – г. Пушкин, РФ, nik.ivanvorobyov@yandex.ru

² Ленинградский государственный университет им. А.С. Пушкина, г. Санкт-Петербург – г. Пушкин, РФ, puhalskyan@gmail.com

Выращивание органической микрозелени в искусственной среде сопряжено с разработкой унифицированного технологического регламента, сочетающего в себе возможности использования различных внешних элиситоров для получения здоровой рассады. В качестве внешних факторов биотической и/или абиотической природы здесь могут выступать отдельные микробные биопрепараты, органические соединения и физическое облучение слабыми магнитными полями (ЭМП).

Поскольку качество получаемой микрозелени напрямую зависит от сбалансированного накопления в ней эссенциальных микроэлементов, для оценки их аккумуляции в зеленой биомассе была разработана нейронная сеть, основанная на методике фрактального расчета индексов биокомпозиции (IndBcomL: 0...1) по значениям повторяющихся числовых рядов (рис. 1). Чем выше показатель расчетного индекса, тем лучше условия развития растений, способствующих достижению их высокой питательной ценности и большему набору биомассы.

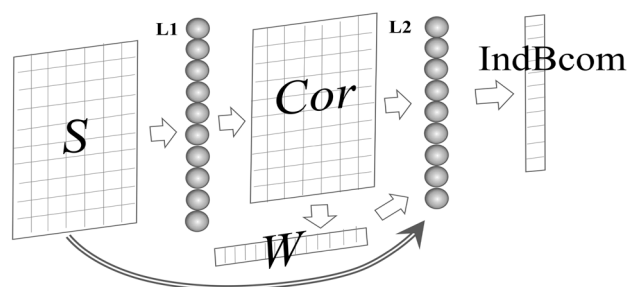


Рисунок 1. Корреляционная нейронная сеть, вычисляющая индексы биокомпозиции (IndBcom)

микроэлементных профилей растений горчицы. S – матрица микроэлементных профилей растений для 8 вариантов опыта. Cor – матрица межвариантной корреляции микроэлементных профилей растений. W – вектор весовых коэффициентов для нейронного слоя L2. IndBcom – вектор индексов биокомпозиции микроэлементных профилей растений. L1, L2 – обозначения слоев нейронов, выполняющих матричные преобразования числовых данных.

В качестве примера для оценки изменений внутриэментного профиля микрозелени под воздействием факторов внешнего воздействия были взяты семена растений горчицы сарептской сорта Ника. Эксперимент проводился в закрытом гроубоксе (15 суток), в условиях агрегатопоники при интенсивной 16 часовой светокультуре (440 мкмоль м⁻² с⁻¹). Для инокуляции растений использовали эндомикоризный гриб *Glomus mosseae*. В качестве стабилизирующей органической добавки для введения в корнеобитаемую среду (кокосовый субстрат)

использовали раствор фульвокислот (ФК) в концентрации 100 мг/л. Для физической обработки применяли статическое воздействие слабого ЭМП с преобладанием магнитной индукции в 20 мТл [1].

По расчетным индексам биокомпозиции микроэлементов, наилучший результат был диагностирован для варианта совместного применения ФК+ЭМП ($IndVcomL = 0,27$). Биомасса сухого порошка на элементный анализ здесь составила 10,2 г, что почти в 2 раза превышало значения, полученные на контроле, без каких-либо сторонних воздействий (5,2 г). Все варианты с микоризацией не оказали положительного действия на степень консолидации общего пула микроэлементов на данном сроке вегетации культуры. Прибавка по биомассе в среднем здесь составила лишь 20 %.

Таким образом, примененный нами нейросетевой анализ соотношения микроэлементов в полученной микрорезелени можно рассматривать как своеобразную математическую модель, для биохимической диагностики качества получаемой биомассы, и выбора наилучших условий для дальнейшего биотехнологического процесса возделывания других культур в искусственной среде, при минимизации использования минеральных удобрений в пользу органо-бактериального комплекса.

1. Пухальский Я.В., Воробьев Н.И., Лоскутов С.И. и др. Нейросетевой анализ влияния внешних биотических и абиотических факторов на микроэлементный профиль и биомассу микрорезелени горчицы сарептской // Техника и технология пищевых производств, 2024, в печати.

МЕТОДЫ ПОДОБИЯ В МАТЕМАТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ СИНХРОНИЗАЦИИ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ БИОЛОГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ

Similitude Methods in the Mathematical Model of Synchronization of the Electrical Activity of Biological Neurons

Галанин В.В., Бондаренко В.В., Адыширин-заде К.А

Самарский государственный медицинский университет, г. Самара, РФ, v.v.galanin@samsmu.ru

Математические модели синхронизации колебаний нейронных ансамблей имеют особенное значение для понимания механизмов функционирования биологических нейронных сетей человека и животных. Поскольку имеются все основания предполагать, что процесс обработки информации в мозге осуществляется на основе синхронизации активности разнообразных нейронных структур, обладающих богатым набором сложных колебательных режимов [1].

В настоящей работе решается задача о взаимной синхронизации автоколебаний двух электрически связанных нейронов. Автоколебания потенциалов действия на мембране нейронов возникают в ответ на стимуляцию внешним постоянным током. Собственно, генерация автоколебаний нейронами описывается с помощью классической модели Ходжкина-Хаксли. Особенностью данной модели является сложность и нелинейность дифференциальных уравнений. Для упрощения числа параметров, определяющих модель, в задаче применяются методы теории подобия. При этом уравнения модели записываются с использованием параметров подобия (или критериев подобия – инвариантных безразмерных комплексов, составленных из величин, входящих в модель). Данный подход обеспечивает более глубокий уровень общности результатов исследования, позволяя более четко выявить внутренние связи процессов синхронизации колебаний.

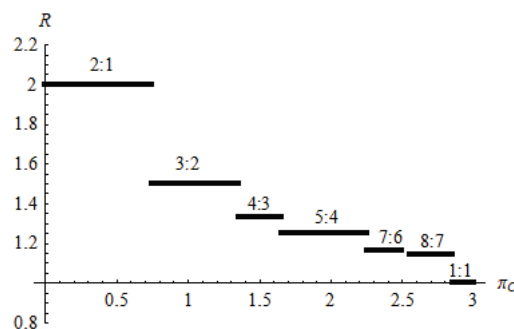


Рисунок 1. Синхронные режимы колебаний двух электрически связанных нейронов

Модифицированная система уравнений, описывающая взаимодействие двух связанных нейронов, имеет следующий вид:

$$\begin{aligned} C_1 \frac{dV_1}{dt} &= -\sum_i \pi_{1i} I_{1i}(V_1, x_{i1}) + \pi_{st1} I_{st1} - \pi_c g_c (V_2 - V_1), & \frac{dx_{i1}}{dt} &= \pi_{i\tau 1} \frac{\bar{x}_{i1} - x_{i1}}{\tau_{x_{i1}}}, \\ C_2 \frac{dV_2}{dt} &= -\sum_i \pi_{2i} I_{2i}(V_2, x_{i2}) + \pi_{st2} I_{st2} - \pi_c g_c (V_1 - V_2), & \frac{dx_{i2}}{dt} &= \pi_{i\tau 2} \frac{\bar{x}_{i2} - x_{i2}}{\tau_{x_{i2}}}, \end{aligned}$$

где $V_{1,2}$ – мембранный потенциал клетки 1 и 2, соответственно; $I_{1,2i}$ – сила тока через ионные каналы мембраны, проводимость которых является функцией мембранного потенциала и переменных активации и инактивации $x_{i1,2}$; $\pi_{i1,2}$, $\pi_{st1,2}$, π_c – соответствующие параметры подбора изучаемой модели. Значения внешних токов $I_{st1,2}$ подбираются так, чтобы собственные частоты генерации потенциалов действия нейронов были различны.

На рисунке 1 представлены результаты вычислений числа R сгенерированных первым и вторым нейронами потенциалов действия как функции параметра подбора π_c , отвечающего за их электротоническое взаимодействие.

Расчеты показывают, что с увеличением параметра π_c происходит изменение совместного ритма нейронов, проявляющееся в периодическом выпадении одного из потенциалов действия в последовательности нейронных импульсов. Таким образом, в рассматриваемой системе двух взаимодействующих нейронов возникает множество синхронных режимов, которые можно интерпретировать как своего рода частотный код, зависящий от величины синаптической связи между нейронами.

1. Борисюк Г.Н., Борисюк Р.М., Казанович Я.Б., Иваницкий Г.Р. Модели динамики нейронной активности при обработке информации мозгом – итоги «десятилетия» // УФН, 2002, т. 172, № 10, с. 1189-1214.

ПЛАВЛЕНИЕ ДВОЙНОЙ СПИРАЛИ ДНК С УЧАСТКОМ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ С ПАРАМИ, ОПОСРЕДОВАННЫМИ ИОНАМИ СЕРЕБРА Melting of DNA Duplex with Silver-mediated DNAs Fragment

Гусарова Е.Б., Ковалева Н.А.

Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, г. Москва, РФ,
natykov@gmail.com

Двойная спираль ДНК является универсальным строительным блоком, используемым в нанотехнологии ДНК. Одна из возможных модификации представляет собой замену Уотсон-Криковских пар на не канонические пары нуклеотидных оснований, опосредованные ионами металла: М-ДНК. Такие системы вызывают неизменный интерес в связи их потенциальной возможностью использования в качестве высокочувствительного и специфичного датчика металла, биосенсора.

В пионерской работе Оно и Мияке [1] сообщалось о двух подобных структурах: цитозин-Аг-цитозин и тимин-Нг-тимин, которые до сих пор являются основными изучаемыми структурами М-ДНК. Исследуемые пары оснований могут быть использованы в ДНК-нанотехнологиях или ДНК-оригами, благодаря высокой специфичности связывания. Для тимин-Нг-тимин было обнаружено, что такая модификация ДНК дает более высокую температуру плавления, чем каноническая пара оснований АТ [1], и ее структура, полученная из ЯМР, в настоящее время считается хорошо изученной.

Однако для цитозин-Аг-цитозин все еще остается ряд вопросов относительно его структуры. Ранее уже доказана высокая химическая и термическая стабильность таких пар. Ряд работ по классической молекулярной динамике и квантовомеханических расчетов дали ответы на искажение спиральных параметров и возможных формах водородных связей в парах цитозин-Аг-цитозин [2,3]. Классическое моделирование в частотности показало, что только параллельная двойная спираль стабильна. По сравнению с В-ДНК формой спираль, опосредованная металлом, имеет несколько меньшее расстояние между парами оснований в доль оси двойной спирали и меньшее количество пар оснований на виток. Указывается на предположительные связи иона серебра с атомами цитозина: N3–Аг–N3, N3–Аг–O2 или связь N3–Аг–N3.

В ряде экспериментальных работ по исследованию влияния числа ионов серебра на образование дуплексов и их стабильность публикуются данные о зависимости температуры плавления от числа ионов серебра. Хотя данных по температура плавления М-ДНК не так много, однако были предприняты попытки описать плавление на мезоскопическом уровне [4]. Основной проблемой для параметризации мезоскопических моделей является относительно небольшое количество экспериментальных данных по температуре плавления. Неясно, будет ли мезоскопическая модель эффективна для такого ограниченного набора данных.

В данном исследовании проведено моделирование олигонуклеотида М-ДНК с фланкирующими участками ДНК с Уотсон-Криковскими парами. Получены кривые температуры плавления в зависимости от длины М-ДНК и числа ионов серебра.

Исследования температуры плавления М-ДНК улучшит наше понимание противоречивых результатов, связанных с опосредованной парой оснований связи цитозин-Аг-цитозин.

1. Okamoto I., Iwamoto K., Watanabe Y. et al. Metal-ion selectivity of chemically modified uracil pairs in DNA duplexes // *Angewandte Chemie International Edition*, 2009, vol. 48, no. 9, pp. 1648-1651, doi: 10.1002/anie.200804952.

2. Chen X., Karpenko A., Lopez-Acevedo O. Silver-mediated double helix: structural parameters for a robust DNA building block // *ACS omega*, 2017, vol. 2, no. 10, pp. 7343-7348, doi: 10.1021/acsomega.7b01089.

3. Chen X., Boero M., Lopez-Acevedo O. Atomic structure and origin of chirality of DNA-stabilized silver clusters // *Physical Review Materials*, 2020, vol. 4, no. 6, p. 065601, doi: 10.1103/PhysRevMaterials.4.065601.

4. Silva L.G., Weber G. Mesoscopic model confirms strong base pair metal mediated bonding for T–Hg²⁺–T and weaker for C–Ag⁺–C // *Chemical Physics Letters*, 2022, vol. 803, p. 139847, doi: 10.1016/j.cplett.2022.139847.

ГМО: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ И ПРОБЛЕМЫ БЕЗОПАСНОСТИ

GMO: Experimental Evolution and Safety Issues

Дегерменджи А.Г.¹, Брильков А.В.²

¹ Институт биофизики ФИЦ СО РАН, г. Красноярск, РФ, ibp@ibp.ru

² Сибирский федеральный университет, г. Красноярск, РФ, abrilkov@sfu-kras.ru

Важнейшей задачей популяционной генетики и биотехнологии в настоящее время становится изучение возможностей выживания и распространения в природных экосистемах трансгенных организмов. Проблеме выживания и распространения трансгенных микроорганизмов в природных экосистемах в настоящее время уделяется особое внимание в связи с широким использованием их в процессах биоремедиации. Целью других интродукций является повышение урожайности сельскохозяйственных растений. Известно и широкое распространение резистентности природных микроорганизмов к новейшим антибиотикам через клинические изоляты, что представляет угрозу для здоровья людей.

В последнее время в прогнозировании выживания и распространения генетически модифицированных микроорганизмов в определенных экологических условиях удалось существенно продвинуться. Большую роль сыграло изучение трансгенных микроорганизмов, например, механизмов стабильности плазмид в клетках, популяционной «стоимости» поддержания клонированных на плазмидах гетерологичных генов, возможности передачи и эффективности экспрессии клонированных генов в других организмах. Разработанные математические модели позволяют связать развитие трансгенных микроорганизмов с параметрами среды, описывающими популяционную динамику плазмид в клетках бактерий. Так, например, важнейшая проблема распространения R-плазмид, определяющих антибиотикоустойчивость среди болезнетворных микроорганизмов, все еще не рассматривается в связи с экспрессией плазмидных генов резистентности.

Экспериментальная эволюция трансгенных микроорганизмов после их интродукции в окружающую среду при определенных ограничениях их роста, воздействии на них различных токсичных соединений, антибиотиков, лекарственных средств и т.д., в целом, приводит к следующему выводу. Нам не следует надеяться на прямое преодоление ведущей формы естественного отбора, поскольку микроорганизмы всегда сумеют приспособиться к изменениям условий среды и гарантией тому служит их высокая численность, интенсивность и лабильность обмена, малые длительности поколений.

МОЛЕКУЛЯРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ N¹H ТАУТОМЕРА ЦВИТТЕРИОНА КАРНОЗИНА МЕТОДОМ DFT

Molecular Modeling of N¹H Tautomer of Carnosine Zwitterion by DFT Method

Демухамедова С.Д., Ахвердиева Г.А.

Институт проблем физики, Бакинский государственный университет, г. Баку, Азербайджан, svetlanabest@mail.ru

Карнозин (β -alanyl-L-histidine) - известный дипептид, играющий важную функциональную роль в организме человека [1]. Он является природным антиоксидантом, обладающим свойствами, замедляющими процесс старения, снижает скорость укорочения теломер, защищает клетки от окислительного повреждения и уменьшает образование атеросклеротических бляшек, способен хелатировать токсичные металлы и нейтрализовывать опасные для здоровья человека молекулы путем химического связывания. Карнозин нетоксичен и способствует иммунологической защите человека от инфекций, вызываемых бактериями, грибами, паразитами и вирусами, включая коронавирус. Препараты на его основе применяют при лечении диабета, атеросклероза, хронической почечной недостаточности, болезни Альцгеймера и Паркинсона, при неврологических и онкологических заболеваниях.

На протяжении последних 15 лет мы изучали строение и свойства нейтрального карнозина и его комплексов с Zn, Cu и Co. Однако в природе карнозин чаще встречается в форме цвиттериона, тоже электронейтральной молекулы, но имеющей положительно и отрицательно заряженные функциональные группы NH₃⁺ и COO⁻. В нашей недавней работе [2] методом молекулярной механики были изучены конформационные профили, определены энергетические и геометрические параметры, характеризующие стабильные состояния N¹H и N³H таутомеров карнозина в цвиттерионной форме. Было показано, что фрагмент β -аланил более подвижен, чем остальная часть этой молекулы, поэтому он способен изгибать α -аминогруппу (H₃N⁺) в сторону C-концевой

карбоксильной группы (COO^-) или имидазольного кольца L-гистидина. Установлено, что наиболее устойчивые состояния данного дипептида характеризуются близким расположением в пространстве α -аминогруппы, C-концевой карбоксильной группы и имидазольного кольца L-гистидина. В этих конформациях наблюдается формирование внутримолекулярных водородных связей двух типов - между ближайшими атомами водорода и кислорода противоположно заряженных N- и C-концевых заряженных групп молекулы; между атомом водорода амидной группы основной цепи аминокислотного остатка L-His и атомами кислорода COO^- группы. Выявлены также солевые мостики между атомом азота α -аминогруппы и атомами кислорода депротонированной карбоксильной группы.

В представленной работе мы исследовали строение, энергетические характеристики и электронные свойства наиболее стабильной низкоэнергетической конформации N^1H таутомера карнозина в цвиттерионной форме. Все расчеты выполнены квантовохимическим методом теории функционала электронной плотности (DFT) на основе гибридного трехпараметрического функционала B3LYP в газовой и водной средах, а также в растворителе ДМСО. В качестве базисного набора использован расширенный базисный набор с учетом поляризационных и диффузных функций 6-31+G (d,p). Для расчета мы использовали пакет прикладных компьютерных программ Gaussian 09 и программу визуализатор GaussView 6.0.16. В работе получены результаты оптимизации исследованной молекулы – структурные параметры, значения электронной энергии, энергии НОМО и LUMO орбиталей и энергетический зазор между ними, значения дипольных моментов, величины парциальных зарядов на атомах. Физико-химические свойства изучались по вычисленным глобальным дескрипторам реакционной способности. Решение колебательной задачи данного таутомера показало отсутствие мнимых частот, что доказывает правильность проведенного расчета: предложенная модель находится в глобальном минимуме и соответствует стабильной структуре. Визуализированы карты молекулярного электростатического потенциала (MEP), позволяющие правильно определить места возможного связывания при дальнейшем комплексообразовании и граничные орбитали, по которым можно идентифицировать те области молекулярных орбиталей, где между ними произошли электронные переходы. Проведен анализ орбиталей естественных связей (NBO), позволивший определить внутримолекулярные взаимодействия при образовании водородных связей и перенос заряда. Проанализированы изменения различных параметров в зависимости от диэлектрической проницаемости среды. Оказалось, что влияние растворителя не играет существенной роли для данной структуры, так как были получены очень похожие результаты энергетических и геометрических параметров, а также электронных характеристик в водной среде и в растворителе ДМСО. Зато оптимизация геометрии данного таутомера цвиттериона карнозина привела к отщеплению атома водорода от концевой группы NH_3^+ и присоединению его к группе COO^- . Фактически газовая среда способствовала преобразованию цвиттерионной формы в нейтральную.

1. Boldyrev A.A., Aldini G., Derave W. Physiology and pathophysiology of carnosine // *Physiological Reviews*, 2013, vol. 93, no. 4, pp. 1803-1845, doi: 10.1152/physrev.00039.2012.

2. Akverdieva G.A., Alieva I.N., Gadjiyev Z.I., Demukhamedova S.D. Spatial structure of N^1H and N^3H tautomers of carnosine in zwitterion form // *AJP Fizika*, 2021, vol. XXVII, no. 2, section: En, pp. 29-37, http://physics.gov.az/index1_ru.html.

К ВОПРОСУ О СЕКВЕНИРОВАНИИ ГЕНОМОВ РЫБ СЕВАСТОПОЛЬСКОГО АКВАРИУМА

On the Sequencing of Fish Genomes from the Sevastopol Aquarium

Иванова С.Ю.¹, Царин С.А.², Сергеева А.В.¹, Ершов А.Б.², Кузнецов А.В.^{1,2}

¹ Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, sofiiv943@gmail.com

² Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь, РФ

³ Севастопольский морской Аквариум-музей г. Севастополь, РФ

Севастопольский морской Аквариум-музей [1] – один из старейших публичных аквариумов в Европе, является первым морским аквариумом Российской империи. Он был основан в 1897 г при Севастопольской биологической станции, которая является пятой в мире по времени её создания. Идея создания Аквариума принадлежит первому директору Севастопольской Биологической Станции академику А.О. Ковалевскому. За время существования Аквариума был накоплен большой опыт содержания разных морских животных в искусственных условиях. Сегодня «живая» часть музея расположена в четырёх залах с различной тематикой и насчитывает около трёх тысяч гидробионтов – обитателей океанических, морских и пресноводных водоёмов всего земного шара. Наиболее интересной и ценной выглядит экспозиция второго зала, где собрана самая большая в мире коллекция черноморских обитателей. В третьем зале представлена экспозиция «Пресноводные обитатели пяти континентов». Каждый континент подаётся отдельно, а каждый индивидуальный аквариум – это единственное в своём роде произведение искусства, отражающее дух местности, откуда привезены его обитатели. В четвёртом зале собрана коллекция рептилий. Пятый зал знакомит посетителей с океаническими обитателями тропической части Мирового океана.

Цель работы: поиск в Севастопольском Аквариуме экспонатов с известной последовательностью геномов и анализ качества их секвенирования.

Методология. После сбора таксономических данных, информация была введена в компьютер, упорядочена по залам в электронной таблице и сохранена в формате DOC-файла. Из реляционной базы данных NCBI [1] были извлечены сводки по геномным, нуклеотидным и белковым последовательностям, которые заносились в соответствующие поля массива. Актуальность записей в таблице соответствует 13 августа 2022 г. После того, как генетические данные были собраны, для каждого представителя создавали соответствующие гиперссылки на NCBI с целью получения дополнительной информации. В результате проведённой работы была сформирована таблица, где для каждого представителя рыб, расположенных в левой колонке в алфавитном порядке, приведены в строках записи, соответствующие краткой информации о качестве секвенирования, а также о числе отдельных нуклеотидных или белковых последовательностей.

Результаты. Всего на 13.08.2022 в созданном массиве данных содержалось 103 записи с общим числом нуклеотидных последовательностей 1591900. Обнаружено, что прочитаны геномы 22 видов (21%), из которых 3 вида (3%) принадлежат фауне Чёрного моря, 6 видов (6%) встречаются в Мировом океане, а 12 видов (12%) являются представителями тропических вод. Из табличных данных следует, что качество секвенирования сильно отличается у разных рыб и представлено в виде контигов, скаффолдов и отдельных хромосом. Лучшее всего прочитан геном угря обыкновенного (*Anguilla anguilla*), включающего 19 хромосом и митохондриальную ДНК, далее следует геном бычка кругляка (*Neogobius melanostomus*), представляющий единый скаффолд. Геном морской ласточки Монашка (*Chromis chromis*) представлен контигами. Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии необходимых в настоящее время геномных данных у большинства нектонных организмов Чёрного моря [2].

Закключение. В ходе работы в Севастопольском Аквариуме и последующего информационного анализа глобальных баз данных установлено, что рыбы Чёрного моря мало изучены в генетическом плане. Свидетельством тому является факт секвенирования всего лишь 3 видов (14%) гидробионтов. Напротив, среди представителей пресноводных тропических вод было найдено 12 видов рыб (37,5%). Рекомендуется проводить эксперименты на пресноводных аквариумных рыбах [3] зебрафиш (*Danio rerio*) и гуппи (*Poecilia reticulata*), которые используются во многих ведущих лабораториях мира. Выполненная работа является первой в ИнБИОМ и СевГУ и может служить прототипом создания специализированных генетических баз данных для идентификации организмов, структурной биологии и биотехнологии в региональных условиях.

Благодарность: первый автор искренне признателен своим коллегам, оказавшим помощь в выполнении работы, Сергеевой Е.В. и Фадеевой М.В. – студентам группы ф/б-19-1-о СевГУ.

1. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

2. Вершинин А. Жизнь Чёрного Моря. Москва: "МакЦентр", 2003; Второе издание - Москва, Краснодар: "Когорга", 2007.

3. Любарец Е.И., Хавронюк И.С., Скуратовская Е.Н., Кузнецов А.В. Изучение цветовых предпочтений и реакций *Danio rerio* на свет // VII Съезд биофизиков России: сб. науч. тр., 17-23.04.2023, г. Краснодар: в 2-х т. Краснодар: Кубан. гос. технол. ун-т., 2023, т. 1, с. 386-387.

АНАЛИЗ РЫБ С СЕКВЕНИРОВАННЫМИ ГЕНОМАМИ ИЗ КУНСТКАМЕРЫ ИНБИОМ Analysis of fish with sequenced genomes from the IBSS Kunstkammer

Иванова С.Ю.¹, Царин С.А.², Савицкий М.А.³, Суглобов А.С.³, Кузнецов А.В.^{1,2}

¹ Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, softiv943@gmail.com

² Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь, РФ

³ Центр дополнительного образования «Малая академия наук», г. Севастополь, РФ

Сохранение биоразнообразия стало актуальной темой в области охраны природы, т.к. загрязнение окружающей среды и глобальное изменение климата негативно сказываются на биоте. Необходимо проводить мониторинг состояния экосистем, защищать уязвимые виды и их места обитания, осуществлять контроль за человеческой деятельностью, проводить научные исследования и разрабатывать новые методы преумножения биоресурсов. В сохранении и изучении биоразнообразия важную роль играют биологические коллекции и банки данных, что делает их необходимыми для нашего понимания мира живой природы.

Цель нашей работы: поиск уникальных молекулярно-генетических данных в кунсткамере ИнБИОМ – хранилище коллекции гидробионтов ФИЦ ИнБИОМ им. А. О. Ковалевского РАН.

Методика. Применяли три стратегии: 1) случайный, 2) выборочный и 3) блочный поиск. При случайном поиске группа, состоящая из студентов, обрабатывала выбранные случайным образом экспонаты для выявления объектов с просеквенированным геномом. Выборочный поиск заключается в том, что обученные школьники старших классов, выполнявшие роль экспертов, выбирали на своё усмотрение понравившиеся им виды рыб, после чего проводили анализ под наблюдением руководителя. Идея блочного поиска в том, что сначала

выбирается индивидуальная миниколлекция, например, по результатам отдельной экспедиции, внутри которой осуществляется тотальный поиск и биоинформатический анализ как описано в [1].

Результаты. Случайный поиск оказался неудачным. В результате выборочного поиска среди 63 обработанных записей выявлено 23 «позитива» (36,5%). Среди позитивных образцов серебряный карась (*Carassius gibelio*), кумжа (*Salmo trutta*) и гренадеры – глубоководные рыбы представители семейства Долгохвостовые (Macrouridae): *Bathygadus melanobranchus*, *Coryphaenoides rupestris*, *Macrourus berglax*, *Malacocephalus occidentalis*, *Trachyrincus murrayi* и *Trachyrincus scabrus*. При поиске во вьетнамской коллекции № VN-01414 из дельты реки Меконг (50 образцов), была найдена рыба фугу *Tetraodon nigroviridis* с известным геномом.

Оказалось, что в геноме серебряного карася *C. gibelio* закодировано 10 гомологичных Piezo-белков, а в геноме кумжи *S. trutta* – 11 гомологов. Множественное выравнивание полипептидных цепей выявило близость гомологичных протеинов для каждого вида. Были исследованы родственные отношения между Piezo-белками найденных видов рыб и построены их деревья гомологии. Для белков XP_052416362.1 (*C. gibelio*) и XP_029611445.1 (*S. trutta*) сконструированы пространственные модели, имеющие типичную структуру отдельной субъединицы механочувствительного Piezo-протеина. Изучаемые рыбы имеют широкие ареалы обитания. Кумжа – это очень экологически пластичная рыба, проходная, озёрная и ручьевая формы которой легко переходят друг в друга. Серебряные караси способны размножаться гиногенезом. Караси живут в среднем 10-12 лет, кумжа – 18-20. Сравнение ареалов распространения и показатели активной экологической экспансии двух видов рыб коррелирует с обширным семейством гомологичных Piezo-белков в их геномах [2].

Из 6 видов гренадеров с известными геномами, у двух найдены белки опсины. У грубоголового гренадера *M. berglax*, обитающего на глубине 300-1200 м и обнаруживаемого также на глубинах 200-2000 м, среди 12 известных протеинов идентифицирован опсин 2В с идентификатором AJD38770.1 чувствительный к коротковолновому свету. У круглоногого гренадера *C. rupestris*, встречающегося на глубине 400-1200 м, а иногда и на 180-2200 м, обнаружено 15 опсино-подобных белков среди 38893 аннотированных протеинов (AAR24243.1, KAG7248677.1, KAG7253526.1, KAG7258285.1, KAG7262273.1, KAG7263089.1, KAG7265150.1, KAG7267378.1, KAG7268507.1, KAG7268509.1, KAG7268513.1, KAG7269731.1, KAG7275996.1, KAG7279188.1 и KAG7283919.1). Построено дерево опсинов *C. rupestris* и 3D-модели опсинов двух видов Macrouridae, такие как AJD38770_1 (*M. berglax*) и KAG7275996.1 (*C. rupestris*), включающие по 7 трансмембранных α -спиралей. У видов *M. berglax* и *C. rupestris*, начиная с 200 метров, совпадают ареал и глубины. У оставшихся видов рыб (*M. occidentalis*, *B. melanobranchus*, *T. scabrus* и *T. murrayi*) опсины не обнаружены, что объясняется: а) некачественным аннотированием и/или б) исключительно глубоководным образом жизни. Схожие с коротковолновым опсином AJD38770.1 белки найдены у следующих представителей трескообразных рыб: *Merluccius polli*, *Muraenolepis orangiensis* и *Brosme brosme*, обитающих на глубинах 150-450 м. Ангольская мерлуза (*M. polli*) проживает на глубинах от 500 до 900 м и принадлежит к бентопелагическим рыбам, совершающим суточные вертикальные миграции, поднимаясь ночью в верхние слои воды. Патагонский паркетник (*M. orangiensis*) живёт на глубине от 140 до 600 м и считается морской бентопелагической рыбой, обитающей вблизи дна на континентальном шельфе. Менёк – морской налим (*B. brosme*), встречающийся на глубинах от 20 до 1000 м, но преимущественно между 150 и 450 м, является придонной рыбой, совершающей короткие сезонные миграции и изменяющей глубину местообитания. Всех этих рыб объединяет наличие у них опсинов, чувствительных к голубому свету, который способен проникать на глубину до 300 м [3].

Анализ генома рыбы фугу (*T. nigroviridis*) не выявил протеины, связывающие тетродотоксин и сакситоксин. Однако были обнаружены две формы Toll-протеинов, идентифицированных как UFR81798.1 TLR5S и UFR81797.1 TLR5M, причём первый представляет собой растворимую форму Toll-протеина, а второй – нерастворимую. Обе формы Toll-протеинов играют важную роль в иммунном ответе при бактериальной инфекции у этого вида рыб [4].

Заключение. Массивы геномных данных морских организмов имеют важное теоретическое и практическое значение для научных исследований, а также для управления рыбными запасами. Мы продемонстрировали такие возможности, работая в Кунсткамере ИнБЮМ. В частности, обнаружена уникальная рыба фугу *T. nigroviridis*, которая не ядовита и может использоваться в качестве лабораторной модели для изучения различных аспектов физиологии, биохимии и генетики.

1. Сергеева Е.В. и др. Опсины гребневика *Mnemiopsis leidyi* и сеть белок-белковых взаимодействий // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2022, том 7, No 2, с. 222-229.

2. Суглобов А.С. Анализ Piezo-белков серебряного карася (*Carassius gibelio*) и кумжи (*Salmo trutta*) из кунсткамеры ИнБЮМ // Лесная школа III "От сенсоров к актуаторам", 23.04.2023, СевГУ, г. Севастополь.

3. Савицкий М.А. Особенности сенсорных систем гренадеров – глубоководных рыб семейства долгохвостовые (Macrouridae) // Лесная школа III "От сенсоров к актуаторам", 23.04.2023, СевГУ, г. Севастополь.

4. Иванова С.Ю. Генетические массивы данных морских нектонных и планктонных организмов для идентификации, структурной биологии и биотехнологии // Лесная школа III "От сенсоров к актуаторам", 23.04.2023, СевГУ, г. Севастополь.

МОЛЕКУЛЯРНО-ДИНАМИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОТОННЫХ ПОЛУКАНАЛОВ АТФ-СИНТАЗЫ В РАЗЛИЧНЫХ ТИПАХ МЕМБРАН

Molecular Dynamics Simulation of ATP Synthase Proton Half-channels in Different Membranes

Ивонцин Л.А.¹, Машковцева Е.В.^{1,2}, Нарциссов Я.Р.^{1,3}

¹ НИИ цитохимии и молекулярной фармакологии, г. Москва, РФ, ivontsin@icmph.ru

² Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, г. Москва, РФ, elenamash@gmail.com

³ Группа биомедицинских исследований, БиДиФарма ГмбХ, Зик, Германия, yn_brg@icmph.org

Для нормального функционирования живых организмов необходимо постоянное восполнение молекул аденозинтрифосфата (АТФ), основного источника энергии для многих физиологических процессов. В клетках синтез АТФ осуществляется в основном белковым комплексом F₀F₁-АТФ-синтазой – уникальным преобразователем энергии, использующим электрохимический градиент ионов водорода. В отличие от множества белковых каналов, мембранная часть фермента представляет собой не полуо пору, а два несоосных полуканала со сложной траекторией движения протона [1]. Точные данные о расположении и структуре полуканалов все еще неизвестны, и экспериментальная оценка параметров протонного транспорта затруднена. Однако, молекулярно-динамическое (МД) моделирование позволит не только изучить структурные особенности полуканалов в реальных биологических условиях, но и проанализировать границы адаптивности функционирования АТФ-синтазы при нарушении характеристик биологических мембран.

Для анализа возможных областей протонного транспорта было проведено молекулярно-динамическое моделирование мембранной части F₀F₁-АТФ-синтазы из *E. Coli* [PDB ID: 6VWK] [2], встроенной в три типа мембран с различным липидным составом, в частности, разным уровнем содержания кардиолипинов (CL), которые играют существенную роль в процессах передачи энергии, поддерживая структуру и функциональную активность дыхательных комплексов. Были рассмотрены модельная мембрана, состоящая только из фосфатидилхолина (РОРС), *in vivo* мембрана, содержащая 25% CL, и липидный бислой с 75% CL, что соответствует условиям бактериального стресса.

Структура протонных полуканалов оказалась стабильной независимо от липидного состава мембраны. Однако, при моделировании в РОРС мембране наличие критических расстояний между существенными аминокислотами в сочетании с низкой гидратацией фермента указывает на высокий риск нестабильности протонного транспорта. Наличие CL очевидно увеличивало гидратацию полуканалов. Мы обнаружили формирование длинных цепочек из молекул воды, по которым протон мог достигать ключевого *cAsp61* напрямую из периплазмы. Происходящие при добавлении CL незначительные конформационные изменения в структуре полуканалов вызвали крайне редкие прямые переходы между *aGlu219-aAsp119*, *aGlu219-aHis245* и *aGln252-cAsp61*. В то же время более глубокое проникновение молекул воды (W1-W3) способствовало обеспечению непрерывности цепи переноса протона. Также во всех типах мембран были обнаружены стабильные пространственные положения (SP1-SP3) радикала существенной аминокислоты *aAsn214*. Установлено, что *aAsn214* работает подобно ключу в электрической цепи, в состоянии SP1 замыкая цепь переноса протона на *aHis245*, а в положении SP3 на *cAsp61* [3]. Независимость динамики радикалов полярных аминокислот, расположенных внутри полуканалов, от условий моделирования указывает на преобладающее влияние локальных электростатических взаимодействий.

Таким образом, обнаруженные в работе структурные особенности полуканалов бактериальной АТФ-синтазы позволили описать возможную траекторию движения протонов в условиях близких к *in vivo*, а также оценить важность липидного состава мембраны при МД моделировании. Дальнейшие квантово-химические расчеты движения протона вдоль полученной траектории позволят оценить параметры протонного транспорта, которые сложно измерить экспериментальными методами.

1. Walker J.E. The ATP synthase: the understood, the uncertain and the unknown // Biochemical Society Transactions, 2013, vol. 41, pp. 1-16, doi: 10.1042/BST20110773.

2. Sobti M. et al. Cryo-EM structures provide insight into how E. coli F1Fo ATP synthase accommodates symmetry mismatch // Nature Communications, 2020, vol. 11, p. 2615, doi: 10.1038/s41467-020-16387-2.

3. Ivontsin L.A., Mashkovtseva E.V., Nartsissov Y.R. Insights on the proton translocation pathways in F₀F₁-ATP synthase using molecular dynamics simulations // Archives of Biochemistry and Biophysics, 2022, vol. 717, p. 109135, doi: 10.1016/j.abb.2022.109135.

СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ГЛИПРОЛИНОВОЙ ГЕКСАПЕПТИДНОЙ МОЛЕКУЛЫ Structural Organization of the Glyproline Hexapeptide Molecule

Исмаилова Л.И., Ахмедов Н.А.

Бакинский государственный университет, Институт физических проблем, г Баку, Азербайджан,
lara.ismailova.52@mail.ru

Биохимические процессы в живом организме осуществляются с помощью регуляторных пептидов. Глипролины – регуляторные пептиды, состоящие из остатков глицина и пролина. Они - источники фармацевтических препаратов, которые поставляет сам организм. Глипролины можно назвать резервом человеческого организма. Они влияют на работу иммунной и нервной систем, оказывают психотропное действие, регулируют систему свертывания крови [1]. Создание новых лекарственных препаратов на основе глипролинов является современным направлением фармакологии. Понять механизмы действия этих биомолекул можно, если решить задачу их структурно-функциональной организации. Целью данной работы является определение трехмерной структуры глипролиновой гексапептидной молекулы с аминокислотной последовательностью N-Phe-Gly-Gly-Phe-Gly-Pro-OH. Эта молекула обладает ярко выраженным противосвертывающим действием и проявляет защитное действие при тромбозах. Как видно, иногда в глипролины входят аминокислоты Phe, Arg, Val и Leu. Аминокислотная последовательность гексапептида, помимо Gly и Pro, включает два остатка Phe.

Метод теоретического конформационного анализа и программы, позволяющие получать графическое изображение пространственных структур молекулы дают возможность осуществить компьютерное моделирование глипролинового гексапептида. Метод теоретического конформационного анализа дает возможность рассчитывать трехмерную структуру пептидных молекул исходя из известной аминокислотной последовательности. Расчет выполнялся в рамках механической модели молекул с учётом невалентных, электростатических, торсионных взаимодействий и энергии водородных связей. Трехмерная структура молекулы находилась фрагментарно.

Определение пространственной структуры гексапептида мы начали с выяснения конформационных возможностей N-концевого трипептида Phe-Gly-Gly, затем тетрапептида Phe-Gly-Gly-Phe. Найдены низкоэнергетические конформации тетрапептида и дипептида Gly-Pro позволили оценить конформационные возможности всей гексапептидной молекулы. Важно отметить, что активной является не только сама гексапептидная молекула, но и ее фрагменты. Так N-концевой участок молекулы N-Phe-Gly-Gly-OH, включающий три аминокислоты, был исследован методами ИК и КД спектроскопии. Было найдено четыре структуры трипептида. Всего было рассчитано около 100 конформаций, все они были проминимизированы по энергии, оценены их геометрические и энергетические параметры. Расчет обнаружил наличие резкой энергетической дифференциации по формам основной цепи и шейпам. Следует отметить, что в энергию низкоэнергетических конформаций основной вклад вносят дипептидные и трипептидные взаимодействия. Основной энергетический вклад принадлежит невалентным взаимодействиям.

Структура N-концевого тетрапептидного участка молекулы N-Phe-Gly-Gly-Phe-OH была также изучена. Аминокислотная последовательность тетрапептидной молекулы включала в себя по две аминокислоты фенилаланина и глицина. Специфика боковых цепей аминокислот тетрапептида молекулы определила количество начальных приближений. Всего было рассчитано свыше 250 конформаций, принадлежащих 64 формам основной цепи, 8 возможным для этой молекулы шейпам. Расчет показал наличие резкой энергетической дифференциации конформаций. В энергетический интервал 0–4 ккал/моль попадают представители 24 форм основной цепи.

Низкоэнергетические конформации тетрапептида и C-концевого дипептида были учтены при расчете пространственной структуры всей гексапептидной молекулы Phe-Gly-Gly-Phe-Gly-Pro. Всего было составлено свыше 300 начальных приближений, которые затем были проминимизированы по энергии. Самой низкой энергией обладает конформация $V_{11}LP_{11}RB$ шейпа $fffef$ ($E_{отн} = 0,0$ ккал/моль). Более 5 ккал/моль проигрывают конформации полностью развернутого шейпа $eeee$ и шейпа $eeef$. Основной вклад в низкую энергию конформаций вносят невалентные взаимодействия. Далее были определены геометрические параметры низкоэнергетических конформаций – значения двугранных углов основной и боковых цепей аминокислотных остатков, входящих в гексапептидную молекулу. Найдены 9 низкоэнергетических конформаций для этого гексапептида, значения двугранных углов основной и боковых цепей, оценена энергия внутри- и межостаточных взаимодействий. Расчет показал, что низкоэнергетическими для гексапептида N-Phe-Gly-Gly-Phe-Gly-Pro-OH являются свернутые и полусвернутые формы основной цепи. Боковые цепи фенилаланинов в низкоэнергетических конформациях осуществляют эффективные взаимодействия и являются конформационно лабильными аминокислотами, они сближают участки основной цепи и боковые цепи аминокислот, входящих в гексапептидную молекулу.

1. Григорьева М.Е., Ляпина Л.А. Пептиды глипролинового ряда и их роль в регуляции сосудисто-тромбоцитарного и плазменного гемостаза. Успехи физиологических наук, 2020, том 51, №2, с. 27-36.

ВСТРЕЧАЕМОСТЬ ПЕТЛИ УОЛКЕРА И КОНФОРМАЦИОННО ИДЕНТИЧНЫХ ПЕТЕЛЬ В СТРУКТУРНЫХ ЭЛЕМЕНТАХ α/β -БЕЛКОВ

Occurrence of Walker Loop and Conformationally Identical Loops in Structural Elements of α/β -Proteins

Каргатов А.М.

Институт белка РАН, г. Пущино, Московская обл., РФ, kargatov@vega.protres.ru

Петля Уолкера (Walker motif A) – это важный структурный элемент АТФ- и ГТФ-связывающих белков, который принимает непосредственное участие в связывании фосфата. Она имеет последовательность, выражаемую формулой GxxxxGK(T/S), где G, K, T и S – глицин, лизин, треонин и серин, а x – любой аминокислотный остаток. При этом только половина последовательностей, укладываемых в эту формулу, образуют такую петлю. Петля Уолкера соединяет β -тяж и α -спираль, образуя $\beta\alpha$ -дугу в составе α/β -доменов, а её конформация может быть представлена как $\epsilon\beta\beta\alpha_L\gamma\alpha_L$, не считая двух последних остатков: лизин и треонин/серин входят в состав α -спирали (рис. 1).

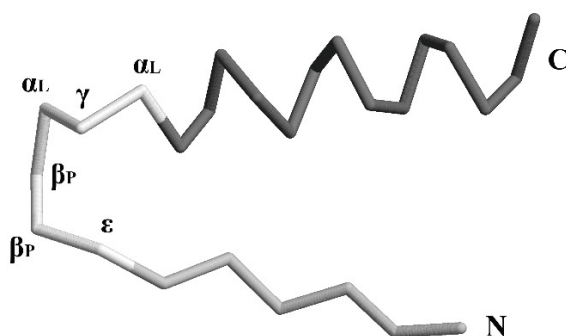


Рисунок 1. $\beta\alpha$ -дуга с петлёй Уолкера. Показаны конформации остатков петли, за исключением K и S/T

К основным структурным элементам α/β -белков относятся $\beta\alpha\beta$ -единица и П-модуль. $\beta\alpha\beta$ -единица состоит из двух параллельно упакованных β -тяжей, соединённых одной или несколькими α -спиралями. Различают правые и левые $\beta\alpha\beta$ -единицы (закрученные соответственно в правую и левую суперспираль), нерасщеплённые и расщеплённые одним, двумя и большим количеством дополнительных β -тяжей, встраивающихся между β -тяжами мотива. П-модуль представляет собой β -шпильку, расщеплённую одним β -тяжом, а расщеплённый П-модуль – двумя. В работе рассматривались только П-модули, содержащие в петле α -спираль (рис. 2).

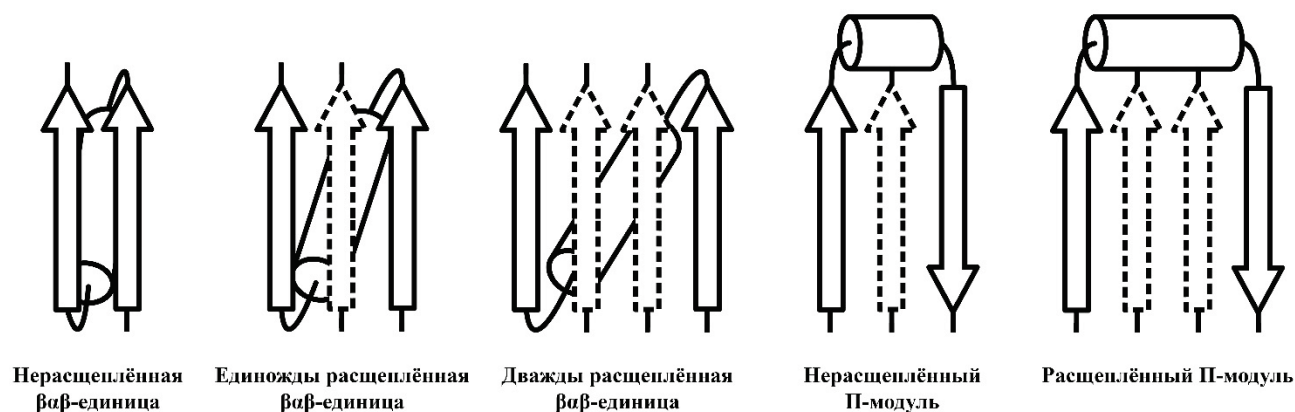


Рисунок 2. Виды правых $\beta\alpha\beta$ -единиц и П-модулей. Стрелками показаны β -тяжи, цилиндрами – α -спирали.

Использовалась база данных CATH v4.3.0 (<https://cathdb.info>), содержащая негомологичные белковые домены (идентичность не больше 20%). Из базы отбирались PDB-файлы с разрешением не ниже 2Å.

Было найдено 27 $\beta\alpha$ -дуг, в которых петли соответствовали как формуле, так и конформационным требованиям для петли Уолкера, и 10 $\beta\alpha$ -дуг, в которых соответствовала только конформация.

В первом случае они входили в состав 15 единожды расщеплённых и 6 дважды расщеплённых $\beta\alpha\beta$ -единиц, 5 нерасщеплённых и 1 расщеплённого П-модуля. Во втором – в состав 8 единожды расщеплённых $\beta\alpha\beta$ -единиц и 2 дважды расщеплённых.

В нерасщеплённых $\beta\alpha$ -единицах, несмотря на их количественное превосходство, такие петли найдены не были – ни по формуле, ни по конформации, что говорит о возможном влиянии петли Уолкера и конформационно идентичных петель на формирование расщеплённых структур.

АНАЛИЗ УСТОЙЧИВОСТИ В МОДЕЛИРОВАНИИ ЭВОЛЮЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ Stability Analysis in Simulation of Evolutionary Processes

Ковалёв А.И.¹, Пузановский К.В.²

¹ Самарский государственный университет им. акад. Королёва, г. Самара, РФ, *anatolykovalev22041870@gmail.com*

² Кубанский Государственный Университет, г. Краснодар, РФ, *puzanovsky.kv@yandex.ru*

На сегодняшний день известно множество явлений, возможных в результате процесса эволюции; идиоадаптация, ароморфоз, конвергентная эволюция и т.д. Благодаря труду палеонтологов и генетиков известно как у того или иного вида появились различные органы [1]. Повышенный интерес к генетике привёл к тому, что для многих видов известны цепочки филогенетических преобразований органов и их функций. Переходные же процессы образования новых видов изучены плохо, в связи с невозможностью; провести эксперимент с достаточной длительностью, достичь необходимой точности определения возраста окаменелостей по геохронологической шкале и т.д. В данной работе представлена математическая модель переходных процессов на основе принципов наследственности. Пусть α – среднее количество потомков у одной особи, m_1 и m_2 – вероятность дожить до половой зрелости у особи, имеющей доминантный и рецессивный признак соответственно. При этом будем считать, что по рассматриваемому признаку не наблюдается кодоминирования. Тогда численность популяции выражается системой уравнений [2]:

$$\begin{cases} \frac{dn_1}{dt} = (\alpha m_1 - 1)n_1 \\ \frac{dn_2}{dt} = (\alpha m_2 - 1)n_2 \end{cases},$$

где n_1 и n_2 – численность популяции с доминантным и рецессивным геном. Но такая связь никак не выражает взаимодействие между особями, обладающими разными признаками. Введём тогда положительные коэффициенты β и λ , показывающие меру взаимодействия между особями с разными признаками

$$\begin{cases} \frac{dn_1}{dt} = (\alpha m_1 - 1)n_1 + \beta n_2 \\ \frac{dn_2}{dt} = (\alpha m_2 - 1)n_2 - \lambda n_1 \end{cases}.$$

Данная система уравнений имеет точное решение, но помимо решения, необходимо интерпретировать его. При практических экологических исследованиях сложно с высокой точностью определить все коэффициенты в уравнении. Тогда имеет смысл использовать матричный анализ с целью определения устойчивости системы к малым изменениям [2]. Или в результате многолетних исследований можно обнаружить закономерность в изменении проявления выбранного признака. И в случае периодических изменений в проявлении признака можно предположить, что рассматриваемый признак не будет иметь существенной роли в эволюции вида. Если предположить, что причиной эволюционных преобразований будет являться естественный отбор в условиях нехватки ресурсов, то в данной математической модели необходимо минимизировать функционал $F = n_1 + n_2$. Для этого применим к функционалу уравнение Эйлера-Лагранжа.

$$\frac{\partial F}{\partial n_i} - \frac{d}{dt} \frac{\partial F}{\partial \dot{n}_i} = 0.$$

Из этого выясним, что в условиях ограниченных ресурсов при $\lambda < \beta$ роста популяции не будет, при $\lambda > \beta$ будет наблюдаться рост, пропорциональный $e^{(\lambda-\beta)t}$. Если рассматриваемый признак имеет значимость для выживания особи, то постепенно коэффициенты λ и β будут выражать не столько взаимодействие особей для продолжения рода, сколько успех в конкурентной борьбе за выживание между особями с разными признаками, которая по закону Гаузе неизбежна [1].

1. Любич Ю.И. Основные понятия и теоремы эволюционной генетики свободных популяций // Успехи математических наук, 1971, т. 26, № 5 (161), с. 51-116.

2. Трубецков Д.И. Феномен математической модели Лотки-Вольтерры и сходных с ней // Известия высших учебных заведений. Прикладная нелинейная динамика, 2011, т. 19, № 2, с. 69-88.

ИЗУЧЕНИЕ МИКРОВАЯЗКОСТИ МЕМБРАНЫ В ОКРУЖЕНИИ ЗОНДА АКТИВИРОВАННОЙ КУМАРИНОМ С-334 ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ПОД ДЕЙСТВИЕМ КОМПЛЕКСА ЦИТОХРОМА С С КАРДИОЛИПИНОМ

Study of the Microviscosity of a Membrane Surrounded by a Probe Activated BY Coumarin C-334 Chemiluminescence under the Action of a Cytochrome C Complex with Cardiolipin

Левченко И.Н.¹, Владимиров Г.К.², Володяев И.В.³

¹ Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, г. Москва, РФ

² Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, г. Москва, РФ

³ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, РФ, irnlevchenko@yandex.ru

Применение физических активаторов способствует усилению интенсивности свечения на 2–3 порядка не влияя на проходящие химические процессы. Физический активатор флуоресцентный зонд С-334 перехватывает возбуждение у триплетно-возбужденных кетонов, образующихся при рекомбинации перекисных радикалов по механизму Рассела и является флуоресцентным зондом. При нахождении микровязкости мембраны в окружении зонда хемилюминесценция на 3–4 порядка выше, чем сами возбужденные кетоны.

Материалы и методы. Точность решения определяется наличием кардиолипина для стабилизации pH, тушением Fe²⁺ и присутствием кумарина С-334. Факторы, которые искажали значение микровязкости мембраны в окружении флуоресцентного зонда С-334: не достаточное добавление пероксида водорода, избыточное количество азота (II), метанола, денатурация белка, изменение конформации цитохрома С в комплексе цитохрома и кардиолипина. Проанализированы системы липопероксидазной и квази-липоксигеназной реакций.

Результаты. Комплекс цитохрома С и кардиолипина отличается от нативного цитохрома по свойствам: (1) обладает флуоресценцией тирозиновых и триптофановых остатков; (2) теряет поглощение в полосе Core (405–410 нм); (3) обладает ферментативной активностью и катализирует образование липидных радикалов в мембране в окружении флуоресцентного зонда С-334.

Заключение. (а) Зная коэффициент поляризации флуоресцентного зонда С-334, определена микровязкость мембраны в окружении зонда. (б) Ферментативная активность зависит не только от концентрации цитохрома С и кардиолипина, но и от соотношения, определяющего процент абсолютного количества денатурированной формы. (в) С-334 физический активатор хемилюминесценции окисляется цитохромом С с кардиолипином, при этом скорость этого окисления ограничивается лишь концентрацией самого цитохрома С, который тоже разрушается в составе комплекса цитохрома С с кардиолипином под действием пероксида водорода.

1. Владимиров Ю.А., Демин Е.М., Проскурнина Е.В., Осипов А.Н. Образование липо-пероксидных радикалов при окислении кардиолипина в комплексе с цитохромом С // Биологические мембраны, 2009, т. 26, № 6, с. 493-504.

2. Владимиров Г.К. Структура и пероксидазная функция комплекса цитохрома с с кардиолипином в водной среде и в неполярном окружении // Дисс. ... канд. биол. наук, Москва: Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 2018.

3. Владимиров Ю.А., Гутенев П.И., Кузнецов П.И. Математическое моделирование кинетики цепного окисления липидов биомембран в присутствии ионов Fe²⁺ // Биофизика, 1973, т. XVIII, № 6, с. 1024-1029.

4. Осипов А.Н., Степанов Г.О., Владимиров Ю.А и др. Регуляция пероксидазной активности цитохрома с с помощью оксида азота и лазерного излучения // Биохимия, 2006, т. 71, № 10, с. 1392-1398.

КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ СТРУКТУРЫ И ФИЗИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПЕПТИДНЫХ НАНОТРУБОК

Computer Simulation of the Structure and Physical Properties of Peptide Nanotubes

Леденева О.Р.¹, Белова Е.В.¹, Быстров В.С.²

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ

² Институт математических проблем биологии РАН – филиал ИПМ им. М.В. Келдыша РАН, г. Пущино, РФ, olyaledenyova2002@gmail.com

Одной из актуальных тем современной биофизики и биотехнологии является создание искусственных структур на основе аминокислот. Они могут быть использованы для доставки лекарств, создания различных молекулярных машин, сборки конструкций из нанопроводников или в качестве разнообразных сенсоров. Актуальными для изучения являются пьезо-, сегнето- и фотоэлектрические свойства дипептидных нанотрубок, исследование которых необходимо для применения данных структур в широком диапазоне областей.

На данный момент было проведено значительное количество экспериментов по исследованию свойств структур на основе дипептидов. Из них наиболее изученными являются дифенилаланиновые нанотрубки.

Например, известно, что фотоэлектрические свойства дифенилаланиновых нанотрубок могут применяться для обнаружения озоновых дыр [1,2]. Кроме фенилаланина существуют другие аминокислоты, проявляющие сегнетоэлектрические свойства с очень большими значениями спонтанной поляризации и диэлектрической проницаемости, и, следовательно, вызывающие наибольший практический интерес. Таковыми являются аминокислоты с разветвленной цепью, а именно изолейцин и лейцин [3-5].

Известно, что в зависимости от оптической конфигурации, две формы одной молекулы могут быть различны по проявлению биологической активности. Изучение дифенилаланиновых нанотрубок показало, что значение поляризации данных молекул связано с тем, какие в их составе аминокислоты (L- или D-) [6].

В связи с этим крайне важным представляется изучение физических свойств и формирования наноструктур различной хиральности из дипептидов фенилаланина, изолейцина и лейцина с помощью методов компьютерного моделирования.

В процессе работы были построены спиральные и кольцевые модели наноструктур на основе дипептидов фенилаланина, изолейцина и лейцина с учетом знака хиральности. Спиральные модели построены с использованием данных рентгеноструктурного анализа и базы данных CDCC. Для каждой из моделей проводились расчеты дипольных и полярных свойств, а также энергетических электронных уровней полуэмпирическими квантово-химическими методами AM1, PM3, RM1 программного обеспечения HyperChem.

Рассчитаны значения поляризованности ($\approx 0,15$ C/m²) в отсутствие электрического поля для спиральных структур, построенных на основе данных рентгеноструктурного анализа, что в три раза больше, чем для кольцевых структур ($\approx 0,05$ C/m²). Также было показано, что для кольцевых моделей характерны наибольшие значения энергий НОМО-LUMO щели ≈ 9 эВ при нулевом значении напряженности электрического поля, что определяет энергию фотовозбуждения электронов и ширину запрещенной зоны E_{g0} (в нулевом поле) $E_{g0} = E_{LUMO} - E_{HOMO}$ [7]. Эта энергия для спиральных модельных нанотрубок, построенных на основе данных рентгеноструктурного анализа, лежит в пределах $E_{g0} \approx 3,5$ эВ [7]. Эти данные важны для дальнейшего применения дипептидных нанотрубок.

В работе показано, что электронные и оптические свойства нанотрубок на основе изолейцина и лейцина соответствуют свойствам дифенилаланиновых нанотрубок. Созданные нами спиральные модели ближе к реальным структурам, чем кольцевые модели.

1. Bystrov V. Photoelectronic properties of diphenylalanine peptide nanotubes // Computational Condensed Matter, 2018, vol. 14, pp. 94-100, doi: 10.1016/j.cocom.2017.11.007.

2. Быстров В.С., Парамонова Е.В., Зеленковский П.С. и др. Фотоэлектронные свойства дифенилаланиновых пептидных нанотрубок // Доклады Международной конференции «Математическая биология и биоинформатика», Пушкино: ИМПБ РАН, 2022, т. 9, статья № e18, doi: 10.17537/icmbb22.24.

3. Leuchtag H.R. Voltage-Sensitive Ion Channels: Biophysics of Molecular Excitability. Dordrecht: Springer, 2008, 529 p.

4. Leuchtag H.R., Bystrov V.S. Theoretical models of conformational transitions and ion conduction in voltage-dependent ion channels: Bioferroelectricity and superionic conduction // Ferroelectrics, 1999, vol. 220 (3-4), pp. 157-204.

5. Bystrov V.S., Bdikin I.K., Budhendra Singh, Piezoelectric and ferroelectric properties of various amino acids and tubular dipeptide nanostructures: Molecular modelling // Nanomaterials Science & Engineering, 2020, no. 2 (1), pp. 11-24.

6. Bystrov V., Coutinho J., Zelenovskiy P. et al. Structures and properties of the self-assembling diphenylalanine peptide nanotubes containing water molecules: modeling and data analysis // Nanomaterials, 2020, vol. 10 (10), p. 1999, doi: 10.3390/nano10101999.

7. Bystrov V., Paramonova E., Zelenovskii P. et al. Photoelectronic Properties of Chiral Self-Assembled Diphenylalanine Nanotubes: A Computational Study // Symmetry, 2023, vol. 15 (2), p. 504, doi: 10.3390/sym15020504.

ТРАНСПОРТ ГЛИЦЕРИНА ЧЕРЕЗ МЕМБРАНУ СПЕРМАТОЗОИДА ЧЕЛОВЕКА ПРИ КРИОКОНСЕРВАЦИИ

Glycerol Transport across the Human Spermatozoon Membrane during Cryopreservation

Леонов И.И., Иванова А.А., Симоненко Е.Ю.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, *mr.il.leonov@mail.ru*

Эффективная заморозка и хранение сперматозоидов человека является крайне актуальной задачей для вспомогательных репродуктивных технологий. Несмотря на то, что методы заморозки постоянно совершенствуются, при замораживании в больших объемах клетки могут повреждаться: при криоконсервации сперматозоидов, потери клеток могут составлять 40–60% [1]. Для снижения негативного воздействия на клетки процесса криоконсервации используются специальные химические соединения – криопротекторы. По механизму действия различают проникающие внутрь клетки криопротекторы, наиболее часто используемыми являются ДМСО и глицерин, и непроникающие, такие как белки (альбумин) и дисахариды (сахароза, трегалоза). Для заморозки сперматозоидов зачастую используются водные растворы глицерина низких концентраций с присутствием непроникающих компонент [2,3]. Несмотря на то, что свойства водных растворов подробно

изучены, в литературных данных нет подробного исследования процесса проникновения глицерина в клетку при низких концентрациях, а все протоколы криоконсервации подобраны опытным путем на основе морфологической выживаемости клеток.

Именно поэтому целью данной работы является исследование механизма переноса глицерина через мембраны сперматозоидов при криоконсервации методом математического моделирования.

Построенная в ходе работы модель основана на уравнениях Кедем-Качальского, описывающих потоки воды и глицерина внутрь клетки [4]:

$$\frac{dV}{dt} = -L_p A R T [(Q_{ex} - Q_{in}) + \sigma(C_{ex} - C_{in})],$$

$$\frac{dN}{dt} = \bar{C}_{gly}(1 - \sigma) \frac{dV}{dt} + P_{gly} A (C_{ex} - C_{in}),$$

$$\bar{C}_{gly} = \frac{C_{ex} + C_{in}}{2}.$$

Здесь V – объем клетки; A – площадь поверхности сперматозоида; R – универсальная газовая постоянная; T – абсолютная температура; Q – концентрация непроникающих через мембрану солей; C – концентрация глицерина, индексы «ex» и «in» означают вне и внутри клетки соответственно; N – количество молей глицерина внутри клетки; L_p – гидравлическая проводимость; P_{gly} – коэффициент проницаемости глицерина; σ – коэффициент отражения.

На основе этих уравнений была построена модель проникновения глицерина через мембрану сперматозоида при инкубации клеток в криопротекторном растворе, применяемом в клиниках ЭКО, концентрация глицерина в котором составляет 12%об. Построение было выполнено при помощи интегрированной среды разработки Spyder на языке программирования Python.

С помощью созданной модели было показано, что при увеличении концентрации непроникающего криопротектора, в данном случае сахарозы, равновесный объем клетки уменьшается, причем существует такая концентрация сахарозы, при которой клетка возвращается к своему изначальному объему. С помощью модели было показано, что данная концентрация составляет 1,6 М. Было также оценено характерное время достижения клеткой состояния равновесия. Это время составляет 2 минуты, что значительно меньше времени инкубации по классическому протоколу криоконсервации (10 минут). Проведенные эксперименты, сравнивающие индексы подвижности клеток после цикла криоконсервации при временах инкубации 2 и 10 минут соответственно, не показали статистически значимых различий, что говорит о том, что время инкубации сперматозоидов в криопротекторной среде может быть сокращено до 2 минут. Однако, данный результат требует дальнейшего исследования.

Также известно, что глицерин проникает внутрь сперматозоида через трансмембранные белки – акваглицеропорины (для сперматозоидов человека основными являются акваглицеропорины (AQP) 3-го и 7-го типов). Оценка количества акваглицеропоринов для сперматозоидов человека представляет фундаментальный интерес и в дальнейшем может быть использована для построения более точных моделей. На основе построенной в данной работе модели было получено предполагаемое количество акваглицеропоринов 3-го и 7-го типов для сперматозоидов человека. Число AQP3 – 8265 штук, AQP7 – 6750 штук.

Таким образом, в данной работе была построена модель проникновения глицерина в сперматозоиды человека в зависимости от состава криопротекторной среды, в которой проводится инкубация клеток. Полученные результаты могут быть использованы для оптимизации процесса криоконсервации сперматозоидов человека.

1. Mortimer D., Björndahl L., Barratt C.L.R. et al. A practical guide to basic laboratory andrology. New York, NY: Cambridge University Press, 2022, doi: 10.1017/9781009181648.

2. Anger J.T., Gilbert B.R., Goldstein M. Cryopreservation of Sperm: Indications, Methods and Results // Journal of Urology, 2003, vol. 170, no. 4, pp. 1079-1084, doi: 10.1097/01.ju.0000084820.98430.b8.

3. Arutyunyan I.V., Kananykhina E.Yu., Elchaninov A.V., Fatkhudinov T.Kh. Influence of Sucrose on the Efficiency of Cryopreservation of Human Umbilical Cord-Derived Multipotent Stromal Cells with the Use of Various Penetrating Cryoprotectants // Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 2021, vol. 171, no. 1, pp. 150-155, doi: 10.1007/s10517-021-05187-3.

4. Kedem O., Katchalsky A. Thermodynamic Analysis of the Permeability of Biological Membranes to Non-Electrolytes // Biochimica et Biophysica Acta, 1958, vol. 27, pp. 229-246, doi: 10.1016/0006-3002(58)90330-5.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ДИНАМИКИ ГЕТЕРОГЕННОЙ ОПУХОЛИ. ВЛИЯНИЕ ОБЛУЧЕНИЯ ПРОТОНАМИ ОТДЕЛЬНО И В СОЧЕТАНИИ С ИНГИБИТОРОМ СИНТЕЗА ДНК – AraC Modeling of Heterogeneous Tumor Dynamics. The influence of Proton Irradiation only and in Combination with DNA Synthesis Inhibitor - AraC

Лесовая Е.А.^{1,2}, Садыкова О.Г.^{1,2}, Лобачевский П.Н.¹

¹ Объединенный институт ядерных исследований, г. Дубна Московской обл., РФ

² Государственный университет «Дубна», г. Дубна, Московской обл., РФ, sadykova@jinr.ru

Рассмотрена математическая модель, сочетающая две основные концепции теории роста опухоли: стохастический рост и присутствие субпопуляции опухолевых стволовых клеток. Модель представляет собой систему обыкновенных дифференциальных уравнений для субпопуляций опухолевых стволовых клеток и нестволовых опухолевых клеток с учетом различных типов переходов между ними [1]. Недавно экспериментально было установлено значительное торможение роста опухоли как после одиночного облучения протонами в дозе 10 Гр, так и после комбинированного действия AraC и облучения протонами, в отличие от контроля, при этом наиболее выраженный эффект отмечался при комбинированном воздействии [2]. Важно отметить, что в работе [2] обнаружено снижение доли опухолевых стволовых клеток в 3,1 раза после комбинированного воздействия по сравнению с одиночным облучением. Это делает сочетание протонного облучения с AraC перспективным методом в лечении злокачественных новообразований, так как такой тип воздействия подавляет также наиболее радиорезистентные стволовые опухолевые клетки.

Применение представленной в работе модели для интерпретации экспериментальных кривых роста опухоли после облучения протонами отдельно и в сочетании с ингибитором синтеза ДНК – AraC из [2] позволяет оценить ряд параметров системы.

1. Wang W., Quan Y., Fu Q. et al. Dynamics between Cancer Cell Subpopulations Reveals a Model Coordinating with Both Hierarchical and Stochastic Concepts // PLoS ONE, 2014, vol. 9, no. 1.

2. Zamulaeva I.A., Matchuk O.N., Selivanova E.I. et al. Radiobiological Effects of the Combined Action of 1-β-D-Arabinofuranosylcytosine and Proton Radiation on B16 Melanoma *in vivo* // Phys. Part. Nuclei Lett., 2023, vol. 20, pp. 63-75.

МОЛЕКУЛЯРНО-ДИНАМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ ЛИДЕРНОГО ПЕПТИДА SECМ НА РИБОСОМУ E. COLI Molecular Dynamics Study of SecM Leader Peptide action on E. coli ribosome

Макаров Г.И., Макарова Т.М.

Южно-Уральский государственный университет, г. Челябинск, РФ, makarovgi@susu.ru

Рибосомный туннель не только пропускает растущие пептиды, но и участвует в регуляции их биосинтеза. Одним из механизмов такой регуляции является использование лидерных пептидов, чьи коды предшествуют в мРНК кодам регулируемых белков. Лидерные пептиды могут при выполнении некоторых условий прочно связываться в рибосомном туннеле, что приводит к изменениям вторичной структуры мРНК, делающим возможным запуск трансляции регулируемого белка.

Лидерный пептид SecM регулирует трансляцию следующей за ним в мРНК белка SecA, одной из субъединиц бактериальной транслоказы Sec. В отличие от других лидерных пептидов, он, связываясь в рибосомном туннеле, останавливает свой биосинтез обратимо и без участия низкомолекулярных кофакторов. Генетические эксперименты установили, что С-концевой участок SecM содержит высококонсервативные остатки F₁₅₀XXXXWXXXXGIRAGP₁₆₆, критически необходимые для сохранения его функции. При этом попытки криоэлектронной реконструкции конформации SecM, связанного в РТ, не имели особенного успеха. Например, в структуре, предлагаемой работой [1], С-концевой участок SecM содержит две крайне энергетически невыгодных цис-пептидных связи, а в структуре [2] конформация SecM предполагает множественные стерические противоречия.

Мы смоделировали структуру комплекса SecM с рибосомой E. coli методами докинга и молекулярно-динамического моделирования, опираясь на криоэлектронные реконструкции. В предлагаемой нами структуре высококонсервативные остатки С-концевого участка SecM образуют высокостабильные водородные связи и стэкинг-взаимодействия с остатками 23S рРНК, слагающими рибосомный туннель. Более того, С-концевой участок SecM связывается в рибосомном туннеле таким образом, что 3'-конец пептидил-тРНК смещается вверх по оси туннеля, что приводит к разрыву контакта между карбонильным атомом атакуемого Gly165 и атакующей иминогруппой пролина, что соответствует останову пептидилтрансферазной реакции.

Смоделированная нами структура соответствует данным биохимических исследований, причём предлагаемый нами механизм останова пептидилтрансферазной реакции обратим. Если некая сила потянет SecM к выходу из туннеля, то он сместится вниз вдоль его оси вместе с 3'-концом пептидил-тРНК, восстанавливая контакт между субстратами пептидилтрансферазной реакции. В реальности биосинтез SecM восстанавливается тогда, когда транслоказа SecM связывает его N-концевой участок и тянет его. Таким образом, наша модель вполне описывает функционирование реального SecM.

Расчёты выполнялись на суперкомпьютере «Ломоносов-II» с помощью силового поля Amber14sb и пакета GROMACS 2019. Работа выполнена в рамках проекта РФФ №22–24–20030

1. Zhang J., Pan X., Yan K. et al. Mechanisms of ribosome stalling by SecM at multiple elongation steps // *eLife*, 2015, vol. 4, e09684, doi: 10.7554/eLife.09684.

2. Schulte L., Reitz J., Kudlinzki D. et al. Cryo-EM structure of the 50S ribosomal subunit at 2.58 angstroms with modeled GBC SecM peptide, 2020.

ИЗУЧЕНИЕ СЕТИ АЛЛОСТЕРИЧЕСКИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ В БАКТЕРИАЛЬНОЙ РИБОСОМЕ МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНО-ДИНАМИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

Investigation of Allosteric Networks in Bacterial Ribosome via MD Simulations

Макарова Т.М.

Южно-Уральский государственный университет, г. Челябинск, РФ, makarovatm@susu.ru

Согласно современным биофизическим представлениям, аллостерия является универсальным свойством биомолекул, названная также «второй тайной живого» после генетического кода. Она заключается в конформационной вариабельности биомолекул, в существовании для них нескольких состояний вблизи энергетического минимума, с одной стороны, и способности переключаться между этими состояниями под воздействием внешних факторов (лигандов, условий среды и др.). В то время как для белковых молекул разработаны многочисленные методы экспериментального и теоретического распознавания аллостерических сайтов (областей воздействия аллостерических эффекторов – лигандов, вызывающих стабильное переключение в одно из состояний в окрестности минимума) и аллостерических путей (последовательности остатков, передающих воздействие от аллостерического эффектора), что активно и успешно применяется для разработки новых лекарств [1], для нуклеиновых кислот такие методы находятся в зачаточном состоянии [2].

Более того, становится понятным, что такой крупный макромолекулярный комплекс, как рибосома, в основном состоящая из РНК, является аллостерической машиной. В частности, согласно современным экспериментальным данным, многие, если не большинство, рибосомных антибиотиков являются не какой-то «затычкой» в рибосомном механизме, а тонкими аллостерическими регуляторами той или иной функции. Особенно хорошо это видно на примере антибиотиков рибосомного туннеля (РТ), которые тонко и управляемо модулируют остановку пептидилтрансферазной реакции (ПТР), катализ которой является центральной функцией рибосомы [3].

Для изучения аллостерических механизмов лигандов, связывающихся в рибосомном туннеле, были получены траектории МД систем рибосомы со стоп-пептидом SecM, а также с пептидом ErmBL в присутствии антибиотика эритромицина и без него. Как оказалось, взаимосвязь РТ с пептидилтрансферазным центром (ПТЦ) охватывает области далеко за пределами этих сайтов. Аллостерические эффекторы в РТ вызывают структурные изменения в спиральях рРНК, связывающих тРНК и образующих межсубъединичные мосты. Особенно важной в этой структуре оказывается вершина H38, именуемая A-site finger (ASF), чей контакт с локтем А-тРНК критически важен для образования стабильной предреакционной структуры в ПТЦ. Также важны контакты этой спирали с вершиной H84, опосредованно связывающей локоть Р-тРНК. Для прокладывания аллостерических путей между этими и другими функциональными центрами рибосомы наиболее эффективен оказался анализ корреляций скользящих встречаемостей в траекториях МД нековалентных взаимодействий как белков, так и РНК.

Расчёты выполнялись на суперкомпьютере «Ломоносов-II» с помощью силового поля Amber14sb и пакета GROMACS 2019. Работа выполнена в рамках проекта РФФ №22–24–20030

1. Protein Allostery in Drug Discovery. Editors: Jian Zhang, Ruth Nussinov, 2019, vol.1163, ISBN: 978-981-13-8718-0.

2. Peselis A., Serganov A. Cooperativity and Allostery in RNA Systems // *Methods Mol. Biol.*, 2021, vol. 2253, pp. 255-271, doi: 10.1007/978-1-0716-1154-8_15.

3. V´azquez-Laslop N., Ramu H., Mankin A. Nascent peptide-mediated ribosome stalling promoted by antibiotics // *Ribosomes: Structure, Function, and Dynamics*, 2011, vol. Section V, pp. 377-392.

КОМПЬЮТЕРНЫЕ ПРОГРАММЫ ОЦЕНКИ СЛОЖНОСТИ ТЕКСТА ДНК ДЛЯ АНАЛИЗА СТРУКТУРЫ ГЕНОМОВ МИКРООРГАНИЗМОВ

Computational Tools for the DNA Text Complexity Estimates for Microbial Genomes Structure Analysis

Митина А.В.¹, Орлова Н.Г.², Дергилев А.И.³, Орлов Ю.Л.^{1,3}

¹ Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), г. Москва, РФ, orlov@d-health.institute

² Финансовый университет при Правительстве РФ, г. Москва, РФ

³ Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск, РФ

Одной из важнейших задач биоинформатики - исследование сложности символьных последовательностей (ДНК, белков и полных генов), поиск статистически неоднородных участков последовательностей. Для изучения сложности генетических текстов применяют алгоритмы сжатия данных, анализ частоты повторов определенных участков в последовательности, таких как тандемные повторы, которые могут быть связаны с функциональными элементами генома [2]. Энтропия Шеннона может быть применена для последовательности олигонуклеотидов.

Цель работы – исследовать существующие и разработать новые методы оценки сложности и визуализации генетических текстов, которые помогут улучшить их понимание и анализ. Выполнена разработка программного кода для методов оценки сложности генетических текстов. Программа осуществляет расчет и визуализацию лингвистической сложности генетического текста, разработка велась в среде Jupiter Notebook на языке Python. Программа рассчитывает лингвистическую сложность для любой последовательности, состоящей из четырехбуквенного алфавита. Программный код доступен по ссылке <https://github.com/Alinabio/complexity.git>.

Оценки сложности генетического текста дали толчок развитию методов предсказания кодирующих участков ДНК, сайтов позиционирования нуклеосом, некодирующих РНК [2]. Использование оценок сложности улучшает предсказание регуляторных элементов генов [3].

Общий, наиболее фундаментальный подход к определению сложности символьных последовательностей (текстов) был предложен академиком А.Н. Колмогоровым в 1960-х. Число операций кодирования называется алгоритмической сложностью (сложностью по Колмогорову). Комбинаторная сложность позволяет находить участки повышенной сложности и простые участки, зачастую соответствующие коротким тандемным повторам. Операционной сложностью называют число операций, необходимых для сжатия текста алгоритмом Лемпеля-Зива. В основе данного алгоритма лежит последовательное сканирование текста и добавление каждой последовательности символов, которую алгоритм встречает впервые, в словарь. Если алгоритм находит последовательность символов, которая уже есть в словаре, то он заменяет эту последовательность на ссылку в соответствующую запись в словаре. Применительно к ДНК могут быть использованы операции инвертирования (учет комплементарных) участков, поиск повторов текста, без выравнивания. Программный комплекс Complexity (<http://wwwmgs.bionet.nsc.ru/mgs/programs/lzcomposer/>), разработанный в Институте цитологии и генетики СО РАН, позволяет определить сложность генетического текста по Лемпелю-Зиву [2].

В данной работе рассмотрено применение программы для анализа геномной последовательности коронавируса [1]. Используя разработанную программу для расчета лингвистической сложности, были найдены участки низкой сложности в геноме коронавируса, которые соответствуют участкам повторяющихся мононуклеотидов, и находящимся между кодируемыми белками. На вход программа принимала последовательность всего генома SARS-CoV-2, полученную из базы данных NCBI.

Проведен анализ последовательности вируса эндемического паротита, вызывающего одноименное заболевание. Расчет лингвистической сложности для *Mumps orthorubulavirus* был выполнен при шаге, равном 200, и длине окна, равной 50. Найден участок пониженной сложности в области 1625 нт. Данная позиция соответствует гену NP, который кодирует белок, участвующий в образовании нуклеокапсида. Тот факт, что участок низкой сложности был найден для гена NP, свидетельствует о том, что данный ген наиболее подвержен различного рода мутациям. Это объясняется тем, что некоторые противовирусные препараты направлены на нарушение сборки нуклеокапсида.

Мы обсуждаем ключевые компоненты разработанной программы, ее возможности и ограничения, а также примеры ее использования для последовательностей полных генов микроорганизмов.

1. Галиева А.Г., Лузин А.Н., Орлова Н.Г. и др. Биоинформационные подходы для анализа точек мутации генома коронавируса. В сборнике: Молекулярная диагностика и биобезопасность-2021. COVID-19: эпидемиология, диагностика, профилактика: сборник тезисов (28-29 апреля 2021 г., Москва) / под ред. академика РАН В.Г. Акимкина. – М.: ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, 2021, 144 с. (<https://mdb2021.ru/>) ISBN 978-5-6045286-2-4.

2. Orlov Y.L., Potapov V.N. Complexity: an internet resource for analysis of DNA sequence complexity // *Nucleic Acids Res.*, 2004, vol. 32 (Web Server issue): W628-33, doi: 10.1093/nar/gkh466.

3. Wu C., Chen J., Liu Y., Hu X. Improved Prediction of Regulatory Element Using Hybrid Abelian Complexity Features with DNA Sequences // *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, vol. 20, no. 7, p. 1704, doi: 10.3390/ijms20071704.

ИССЛЕДОВАНИЕ И МОДЕЛИРОВАНИЕ РЕАКЦИЙ ЛЕЙКОЦИТОВ В КРОВИ НА γ -ОБЛУЧЕНИЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КЛЕТОК ИММУННОЙ СЕТИ

Investigation and Modeling of Leukocyte Reactions in the Blood to γ -Irradiation Using Energy Parameters of Immune Network Cells

Морозова Г.И.¹, Муньос М.М.¹, Иванов А.В.², Кулинич Т.М.², Романов С.А.³

¹ Российский университет дружбы народов, г. Москва, РФ, gimorozova@mail.ru

² Российский научный центр рентгенорадиологии МЗ РФ, г. Москва, РФ

³ ООО «ONTEGRA», г. Москва, РФ

В настоящее время контроль за воздействием радиации на человека в ходе лучевой терапии, а также в условиях космического полета или в зонах расположения атомных реакторов, становится все более актуальным. Клеточные элементы в крови, как периферического звена иммунной сети, являются естественными датчиками, которые могут достаточно быстро сигнализировать изменением своей энергетики о характере и токсичности внешних воздействий на организм. Ранее в ряде работ показаны универсальные возможности флуоресцентного потенциал-чувствительного зонда ДСМ⁺[4-(*n*-диметиламиностирил)-1-метилпиридиния] для визуализации полихроматических микробиообразований живых клеток, регистрации и анализа их структурно-энергетического статуса [1-4]. С помощью разработанных флуоресцентных методик с ДСМ можно оценивать трансмембранные потенциалы (ТМП) и энергетическую активность митохондрий ($\Delta A_{\text{мх}}$) иммунных клеток непосредственно в цельной нативной крови при разных воздействиях *in vitro* и *in vivo* [2,4]. В свете этого целью данной работы является исследование влияния γ -излучения на $\Delta A_{\text{мх}}$ и ТМП лимфоцитов и нейтрофилов в цельной крови *in vitro*, а также построение математической модели для описания реакций разных популяций клеток иммунной сети на основе их структурно-энергетических показателей.

В работе проведена серия экспериментов по γ -облучению образцов периферической донорской крови (в пробирках с цитратом) радиоактивным элементом ⁶⁰Со с помощью гамма-терапевтической установки Рокус-М при разных дозах облучения: $D = NT = 1, 2, 3, 4$ Гр, где мощность облучения $N=112$ рентген/мин, T – время облучения. Контрольные и облученные образцы крови выдерживали в термостате при 37° С в течение двух часов, а затем инкубировали с ДСМ в течение 30 мин. при той же температуре. Витально окрашенные мазки крови исследовали под люминесцентным микроскопом и фотографировали в режимах согласно [2,4], полученные цифровые флуоресцентные изображения лейкоцитов в крови анализировали на компьютере с помощью стандартных и специальных программ. Построение гистограмм распределения нейтрофилов и лимфоцитов в крови по их ТМП проводили аналогично работе [4]. В ходе анализа результатов обнаружено, что характер реакций лимфоцитов в крови на γ - облучение в диапазоне доз 1Гр-5Гр зависит от исходного энергетического состояния клеток. Выявлен S-образный характер зависимости флуоресцентных эффектов в митохондриях ($\Delta A_{\text{мх}}$) лимфоцитов от дозы γ -облучения.

Рассмотрена математическая модель динамики T-зависимого иммунного ответа с учетом параметров облучения согласно [5]. Подобная Модель преобразована нами к новому виду на базе флуоресцентных энергетических переменных, где численность разных популяций клеток в уравнениях иммунной сети заменена на взаимозависимые энергетические показатели митохондрий в клетках соответствующих популяций. Полученная на базе общей Модели упрощенная система из пяти нелинейных дифференциальных уравнений на основе флуоресцентных энергетических переменных (F); моделирует ранние фазы взаимозависимых реакций нейтрофилов и 4-х субпопуляций лимфоцитов в крови на γ - облучение *in vitro*. Важно отметить, что такая Модель адекватна для описания ранней фазы иммунного ответа после воздействия облучения на организм (*in vivo*), а также перспективна в плане автоматизации контроля за подвижками в иммунной сети на базе регистрации количества и качества (энергетики) разных типов лейкоцитов в крови по флуоресценции ДСМ.

1. Добрецов Г.Е., Косников В.В., Морозова Г.И. и др. Измерение градиента концентрации флуоресцентного зонда-катиона ДСМ на цитоплазматической и митохондриальной мембранах // Биологические мембраны, 1986, т. 3, № 3, с. 266-273.

2. Морозова Г.И., Онищенко Н.А., Оржеховская И.Г. и др. Микрофлуорометрический метод идентификации и оценки физиологического состояния лимфоцитов и нейтрофилов в цельной нативной крови с помощью флуоресцентного зонда-катиона ДСМ // Гематология и трансфузиология, 1997, т. 42, № 3, с. 43-47.

3. Morozova G.I., Parkhomenko T.V., Klitsenko O.E., Tomson V.V. Stimulating Effect of Erythropoietin on Thymocyte Energetics Established in vitro with Potential sensitive Fluorescent Probe // Biochemistry Supplement Series A: Membrane and Cell Biology. Moscow, 2007, vol. 1, no. 4, pp. 325-330.

4. Акшинцев А.А., Морозова Г.И., Козлова М.А, Баренбойм Г.М. Адаптивное влияние экстракта термофильных водорослей на энергетику лейкоцитов в нативной донорской крови в присутствии цитостатика, выявляемое по флуоресценции зонда-катиона ДСМ // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2020, т. 5, № 3, с. 536-542.

5. Смирнова О.А. Радиация и организм млекопитающих: модельный подход. М.-Ижевск, 2006, 224 с.

**ВНУТРИВИДОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ В ПРЕДСТАВЛЕННОСТИ ДНК-ТРАНСПОЗОНОВ
НАДСЕМЕЙСТВА *pogo* У ТИХООКЕАНСКОЙ УСТРИЦЫ****Intraspecies Differences in the Representation of DNA Transposons of the *pogo* Superfamily
in the Pacific Oyster****Пузаков М.В., Пузакова Л.В., Улупова Ю.Н., Кохан А.С.**Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь, РФ, puzakov@ngs.ru

ДНК-транспозоны надсемейства *pogo* являются широко распространенной и разнообразной группой мобильных генетических элементов (МГЭ) эукариот [1]. МГЭ – фрагменты геномной ДНК – обладают способностью к перемещениям по геному. Индукцию перемещений могут вызывать как биотические, так и абиотические факторы. МГЭ являются важным источником генетической изменчивости, а также сами могут давать начало новым генам [2]. Количество МГЭ, их состав и динамика в геномах различных видов значительно отличаются. При этом вариации могут проявляться не только на межвидовом уровне, но и между особями одного и того же вида [3]. Однако исследованиям внутривидового разнообразия МГЭ уделено недостаточно внимания и поэтому масштабы этого явления не известны. Данные об эволюционной динамике МГЭ на внутривидовом уровне имеют большое значение для понимания влияния МГЭ на геномы, и, как следствие, на процессы адаптации, эволюцию и видообразование. ДНК-транспозоны имеют ген, кодирующий фермент транспозазу и концевые инвертированные повторы (КИП). В геноме тихоокеанской устрицы *Crassostrea gigas* было обнаружено десять ДНК-транспозонов надсемейства *pogo*. При этом один из них (*Mariner-30_CGi*) оценивался как потенциально-функциональный, то есть гипотетически способный к транспозициям [4].

Мы проанализировали представленность *pogo*-транспозонов в пяти разных сборках геномной ДНК устрицы. Последовательности сборок геномной ДНК были взяты в коллекциях NCBI. В каждой из пяти сборок с помощью BLAST мы искали гомологичные фрагменты. В качестве референсных последовательностей мы использовали последовательности *pogo*-транспозонов, описанные ранее [4].

Было установлено, что геномные сборки имеют различия по количеству фрагментов *pogo*-транспозонов и их протяженности. Также имелись различия в наличии КИП и их длине. В некоторых сборках не было выявлено гомологий, а в некоторых были выявлены последовательности *pogo*-транспозонов, у которых ген транспозазы не имел очевидных дефектов. Копии *pogo*-транспозонов с интактными генами и КИП являются потенциально-функциональными, и все еще могут сохранять транспозиционную активность.

Профили эволюционной динамики *pogo*-транспозонов также продемонстрировали различия как в поведении того или иного элемента в разных геномных сборках, так и между элементами внутри одной сборки. Данные по эволюции элементов коррелируют с данными по количеству копий. Однако на выявленные различия может влиять качество геномных сборок. Поскольку процесс секвенирования нуклеотидных последовательностей включает фактор случайности, а присутствие в геноме более одной копии МГЭ создает сложности при сборке коротких фрагментов, то на выходе даже независимые сборки генома одной и той же особи могут существенно отличаться. Этот фактор следует учитывать в ходе исследований.

Кроме того, был проведен филогенетический анализ, в результате которого была уточнена классификация *pogo*-транспозонов устрицы. Было установлено, что пять элементов принадлежат к *Fot*-подобным элементам группы А, четыре элемента относятся к семейству *pogoR* и еще один элемент к *Passer*-подобным элементам.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что эволюция каждого конкретного элемента в геноме каждой отдельной особи идет уникальным путем, что является следствием взаимодействия МГЭ с геномом хозяина. В процессе такого взаимодействия может произойти элиминация МГЭ из генома либо «молекулярное одомашнивание» генов МГЭ геномом хозяина.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда №23-26-00154, <https://rscf.ru/project/23-26-00154/>.

1. Gao B., Wang Y., Diaby M. et al. Evolution of *pogo*, a separate superfamily of *IS630-Tc1-mariner* transposons, revealing recurrent domestication events in vertebrates // *Mob DNA*, 2020, vol. 11, p. 25, doi: 10.1186/s13100-020-00220-0.
2. Bourque G., Burns K.H., Gehring M. et al. Ten things you should know about transposable elements // *Genome Biol.*, 2018, vol. 19, p. 199, doi: 10.1186/s13059-018-1577-z.
3. Fonseca P.M., Moura R.D., Wallau G.L., Loreto E.L.S. The mobilome of *Drosophila incompta*, a flower-breeding species: comparison of transposable element landscapes among generalist and specialist flies // *Chromosome Res.*, 2019, vol. 27, iss. 3, pp. 203-219, doi: 10.1007/s10577-019-09609-x.
4. Puzakov M.V., Puzakova L.V., Cheresiz S.V. An analysis of *IS630/Tc1/mariner* transposons in the genome of a Pacific oyster, *Crassostrea gigas* // *Journal of Molecular Evolution*, 2018, vol. 86, iss. 8, pp. 566-580, doi: 10.1007/s00239-018-9868-2.

ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРНО-ДИНАМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ИОННОЙ ЖИДКОСТИ И СМЕСИ ИОННОЙ ЖИДКОСТИ С ВОДОЙ МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ Research of the Structural Dynamic Properties of an Ionic Liquid and a Mixture of Ionic Liquid and Water by Molecular Dynamics

Сашина А.Н., Халиуллина А.В.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, РФ, *aleksa_s02@mail.ru*

Ионные жидкости (ИЖ) – это класс солей, которые при комнатной температуре являются жидкостями. Они привлекают внимание исследователей своими уникальными свойствами, такими как термическая и химическая стойкости, хорошая растворимость, высокая ионная проводимость и низкое давление пара. Особые свойства системы обусловлены взаимодействиями между ионами, которые включают в себя дальнедействующие кулоновские силы, силы Ван-дер-Ваальса, а также водородные связи. Целью данной работы было исследование структурных и динамических свойств ионной жидкости нитрата этиламмония (EAN) и смеси EAN с водой методом молекулярной динамики.

Метод молекулярной динамики является методом компьютерного моделирования, базирующимся на численном расчёте уравнений Ньютона. В работе для расчетов использовался программный пакет Gromacs и силовое поле OPLS-AA.

В нашем исследовании предварительно была создана одна ионная пара в вакууме. Далее мы поместили в наноразмерную ячейку 500 ионных пар. Получили систему с плотностью, соответствующей экспериментальным значениям. Анализируя функции радиального распределения, рассчитали расстояния между атомами кислорода аниона и азота катиона, а также между кислородом аниона и водородом катиона, что согласуется с литературными данными [1].

Для данной системы были проведены расчеты со временем эволюции 30 нс. Из функции зависимости среднеквадратичного отклонения от времени оценили коэффициенты самодиффузии для ионов. Они оказались разными для этиламмония и нитрата (рис. 1). Поскольку EAN является полярной системой, эти значения оказались на порядок меньше экспериментальных [2]. Заряды компонент ИЖ ослабляют параметризацию силового поля, поэтому для такой системы трудно обеспечить точное предсказание динамических свойств с помощью неполяризующихся силовых полей.

При добавлении воды в EAN (в соотношении EAN/H₂O – 35/65) наблюдалось равномерное распределение частиц в системе с образованием сети водородных связей между ионами этиламмония и нитрата с молекулами H₂O. При этом для системы EAN с водой коэффициенты самодиффузии компонент EAN (рис. 1) значительно увеличились. Такая же тенденция наблюдается в эксперименте [3]. Это можно объяснить тем, что гидратация ионов EAN ослабляет сильные кулоновские и водородные взаимодействия между катионами и анионами, что приводит к снижению вязкости. Анализ функции радиального распределения показал, что вода гидратирует полярную часть катиона [NH₃]⁺ предпочтительнее, чем анион [NO₃]⁻.

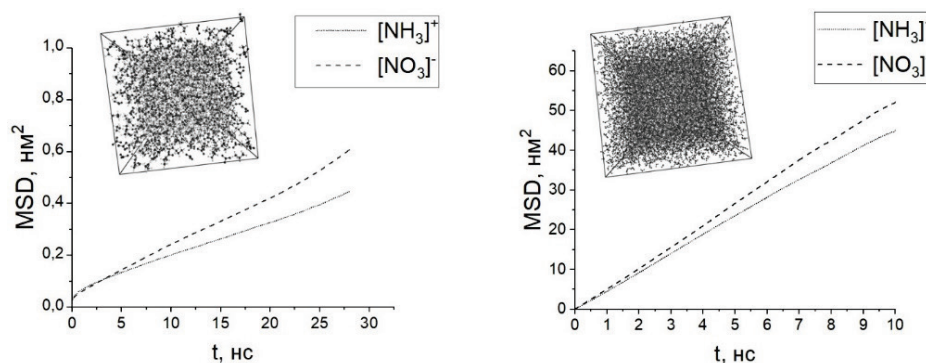


Рисунок 1. Зависимость среднеквадратичного смещения катионов и анионов от времени в EAN (слева) и в смеси EAN с водой (справа)

1. Gontrani L., Bodo E., Triolo A. et al. The Interpretation of Diffraction Patterns of Two Prototypical Protic Ionic Liquids: a Challenging Task for Classical Molecular Dynamics // J. of Physical Chemistry, 2012, vol. 116, pp. 13024-13032.

2. Filippov A.V. Self-Diffusion and Microstructure of Some Ionic Liquids in Bulk and in Confinement. Lulea University of Technology, Department of Civil, Environmental and Natural Resources Engineering, Chemical Engineering, 2016, chapter 3, p. 34

3. Хакимянова А.Р., Халиуллина А.В., Филиппов А.В. Исследование взаимодействия ионной жидкости с модельной биологической мембраной методом ЯМР // Сборник тезисов Всероссийской научно-практической конференции «Интеграция наук: междисциплинарность в медицине», Якутск, 2022, с. 177-179.

ГЕНЕРАЦИЯ ГИПЕРЗВУКОВЫХ ВОЛН ПРИ ОБЛУЧЕНИИ КРЕМНИЯ СВЕТОМ, ИХ РАСПРОСТРАНЕНИЕ И ВЛИЯНИЕ НА ЖИВЫЕ ОРГАНИЗМЫ: КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ И ЭКСПЕРИМЕНТ
Generation of Hypersonic Waves upon Irradiation of Silicon with Light, their Propagation and Influence on Living Organisms: Computer Simulation and Experiment

Степанов А.В.¹, Попов А.П.¹, Коваленко А.В.¹, Юманов Д.С.¹, Димитриева А.И.¹, Сергеева К.В.¹, Дементьев Д.А.¹, Никольская А.А.², Туловчиков В.С.², Тетельбаум Д.И.²

¹ Чувашский государственный аграрный университет, г. Чебоксары, РФ, *for.anton_step@mail.ru*

² Нижегородский государственный университет им. Н.М. Лобачевского, г. Нижний Новгород, РФ, *tetelbaum@phys.unn.ru*

Многочисленные исследования воздействия миллиметровых электромагнитных волн на живые организмы и ткани и их применения в медицине позволили сделать вывод об их важной функциональной роли [1]. При этом генерация и распространение таких электромагнитных волн сопровождается акустическими колебаниями и гиперзвуковыми волнами, которые являются главными действующими лицами вышеупомянутых эффектов [2,3]. Остаются без ответа вопросы, касающиеся механизма аномально большого радиуса действия облучения: световое облучение твердого тела, например, кремния, находящегося в контакте с системой, содержащей водный раствор NaCl (0,1–7%). При этом свойства другого образца изменяются даже если он находится на расстоянии нескольких сантиметров и более от облучаемого образца. Согласно предложенной модели, эффект обусловлен генерацией гиперзвуковых волн облученным образцом [4], а их распространение на большие расстояния связано с волноводными свойствами границы раздела раствор–твердое тело [5].

В данной работе представлено молекулярно-динамическое моделирование распространения гиперзвуковых волн в системах жидкость–твердое тело, таких как водные растворы NaCl и стекла (содержащие ионы Na); анализируется роль волноводных свойств кластеров $\text{Na}^+(\text{H}_2\text{O})_n$ -типа; обсуждается роль кластеров $\text{Na}^+(\text{H}_2\text{O})_n$ -типа в распространении гиперзвуковых волн. Взаимодействие между гиперзвуком и клеточными органеллами было исследовано численно и сопоставлено с биологическими экспериментами на культурах бактерий *E. Coli* штамма M17, в частности по влиянию указанного воздействия на их рост и размножение.

1. Бецкий О.В., Кислов В.В., Лебедев Н.Н. Миллиметровые волны и живые системы. М.: Сайнс-пресс, 2004. 272 с.

2. Тетельбаум Д.И., Курильчик Е.В., Менделева Ю.А. Эффект дальнего действия при малоинтенсивном облучении твердых тел // Поверхность. Рентгеновские, синхротронные и нейтронные исследования, 2009, т. 3, с. 94-103.

3. Тетельбаум Д.И., Туловчиков В.С., Менделева Ю.А. и др. Роль границы раздела водная среда–твердое тело в передаче возбуждения кремния светом // Журнал технической физики, 2019, т. 89, № 9, с. 1427-1433.

4. Левшунова В.Л., Похил Г.П., Тетельбаум Д.И. Автоколебания распределенных зарядов в естественном оксиде на поверхности кремния как источник возбуждения процессов, ответственных за эффект дальнего действия // Поверхность. Рентгеновские, синхротронные и нейтронные исследования, 2011, т. 3, с. 1-4.

5. Степанов А.В., Тетельбаум Д.И. Молекулярно-динамическое моделирование проникновения в кремний гиперзвуковых волн, генерируемых в естественном оксиде кремния при облучении // Поверхность. Рентгеновские, синхротронные и нейтронные исследования, 2017, т. 7, с. 82-88.

ПРИМЕНЕНИЕ КОМБИНИРОВАННЫХ МАРКЕРНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ДЛЯ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА КРЫМСКИХ МОЖЖЕВЕЛЬНИКОВ СЕКЦИИ *JUNIPERUS*

Application of Combined Marker Sequences for Phylogenetic Analysis of Crimean Junipers of the *Juniperus* Section

Сыровец А.А.¹, Лантушенко А.О.¹, Коренькова О.О.², Шевчук О.М.²

¹ Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, *n.sirovets@yandex.com*

² Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН, п.г.т. Никита, г. Ялта, РФ

Род *Juniperus* широко распространены по всему Северному полушарию, от юга до тропической Африки, по всей западной, центральной и южной Азии, от востока до восточного Тибета в Старом Свете и в горах Центральной Америки, также распространен в России и Крыму. На территории Крыма в естественных условиях произрастает 5 видов дикорастущих можжевельников и все они занесены в Красную книгу Республики. Для большинства популяций этих растений ранее были проведены филогенетические исследования, при этом

генетический скрининг дикорастущих можжевельников, произрастающих на территории Крыма, ранее не проводился.

В настоящее время большой популярностью пользуется метод филогенетического анализа, который позволяет сделать вывод о степени родства организмов и изучить закономерности эволюции живых существ. На основе данных секвенирования маркерных участков ДНК строится филогенетическое дерево, анализируя которое, можно сделать вывод о видовой принадлежности определенной особи. В данном исследовании были использованы три некодирующих участка генома: ядерный (nrDNA ITS) и хлоропластные (petN-psbM, trnS-trnG) [1].

В данной работе были исследованы 8 образцов краснокнижного вида *Juniperus deltooides*, произрастающих в разных локациях на территории Крыма (рис. 1). На основе полученных последовательностей было построено три филогенетических дерева, однако показатели достоверности оказались низкими. Чтобы решить эту задачу, на следующем этапе исследований филогенетическое дерево строилось на основе объединенных участков некодирующей хлоропластной ДНК при помощи разных методов. Результаты показали, что наибольшей достоверностью обладает анализ с использованием объединенных участков маркерных генов.

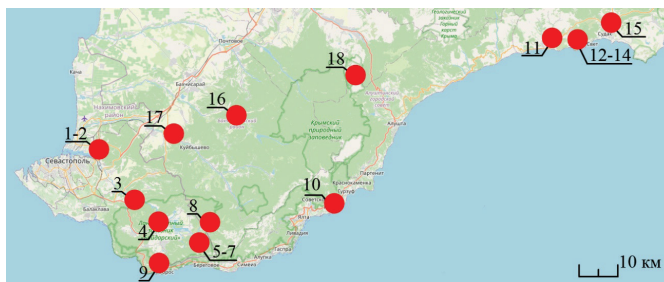


Рисунок 1. Схема расположения пробных площадей в популяциях *J. deltooides* в Горном Крыму (1-2 – окрестности г. Инкерман; 3 – г. Чирка-Каясы; 4 – г. Самналых; 5 – г. Толака-Баир; 6–8 – г. Кара-Даг; 9 – г. Дракон; 10 – м. Мартьян; 11 – г. Папая-Кая; 12–13 – г. Коба-Кая; 14 – г. Сокол; 15 – г. Каршитерс; 16 – ск. Кулюю-Кая; 17 – окрестности с. Кудрино; 18 – г. Чатыр-Даг)

1. Hojjati F., Kazempour-Osaloo S.H., Adams R.P., Assadi M. Molecular phylogeny of *Juniperus* in Iran with special reference to the *J. excelsa* complex, focusing on *J. seravschanica* // *Phytotaxa*, 2018, vol. 375, no. 2, pp. 135-157, doi: 10.11646/phytotaxa.375.2.1.

АНАЛИЗ ТРАНСКРИПЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ГЕНА ТРАНСПОЗАЗЫ *ITM*-ТРАНСПОЗОНОВ У МЕДУЗЫ *AURELIA AURITA* НА РАЗЛИЧНЫХ СТАДИЯХ ЖИЗНЕННОГО ЦИКЛА

Analysis of the Transcriptional Activity of the Transposase Gene of *ITm* Transposons in the Medusa *Aurelia aurita* at Different Stages of the Life Cycle

Улупова Ю.Н., Пузаков М.В.

Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь РФ, yuliya-shustrova@mail.ru

ДНК-транспозоны – мобильные генетические элементы (МГЭ) класса II – являются очень разнообразной группой МГЭ, кодируют фермент транспозазу и перемещаются с помощью механизма «вырезание-вставка» [1,2]. Перемещение ДНК-транспозонов осуществляется при помощи фермента транспозазы. ДНК-транспозоны играют большую роль в изменении структуры генома и экспрессии генов. Они могут внедряться в кодирующие последовательности, тем самым нарушать функции белка и вызывать мутации. Известно, что различные факторы окружающей среды (химические, физические, биологические) могут индуцировать транспозиционную активность ДНК-транспозонов, однако множество вопросов относительно МГЭ остаются открытыми. Среди них зависимость активности МГЭ от стадий жизненного цикла и типа тканей (органов). Косвенным свидетельством транспозиционной активности МГЭ может служить наличие транскрипционной активности генов, кодирующих ферменты, обеспечивающие биохимический механизм транспозиций. Одной из многочисленных групп ДНК-транспозонов являются *ITm*-элементы. На данный момент известно, что элементы группы *ITm* обнаружены у большинства организмов [3,4]. В геномах можно найти до несколько тысяч копий *ITm*-элементов. Эта группа включает такие надсемейства как *Tc1/mariner*, *pogo*, *L31*, *Gambol* и *Sailor*. Известно, что в геноме медузы *Aurelia aurita* присутствует 24 *ITm*-элементов.

Был проведен анализ уровня экспрессии гена транспозазы *ITm*-элементов медузы *A. aurita* на разных стадиях развития жизненного цикла (планула, полип, ранняя стробила, поздняя стробила, эфира, взрослая особь). Для анализа транскрипционной активности архивы транскриптомов (SRA), полученные в рамках проекта PRJNA252562, были взяты из базы NCBI. Анализ дифференциальной активности генов оценивали с помощью совместного использования программ Kallisto и Sleuth. Для анализа использовались референсные сборки

транскриптов (TSA): (GHAS00000000.1, GHAI00000000.1, GBRG00000000.1, GHAK00000000.1, GHAG00000000.1. Было выбрано 15 *ITm*-элементов *A. aurita*, из них 12 относились к надсемейству *Tc1/mariner* и 3 – к надсемейству *pogo*. Кроме того, в качестве контроля были включены гены *mdh1* (кодирует цитоплазматическую малатдегидрогеназу), *actb* (кодирует цитоскелетный белок бета-актин), *AqE* (кодирует сульфолататдегидрогеназа-подобный белок) и *GFT2E1* (кодирует субъединицу общего фактора транскрипции ПЕ).

При анализе транскрипционной активности гена транспозазы *ITm*-элементов медузы у трех элементов надсемейства *Tc1/mariner* экспрессии обнаружено не было. У девяти *Tc1/mariner*-элементов наблюдалась нестабильная экспрессия на низком уровне. У двух элементов группы *pogo* транспозиционная активность либо не наблюдалась, либо имела слабо выраженный характер. Однако у одного элемента, относящегося к группе *pogo* был выявлен высокий уровень транскрипционной активности.

Во всех образцах контрольные гены *mdh1*, *actb*, *AqE*, *GFT2E1* показали стабильную высокую активность, что может свидетельствовать о достоверности полученных данных.

Несмотря на то, что в пяти референсных сборках транскриптомов были обнаружены транскрипты, гомологичные гену транспозазы элементов *Tc1/mariner*, очевидной экспрессии выявлено не было. Также можно предположить, что зависимости от стадий развития жизненного цикла нет, и экспрессия гена транспозазы носит случайный характер. У единственного элемента группы *pogo* был установлен высокий уровень активности. На данный момент известно, что у элементов группы *pogo* часто наблюдались случаи «молекулярного одомашнивания», когда ген транспозазы в результате мутаций становится геном организма. Является ли ген данного *pogo*-транспозона одомашненным будет уточняться в дальнейшей работе.

1. Bourque G., Burns K.H., Gehring M. et al. Ten things you should know about transposable elements // *Genome biology*, 2018, vol. 19, no. 1, p. 199, doi: 10.1186/s13059-018-1577-z.

2. Kojima K.K. Structural and sequence diversity of eukaryotic transposable elements // *Genes Genet Syst.*, 2020, vol. 94, pp. 233-252, doi: 10.1266/ggs.18-00024.

3. Dupeyron M., Baril T., Bass C., Hayward A. Phylogenetic analysis of the *Tc1/mariner* superfamily reveals the unexplored diversity of *pogo*-like elements // *Mobile DNA*, 2020, vol. 11, p. 21, doi: 10.1186/s13100-020-00212-0.

4. Gao B., Wang Y., Diaby M. et al. Evolution of *pogo*, a separate superfamily of *IS630-Tc1-mariner* transposons, revealing recurrent domestication events in vertebrates // *Mobile DNA*, 2020, vol. 11, p. 25, doi: 10.1186/s13100-020-00220-0.

ОСОБЕННОСТИ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ОРГАНИЗАЦИИ МОЛЕКУЛ ИНУЛИНАЗ ПОСЛЕ ИХ ИММОБИЛИЗАЦИИ НА НОСИТЕЛЯХ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ И СВЯЗЫВАНИЯ С МОНО-, ДИ- И ПОЛИСАХАРИДАМИ

Features of the Spatial Organization of Inulinase Molecules after their Immobilization on Carriers of Different Nature and Binding with Mono-, Di-, and Polysaccharides

Холявка М.Г.^{1,2}, Богомолов Д.Ю.¹, Макин С.М.¹, Кондратьев М.С.^{1,3}, Артюхов В.Г.¹

¹ Воронежский государственный университет, г. Воронеж, РФ, holyavka@rambler.ru

² Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ

³ Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделение ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН», г. Пущино, РФ

Благодаря своей эффективности функционирования ферменты применяются в различных отраслях промышленности, научных исследованиях и медицине. По причине высокой востребованности необходимо совершенствовать методы регуляции их активности и разрабатывать новые биокатализаторы, обладающие рядом преимуществ для промышленного использования [1]. По сравнению с растворимыми формами энзимов иммобилизованные препараты имеют более высокую стабильность по сравнению со свободной формой фермента в условиях, отклоняющихся от оптимальных, а также предоставляют перспективу удаления биокатализатора из реакционной среды, что определяет возможности его повторного использования и остановки реакции в любой момент времени [2-4]. Подробное изучение пространственной структуры белковых молекул является ключом к пониманию особенностей их функционирования [5,6]. Эти данные являются основой для проектирования препаратов для биотехнологической промышленности, например, путем адсорбционной иммобилизации [7]. Целью настоящей работы был анализ особенностей пространственной организации молекул инулиназ после их иммобилизации на носителях различной природы и связывания с моно-, ди- и полисахаридами

Установлено наличие 6 внутренних полостей в составе пространственной структуры эндоинулиназы из *Aspergillus ficuum*, и 2 внутренних полостей для экзоинулиназы, источником которой является *Kluyveromyces marxianus*. Изучены изменения объема и количества внутренних полостей при связывании данных ферментов с различными типами носителей для иммобилизации, а также моно- (глюкоза, фруктоза), ди- (сахароза, манноза) и полисахаридами (инулин). Выявлен 1 туннель в составе пространственной структуры эндоинулиназы из *Aspergillus ficuum*. Для экзоинулиназы, источником которой является *Kluyveromyces marxianus*, обнаружено 13

туннелей, входящих в ее состав. Изучены изменения количества и длин туннелей при связывании инулиназ с различными носителями для иммобилизации, а также моно-, ди- и полисахаридами. Выявлено 5 пор в составе пространственной структуры экзоинулиназы из *Kluyveromyces marxianus*. Проанализированы изменения количества и длин данных структур при связывании фермента с различными носителями для иммобилизации, моно-, ди- и полисахаридами. Показано, что поры в составе эндоинулиназы из *Aspergillus ficuum* отсутствуют. Обнаружено 4 скопления заряженных и 8 скоплений гидрофобных аминокислотных остатков в пространственной структуре эндоинулиназы из *Aspergillus ficuum*. На поверхности пространственной структуры экзоинулиназы, источником которой является *Kluyveromyces marxianus*, найдено 6 скоплений заряженных и 8 скоплений гидрофобных аминокислотных остатков. Проанализированы изменения количества, состава и локализации данных скоплений при связывании инулиназ с различными носителями для иммобилизации, а также моно-, ди- и полисахаридами. Изученные в данной работе особенности связывания инулиназ с различными лигандами необходимо учитывать при разработке на их основе современных промышленных биокатализаторов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект № 21-74-20053

1. Kholiyavka M.G., Kayumov A.R., Baydamshina D.R. et al. Efficient fructose production from plant extracts by immobilized inulinases from *Kluyveromyces marxianus* and *Helianthus tuberosus* // International Journal of Biological Macromolecules, 2018, vol. 115, pp. 829-834.

3. Ковалева Т.А., Холявка М.Г., Таха А.С. Исследование иммобилизации инулиназы на ионогенных и неионогенных носителях // Сорбционные и хроматографические процессы, 2007, т. 7, № 5, с. 804-810.

4. Холявка М.Г., Наквасина М.А., Артюхов В.Г. Практикум по биотехнологии: иммобилизованные биологические объекты в системе лабораторных работ: учебное пособие, Воронеж, 2017.

5. Kholiyavka M.G., Artyukhov V.G., Kovaleva T.A. Structural and functional properties of inulinases: a review // Biocatalysis and Biotransformation, 2016, vol. 34, no. 1, pp. 1-17.

6. Артюхов В.Г., Ковалева Т.А., Холявка М.Г. и др. Исследование олигомерной структуры и некоторых физико-химических свойств инулиназы из *Kluyveromyces marxianus* Y-303 // Биофизика, 2009, т. 54, № 6, с. 1005-1011.

7. Ковалева Т.А., Холявка М.Г. Исследование структурных особенностей инулиназ из различных продуцентов методом ИК-спектрофотометрии // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии, 2011, № 1, с. 3-7.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ РАССТОЯНИЙ МЕЖДУ ГЕТЕРОЗИГОТНЫМИ САЙТАМИ ДЛЯ ЭФФЕКТИВНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДЕМОГРАФИЧЕСКОЙ ИСТОРИИ An Analytical Derivation of the Distribution of Distances between Heterozygous Sites to Efficiently Infer Demographic History

Шейнман М.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, MSheinman@sevsu.ru

Гетерозиготные сайты неравномерно распределены по полиплоидному геному. Их плотность изменяется в результате рекомбинации, а их локальная плотность на некоей геномной области отражает время до последнего общего предка сестринских хромосом в этой области. Распределение и, следовательно, плотность гетерозиготных участков несёт информацию об истории популяции. Несмотря на предпринятые усилия, формула для распределения расстояний между гетерозиготными сайтами до сих пор отсутствует. Как следствие, оценка изменчивости размера популяции на основе геномных данных затруднена и требует нескольких упрощающих предположений. Используя новый подход к проблеме, мы получили аналитическую формулу для распределения расстояний между гетерозиготными сайтами для произвольной демографической истории, включая т.н. бутылочные горлышки.

В случае постоянной численности популяции N распределение r расстояний между гетерозиготными сайтами следует простой функции $m(r) = \frac{2L\theta^2}{(1+\theta r)^3}$, где L – длина генома, а $\theta = 4N\mu$ – средняя плотность гетерозиготных сайтов в геноме (μ – скорость мутаций). Этот прогноз точно подтверждается при рассмотрении гетерозиготных участков у *homo sapiens* африканского происхождения (рис. 1А). Другие популяции мигрировали из Африки и претерпели по крайней мере одно бутылочное горлышко, которое оставило отчётливый след на их интервале распределения расстояний между гетерозиготными сайтами, т.е. чрезмерное представительство r между 10 и 100 kbp. Наша аналитическая теория для непостоянных размеров населения воспроизводит это поведение и может быть использована для изучения исторических изменений численности населения с высокой точностью (рис. 1В). Простота нашего подхода облегчает анализ демографической истории полиплоидных видов, требуя только распределение расстояний между гетерозиготными сайтами на нефазированном геноме одного представителя популяции.

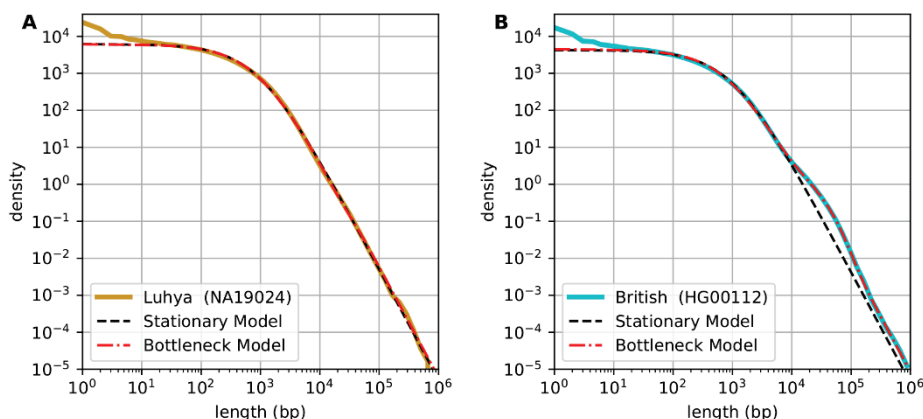


Рисунок 1. Распределение расстояний между гетерозиготными сайтами на геномах (А) африканского и (В) британского индивидуумов. Штриховая линия соответствует модели с постоянным размером популяции, а штрих-пунктирная линия (на В) модели популяции с одним бутылочным горлышком

1. Arndt P.F., Massip F., Sheinman M. An analytical derivation of the distribution of distances between heterozygous sites in diploid species to efficiently infer demographic history. *Submitted*.

УНИФИЦИРОВАННАЯ ВЫСОКОСТРУКТУРИРОВАННАЯ МОДЕЛЬ АНАЛИЗА И ИНТЕРПРЕТАЦИИ ОМИКСНЫХ ДАННЫХ

A Unified Highly Structured Model for the Analysis and Interpretation of Omics Data

Шлихт А.Г., Краморенко Н.В.

Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток, РФ, schliht@mail.ru

В докладе будут отражены современные проблемы анализа и интерпретации омиксных данных живых систем. Существующие популярные браузеры омиксных данных порталов NCBI, KEGG, Ensemble и др., как правило, функционируют в поисковом интерактивном режиме и не позволяют строить сложные логические цепочки геномных и биохимических процессов через запросы, а также моделировать данные и процессы, связанные с мутациями и заболеваниями. Рассматриваемая в докладе модель, построенная по технологии баз данных и знаний, глубоких экспертных систем, позволяет проследивать всю цепочку высокоструктурированных геномных и биохимических процессов: ДНК – хромосомы – гены – транскрипты – экзоны – интроны – РНК – омиксные последовательности – мутации – белки – ферменты – реакции – метаболические пути – заболевания – рационы, как в прямом, так и в обратном направлении. Созданная интеллектуальная система работает как в автоматическом, так и интерактивном режиме. Наличие системы объяснений позволяет проследить всю логику прохождения информации (в отличие от нейронных сетей представляющих «черный ящик»). В системе реализованы интерпретаторы нуклеотидных и аминокислотных последовательностей, позволяющие отыскивать фиксированные и произвольные мотивы (например, PROSITE), как в референсных, так и произвольных последовательностях с последующей функциональной интерпретацией. Предлагаемая модель эффективно моделирует омичи генома человека [1], растений [2], вирусов [3], служит для поиска биомаркеров [4].

Естественным продолжением модели стала система синтеза оптимальных рационов, учитывающая отклонения в генотипе (нутригеномика, нутригенетика), фенотипе, ферментах и связанных с ними заболеваниями (фенилкетонурия, целиакия, галактоземия и др.), создающая рационы для этих заболеваний, отвечающие многочисленным нормам и ограничениям [5].

1. Шлихт А.Г., Краморенко Н.В. Интегрированная биоинформационная система поддержки постгеномных исследований, мониторинга среды обитания и здоровья человека // Биоинформатика и молекулярное моделирование, сборник трудов I международной Интернет-конференции, Казань, 2012, с. 69-73.

2. Shlikht A., Kramorenko N. Unified automated information system for the formation of highly structured plant genomes and proteomes // The 5rd International Scientific Conf. "Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics, and Biotechnology (PlantGen2019)". Novosibirsk: ICG SB RAS, 2019, p. 186, doi: 10.18699/PlantGen2019-168.

3. Shlikht A., Kramorenko N. Genome-centered integrated instrumental information system modeling and interpretation of human and virus omics. // Bioinformatics of Genome Regulation and Structure/Systems Biology (BGRS/SB-2020), 2020, p. 114-115.

4. Naryzhny S., Volnitskiy A., Kopylov A. et al. Shtam. Proteome of Glioblastoma-Derived Exosomes as a Source of Biomarkers // Biomedicines, 2020, vol. 8, no. 216, doi: 10.3390/biomedicines 8070216.

5. Шлихт А.Г., Краморенко Н.В. Геном-центрированная интеллектуальная системно-кибернетическая структурированная модель в задачах оптимального синтеза рационов человека // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2020, т. 5, № 2, с. 301-305.

СЕКЦИЯ 3. МЕДИЦИНСКАЯ БИОФИЗИКА И БИОФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

ВЛИЯНИЕ ИОННЫХ ЖИДКОСТЕЙ НА РАСТВОРИМОСТЬ И РЕОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АССОЦИИРОВАННЫХ ПОЛИМЕРОВ Effects of Ionic Liquids on Solubility and Rheological Properties of Associated Polymers

Алопина Е.В.

Ивановский государственный химико-технологический университет, г. Иваново, РФ, *alopina@mail.ru*

Ассоциированные полимеры (АП) [1], содержащие и гидрофобную и гидрофильную части, как разновидность водорастворимых полимеров привлекают большое внимание благодаря уникальной растворимости. Агрегация гидрофобных групп приводит к внутримолекулярной и межмолекулярной ассоциации макромолекулярных цепей, что сильно отличает характеристики его раствора от обычного водорастворимого раствора полимера. Поэтому такой полимер играет важную роль в областях биомедицины, биомедицинской очистки сточных вод, добычи нефти и газа и т. д.

В химии полимеров альтернативой органическим растворителям стали ионные жидкости (ИЖ). Хонг и др. [2] сопоставили результаты полимеризации стирола и метилметакрилата (ММА) в $[C_4mim]PF_6$ с данными, полученными при изучении соответствующих реакций в бензоле. При прочих одинаковых условиях степень полимеризации, синтезированных в ИЖ, почти на порядок выше, чем в среде органического растворителя. Так же в ионной среде, скорость реакции полимеризации выше, чем в бензоле. Исследования показывают, что ионная жидкость улучшает растворимость и реологические свойства полимеров. Однако, на данный момент влияние ИЖ на растворимость и реологические свойства полимеров изучено мало. Поэтому особый интерес представляет исследование растворимости ассоциированных полимеров под воздействием ИЖ, что откроет больше возможностей для потенциального применения ИЖ.

В данной работе проведен анализ данных, связанных с применением ионных растворителей в синтезе ВМС, оценка влияния ионной природы растворителя на процессы формирования и свойства полимеров. При радикальной полимеризации смеси мономеров, содержащих акриловую кислоту, стирол и метилметакрилат в качестве растворителя использовали гексафторфосфат 1-бутил-3-метилимидазолия $[C_4mim][PF_6]$ и бромид 1-бутил-3-метилимидазолия $[C_4mim]Br$. Структура и морфология полученных композитов охарактеризованы с помощью ИК Фурье и 1H ЯМР спектроскопии. Экспериментальные результаты растворения полимерных растворов в тех же условиях показали, что полимер, содержащий ИЖ, обладает лучшей растворимостью и реологическими свойствами.

1. Xie K., Lu X., Li Q. et al. Analysis of Reservoir Applicability of Hydrophobically Associating Polymer // SPE J., 2016, vol. 21, no. 01, pp. 1-9.

2. Hong K., Zhang H., Mays J.W. et al. Conventional free radical polymerization in room temperature ionic liquids: a green approach to commodity polymers with practical advantages // Chem. Commun., 2002, vol. 13, pp. 1368-1369.

КОМБИНАЦИЯ МЕТОДОВ ФРИДМАНА И СПИРМЕНА ДЛЯ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ПАРАЛЛЕЛЬНО ПОЛУЧЕННЫХ ИК СПЕКТРОВ A Combination of the Friedman and Spearman Methods for Quality Evaluation of the Parallel IR Spectra

Бельская Л.В., Соломатин Д.В.

Омский государственный педагогический университет, г. Омск, РФ, *belskaya@omgpu.ru*

Инфракрасная (ИК) спектроскопия слюны является одним из перспективных методов выявления потенциальных маркеров онкологических заболеваний [1]. Несмотря на достаточно широкое распространение до настоящего времени остается много вопросов относительно методик пробоподготовки и получения спектров, а также корректной обработки полученных ИК спектров поглощения [2]. Воспроизводимость результатов также является важным фактором в получении и правильной интерпретации результатов [3]. Целью данной работы являлась апробация комбинации известных методов проверки статистически достоверных различий параллельно полученных ИК спектров слюны.

Материалы и методы. Образцы слюны объемом 50 мкл высушивали на подложке из селенида цинка в термостате при 37°C. ИК-спектры поглощения регистрировали на ИК-Фурье-спектрометре «ФТ-801» (СИМЕКС)

в диапазоне 500-4000 cm^{-1} . Для каждого образца ($n=53$) проводили 3 параллельных измерения, сходства/различия ИК спектров оценивали по 21 предварительно отобранной полосе поглощения (613-615, 860, 925-935, 955-960, 1075, 1121, 1160-1165, 1240, 1300, 1393, 1452, 1547, 1655, 1740, 2059, 2850, 2875, 2934, 2961-2963, 3065, 3283-3285 cm^{-1}) [1]. Статистический анализ полученных данных дублировался при помощи программы TIBCO Statistica 14.1 непараметрической статистикой дисперсионного анализа Фридмана, с заменой согласования Кендалла на R Спирмена, так как последний метод позволяет оценить непараметрическую корреляцию между двумя отдельно взятыми переменными. В качестве основного вычислительного средства использованы функции `friedman.test()` и `cor.test(x,y,method = "spearman")` программного пакета R версии 4.3.1 (2023-06-16).

Результаты. Предварительный тест Фридмана ANOVA по рангам предполагает, что рассматриваемые переменные (уровни пропускной способности в ИР-спектре) были измерены, по крайней мере, по порядковой (ранговой) шкале. Нулевая гипотеза состояла в том, что разные столбцы данных (то есть переменные STATISTICA) содержат выборки, взятые из одной и той же совокупности или, в частности, совокупностей с одинаковыми медианами. Установлено, что 9% от числа начальных образцов, удовлетворяющих нулевой гипотезе, имеют $p < 0,01$, а 36% соответственно $p < 0,1$. В результате дальнейшего парного сравнения параллелей отмечено, что при равных средних по Фридману попарно вычисленный для всех параллелей коэффициент ранговой корреляции Спирмена оказался превышающим 0,95 только для 4% снятых образцов. В целом, комбинация методов Фридмана и Спирмена представляет собой надежный инструмент, позволяющий автоматизировать обнаружение устойчивости считываемых параметров параллелей с рабочим контролем параметров измерений.

Таким образом, для десятой части полученных данных (9%) наблюдаются существенные расхождения между результатами параллельной ИК спектроскопии, что не позволяет рассматривать их как спектры одного образца. Для трети образцов (36%) различия в параллели не являются статистически достоверными, но все же выявлены. Все это еще раз обращает внимание на необходимость тщательного соблюдения условия пробоподготовки, в частности, необходимости центрифугирования образца, снятия его с осадка и дополнительной гомогенизации перед его нанесением на подложки из селенида цинка. Также становится очевидным необходимость проведения измерений как минимум в трех параллелях, проверка устойчивости спектров и отбраковка образцов, для которых получены значимые расхождения между параллельными измерениями. Именно для этого нами предложена комбинация методов Фридмана и Спирмена. С другой стороны, предложенную комбинацию методов можно использовать для поиска наиболее различающихся диапазонов при сравнении ИК спектров различных образцов, в том числе и для поиска потенциально информативных полос поглощения при диагностике онкологических заболеваний.

1. Bel'skaya L.V., Sarf E.A., Makarova N.A. Use of Fourier Transform IR Spectroscopy for the Study of Saliva Composition // *J. Appl. Spectrosc.*, 2018, vol. 85, no. 3, pp. 445-451.
2. Morais C.L.M., Paraskevaidi M., Cui L. et al. Standardization of complex biologically derived spectrochemical datasets // *Nat. Protoc.*, 2019, vol. 14, pp. 1546-1577.
3. Bel'skaya L.V., Sarf E.A., Solomatin D.V. Age and gender characteristics of IR spectra of normal human saliva // *Applied Spectroscopy*, 2020, vol. 74, no. 5, pp. 536-543.

РАФЕН И ПОЛИГРАФЕН КАК ВОЗМОЖНОЕ СРЕДСТВО ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВ ПРИ ОНКОЛОГИИ КИШЕЧНИКА

Graphene and Polygraphene as Possible Drug Delivery Vehicle for Intestinal Oncology

Ботин А.С.^{1,2}, Машал Д.А.¹, Попова Т.С.², Ризк М.Г.Х.¹, Кордова А.В.¹

¹ Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы, г. Москва, РФ, botin-as@rudn.ru

² ГБУЗ «НИИ Скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», г. Москва, РФ, BotinAS@sklif.mos.ru

Одним из важнейших направлений в современной фармакологии является адресная доставка лекарственных препаратов. Такая доставка предполагает направленный транспорт лекарственного вещества в заданную область организма, органа или клетки. Она реализуется при помощи носителей, имеющих, как правило, размеры в десятки или сотни нанометров, различную природу и химическое строение.

Начиная с 1980-го года активно разрабатывается доставка противоопухолевых препаратов с помощью наночастиц. Наночастицы проникают в опухоль благодаря так называемому эффекту «повышенной проницаемости и удержания». Имобилизация лекарств на наноносителях позволяет повысить их биодоступность, улучшая растворимость и обеспечивая преодоление различных барьеров, например, гематоэнцефалического барьера, снизить влияние на организм в целом, целенаправленно воздействуя на поврежденную область.

Начиная с 2008 года, производные графена – оксид графена (GO) и восстановленный оксид графена (RGO) – тестируются в качестве носителей для доставки лекарств.

В настоящее время существует два основных направления развития таргетных систем на основе графена: доставка лекарств и доставка генетического материала.

Для адресной доставки лекарств в онкологии есть несколько подходов. Первый, наиболее простой – прикрепление, как низко-, так и высоко-молекулярного препарата на поверхность носителя напрямую. Например, такой препарат, как доксорубин, прочно связанный с поверхностью оксида графена и высвобождающийся только в кислотной среде опухоли. Второй, более сложный способ – прикрепить к поверхности носителя не только действующее вещество, но и направляющие молекулы – лиганды. Это могут быть, например, моно- и поли-клональные антитела, фолиевая кислота или трансферрин. Они распознают клетки-мишени и связываются с ними. Иногда сам лиганд может быть одновременно и лекарством. К примеру, показано, что противоопухолевый белок TRAIL может связываться с поверхностью раковых клеток [1].

ПолиГрафен (ПГ) – оригинальный модифицированный аналог терморасщепленного графита, который получен в виде новой формы расширенного графита, которая после многократной химической модификации и термоактивации приводит к характеристикам слоистого материала со стопками углеродных монослоев меньшей кратности (от 5 до 50), вплоть до одиночных листов графена. Было обнаружено, что ПГ образует прочные «комплексы» и с белками, и с вирусами, и даже с микроорганизмами. Материалы типа ПГ обладают очень высокой поглотительной емкостью, особенно по отношению к гидрофобным соединениям (1:30 – 1:100). По этой причине такие материалы эффективно используются для очистки водных растворов и суспензий от широкого спектра органических загрязнений (от бензола до масел). Поскольку оболочки бактерий и вирусов, а также многие токсины – гидрофобны, формы графита, полученные путем термодеструкции, могут эффективно сорбировать и удерживать токсины, антибиотики, вирусные частицы, патогенную микрофлору и многие ксенобиотики и т.д.

Приведены результаты испытаний ПГ в качестве действующей основы для иммобилизации ферментов, в частности, на примере противоопухолевого фермента L-лизин- α -оксидазы [2]. Эти данные указывают на перспективность возможного биомедицинского применения ПГ в онкологии, а именно, при лечении рака кишечника. Изучаются взаимодействия углеродного сорбента нового поколения ПолиГрафен с иммобилизованным противоопухолевым ферментом со структурой слизистой кишечника при наличии очагов онкологии на стенках, для локализованного использования ПГ+ОнкоПрепарат общего и селективного действия.

Таким образом, модифицированные формы графена и полиграфена следует рассматривать как новый переносчик лекарственных средств: противоопухолевых препаратов, антибиотиков, антител и других биологически активных веществ. В отличие от традиционной химиотерапии, при которой препараты свободно путешествуют по кровотоку и равномерно распределяются по всему организму, использование специальных носителей делает процесс точечным и направленным.

1. Jiang T., Sun W., Zhu Q. et al. Furin-Mediated Sequential Delivery of Anticancer Cytokine and Small-Molecule Drug Shuttled by Graphene // *Adv. Mater.*, 2015, vol. 27, pp. 1021-1028.

2. Ботин А.С., Буравцев В.Н., Полетаев А.И., Смирнова И.П. Возможность иммобилизации ферментов в структуру полиграфена на примере L-лизин-альфа-оксидазы // Труды 2-й Международной научно-практической конференции «Графен и родственные структуры: синтез, производство и применение» 15-17 ноября 2017 г., Тамбов, Россия, 2017, с. 36-39.

БИОФИЗИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ДЕРМАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ ЧЕЛОВЕКА В СОСТАВЕ БИМЕДИЦИНСКОГО КЛЕТОЧНОГО ПРОДУКТА ПРИ ХРАНЕНИИ **Biophysical State of Human Dermal Fibroblasts in the Composition of a Biomedical Cell Product during Storage**

Бутенко А.В., Пинчук С.В., Волотовский И.Д.

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь, annabutenka@tut.by

В настоящее время для восстановления дефектов кожи, лечения ожогов и трофических язв применяются различные биомедицинские клеточные продукты (БМКП). В Институте биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси совместно с Белорусской медицинской академией последипломного образования МЗ РБ был разработан БМКП на основе фибробластов и кератиноцитов кожи человека. Данный БМКП представляет собой иммобилизованные кератиноциты и фибробласты дермы человека в соотношении 1:4 в 1%-ном коллагеновом геле «Коллост», которые наносятся послойно на раневое покрытие из хитозана [1,2]. «Коллост» гель (ЗАО «БиоФармхолдинг», Россия) – 7% или 15%-ный стерильный биопластический коллагеновый продукт нового поколения (получаемый из кожи телят содержит коллаген I типа, который по биохимическому составу и структуре близок к человеческому коллагену) с полностью сохраненной нативной структурой. БМКП не подлежит длительному хранению. Срок годности составляет при температуре +5°C до +10°C не более 24 часов, при температуре от +10°C до +33°C не более 4 часов.

Целью нашего исследования было изучение биофизического состояния фибробластов кожи человека при инкубации с «Коллост» гелем в составе БМКП при хранении. Для этого оценивалось влияние коллагенового носителя на содержание внутриклеточного ионизированного кальция, активных форм кислорода (АФК) и микровязкость липидного бислоя клеточных мембран.

Фибробласты дермы человека 2-3 пассажа инкубировали в «Коллост» геле 30 минут, 1, 2 и 4 часа при

температуре +28⁰С, а затем с помощью флуоресцентных зондов определяли внутриклеточное содержание ионизированного кальция (Fluo-3AM), активных форм кислорода (2,7-дихлорфлуоресцеин ацетат), а также исследовали вязкость липидного бислоя мембран по поляризации дифенилгексатриена.

Известно, что для нормального функционирования клетки необходим определенный уровень микровязкости липидного бислоя мембран. Проведенные исследования показали, что инкубация фибробластов дермы в геле «Коллост» не влияла на вязкость липидного бислоя мембран клеток.

Концентрация внутриклеточного кальция в свежeweделенных клетках составила 145±4 нМ и не изменялась в течение часа инкубации в фосфатном буфере. После инкубации 30 или 60 мин в «Коллост» геле содержание кальция составило 140±5 нМ. Увеличение времени инкубации до 4 часов приводило к росту внутриклеточного кальция в контрольных клетках до 200 нМ, тогда как в инкубированных в «Коллост» геле оставалась на прежнем уровне. Полученные результаты показывают, что мембраны клеток в коллагеновом геле не повреждаются и остаются в оптимальном структурно-функциональном состоянии.

Исследование динамики окисления зонда 2,7-дихлорфлуоресцеин ацетата в клетках показало отсутствие влияния на данный процесс инкубации клеток с гелем в течение 0,5–4 ч. Это свидетельствует об отсутствии индукции препаратом окислительного стресса в фибробластах.

Известно, что в диапазоне положительных температур от +4⁰С до +37⁰С невозможно длительное хранение клеток без потери жизнеспособности. В нашем случае жизнеспособность фибробластов при инкубации в «Коллост» геле в течение 2 и 4 часов при +28⁰С сохранялась на уровне 96%, в то время как в контроле при инкубации в фосфатном буфере - 92%.

В целом, полученные результаты позволяют сделать вывод об отсутствии нарушений структурно-функционального состояния мембран фибробластов после воздействия геля «Коллост», положительном влиянии и сохранении интактности клеток в составе разработанного БМКП.

1. Бутенко А.В., Квачева З.Б., Василевич И.Б. и др. Тканевой эквивалент кожи- клеточный продукт на основе кератиноцитов и фибробластов кожи человека: свойства компонентов эквивалента и перспективы использования продукта на практике // Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия биологических наук, 2021, т. 66, № 4, с. 391-401.

2. Часнойть А.Ч., Василевич И.Б, Квачева З.Б. и др. Эффективность лечения ожоговой травмы на модели сплошного и мозаичного ожогов у животных с использованием тканевого эквивалента кожи // Медицинский журнал» издательство БГМУ, 2022, № 3, с. 24-29, doi: 10.51922/1818-426X.2022.3.24.

COMPARISON OF MELATONIN PHOTODEGRADATION BETWEEN SUNLIGHT AND UV IRRADIATION

Barrera Quiroz R.A., Hernandez Santiago A.A., Zenteno Mateo B., Gonzalez Fuentes M.A., Mendez Albores A., Mendez Albores E.

Meritorious Autonomous University of Puebla, Puebla, Mexico

Melatonin is synthesized mainly in the pineal gland as well as in the retina, digestive tract, and skin, among others [1-3]. This hormone is widely prescribed for therapeutic applications such as the treatment of circadian rhythm, intercontinental flight dysrhythmia (jet lag syndrome), and sleep disorders. As a result of the COVID-19 pandemic, the consumption of this hormone was increased up to 300% in doses higher than 5 mg day⁻¹. Therefore, it is expected that this hormone is present in superficial body water as a pollutant. Although it is reported that melatonin can be photolabile, the photochemistry has not been exhaustively studied. In that sense, in this work, was evaluated the photodegradation of melatonin in solution. Several solutions of melatonin (20 and 500 mg L⁻¹) in water were exposed to sunlight and UVA irradiation monitoring the degradation by spectrophotometric techniques, total organic carbon, and HPLC analysis.

1. Hardeland R., Pandi-Perumal S.R., Cardinali D.P. (2006). Melatonin // International Journal of Biochemistry and Cell Biology, 2006, vol. 38, no. 3, pp. 313-316, doi: 10.1016/j.biocel.2005.08.020.

2. Li J., Somers V.K., Xu H. et al. Trends in Use of Melatonin Supplements among US Adults, 1999-2018 // JAMA, 2022, vol. 327, no. 5, pp. 483-485, doi: 10.5664/jcsm.5100.

3. Wichniak A., Kania A., Sieminski M., Cubala W.J. Review Melatonin as a Potential Adjuvant Treatment for COVID-19 beyond Sleep Disorders // International Journal of Molecular Sciences, 2021, vol. 22, pp. 1-14, doi: 10.3390/ijms22168623.

ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ 5-[4'-(N-МЕТИЛ-1'',3''-БЕНЗОИМИДАЗОЛ-2''-ИЛ)ФЕНИЛ]-10,15,20-ТРИС(3'-ПИРИДИЛ)ПОРФИРИНА С НУКЛЕИНОВЫМИ КИСЛОТАМИ

Features of the Interaction of 5-[4'-(n-methyl-1'',3''-benzoimidazole-2''-yl)phenyl]-10,15,20-tris(3'-pyridyl)porphyrin with Natural and Synthetic Nucleic Acids

Ведерникова И.А.^{1,2}, Юрина Е.С.¹, Лебедева Н.Ш.¹

¹ Институт химии растворов РАН, г. Иваново, РФ

² Ивановский государственный химико-технологический университет, г. Иваново, РФ, *irusik.vedernikova@mail.ru*

ДНК – молекула жизни, обеспечивающая хранение, передачу из поколения в поколение и реализацию генетической программы развития и функционирования живого организма. Изменение ее функций за счет связывания с малыми органическими соединениями открывает широчайшие возможности, начиная от создания лекарственных препаратов для лечения онкологических, генетических, микробных, паразитарных и вирусных инфекций и заканчивая регуляцией жизненного цикла, процессами старения или генетической модификацией живого организма. Говоря о связывании лигандов с ДНК, выделяют 3 основных типа комплексов: интеркалят, связывание в большой /малой бороздках и внешний комплекс. Внутренне связывание или интеркаляция осуществляется за счет встраивания лиганда между парами азотистых оснований. Интеркалирующий агент при связывании с ДНК может привести к нарушению одной из спиралей дуплекса, и одно из оснований оказывается вывернутым. При таком варианте несимметрично замещенный порфирин может образовать дополнительные связи между вывернутым азотистым основанием и своим периферийным заместителем. Порфирины, являющиеся представителями макрогетероциклических соединений, как интеркаляты они могут оказывать не только ингибирующее действие на процессы транскрипции и репликации ДНК, но могут при фотооблучении приводить к необратимому повреждению спирали. Целью данного исследования являлось изучение взаимодействия моногетерилзамещенного порфирина ((5-[4'-(N-метил-1'',3''-бензоимидазол-2''-ил)фенил]-10,15,20-трис(3'-пиридил)порфирина) с природными (ДНК тимуса теленка (ct-ДНК), ДНК спермы лосося (ss-ДНК)) и синтетическими (poly[d(AT)2], poly[d(GC)2]) нуклеиновыми кислотами. Спектрофотометрическое титрование растворов порфирина нуклеиновыми кислотами приводит к существенному изменению спектров, что особенно ярко проявляется в области Соре. Изменение интенсивности поглощения полосы Соре с увеличением концентрации ДНК уменьшается в ряду: poly[d(GC)2] > ss-DNA > ct-DNA > poly[d(AT)2].

Обработка полученных спектральных данных и построение графика в координатах Скетчарда позволило определить константы аффинности исследуемых нуклеиновых кислот к 5-[4'-(N-метил-1'',3''-бензоимидазол-2''-ил)фенил]-10,15,20-трис(3'-пиридил)порфиру (табл. 1).

Таблица 1. Константа аффинности взаимодействия порфирина с ss-ДНК, ct-ДНК, poly[d(GC)2] и poly[d(AT)2]

| | poly[d(GC)2] | poly[d(AT)2] | ss-ДНК | ct-ДНК |
|----------------------|--|----------------------|----------------------|--|
| Константа аффинности | 3.34·10 ⁶ 1.45·10 ⁷ | 2.66·10 ⁶ | 9.16·10 ⁶ | 4.34·10 ⁶ 1.10·10 ⁷ |

Для систем порфирин - поли[d(AT)2] и порфирин – ss-ДНК графическая зависимость в координатах Скетчарда линейна, это говорит о формировании в системе комплекса порфирина с поли[d(AT)2] и с ssDNA одного вида. Для остальных нуклеиновых кислот график Скетчарда представляет собой две линии, что говорит о формировании в системах порфирин поли[d(GC)2] и порфирин – ct-ДНК комплексов двух видов. Следует отметить, что константы устойчивости комплексов порфирина с ct-ДНК и репрезентативным олигонуклеотидом поли[d(GC)2], содержащим только пары оснований GC, близки между собой. Данный факт позволяет предположить, что взаимодействие ct-ДНК с порфирином осуществляется также с участием GC пар азотистых оснований. Это предположение согласуется с литературными сведениями [1,2], согласно которым интеркаляция порфириновых соединений осуществляется в области ДНК, обогащенные GC основаниями.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ № 23-13-00235

1. Mathew D., Sujatha S. Interactions of porphyrins with DNA: A review focusing recent advances in chemical modifications on porphyrins as artificial nucleases // Journal of Inorganic Biochemistry, 2021, vol. 219, p. 111434, doi: 10.1016/j.jinorgbio.2021.111434.

2. Carvlin M.J., Mark E., Fiel R., Howard J.C. Intercalative and nonintercalative binding of large cationic porphyrin ligands to polynucleotides // Nucleic acids research, 1983, vol. 11, no. 17, pp. 6141-6154, doi: 10.1093/nar/11.17.6141.

РЕГУЛЯЦИЯ РЕДОКС-ЗАВИСИМОГО МЕХАНИЗМА АДАПТАЦИИ ЭРИТРОЦИТОВ НАНОЧАСТИЦАМИ ДИОКСИДА ЦЕРИЯ

Regulation of the Redox-dependent Mechanism of Erythrocyte Adaptation by Cerium Dioxide Nanoparticles

Войнаровский В.В., Мартинович Г.Г.

Белорусский государственный университет, г. Минск, Республика Беларусь, voynarovskiy197@mail.ru

Основными участниками адаптационных механизмов клеток при патологиях являются активные формы кислорода (АФК), которые выполняют роль сигнальных посредников при действии стресса на организм. В качестве перспективных регуляторов биологических редокс-зависимых механизмов активно исследуются полупроводниковые наночастицы диоксида церия (НДЦ). Механизм действия НДЦ подобен механизму функционирования супероксиддисмутазы и каталазы и базируется на способности полупроводников обмениваться электронами с адсорбированными на их поверхности молекулами [1]. Ранее нами было показано, что пероксид водорода повышает структурную устойчивость эритроцитов при гемолизе наночастицами серебра [2]. В настоящей работе исследовано влияние НДЦ на регуляцию адаптационных процессов эритроцитов пероксидом водорода. Наночастицы диоксида церия синтезировали методом гомогенного осаждения в присутствии гексаметилентетрамина. Редокс-свойства наночастиц диоксида церия оценивали на основе изменения скорости окисления 2',7'-дихлордигидрофлуоресцеина (H_2DCF) пероксидом водорода. Гемолиз предварительно проинкубированных с пероксидом водорода эритроцитов проводили путём добавления нитрата серебра.

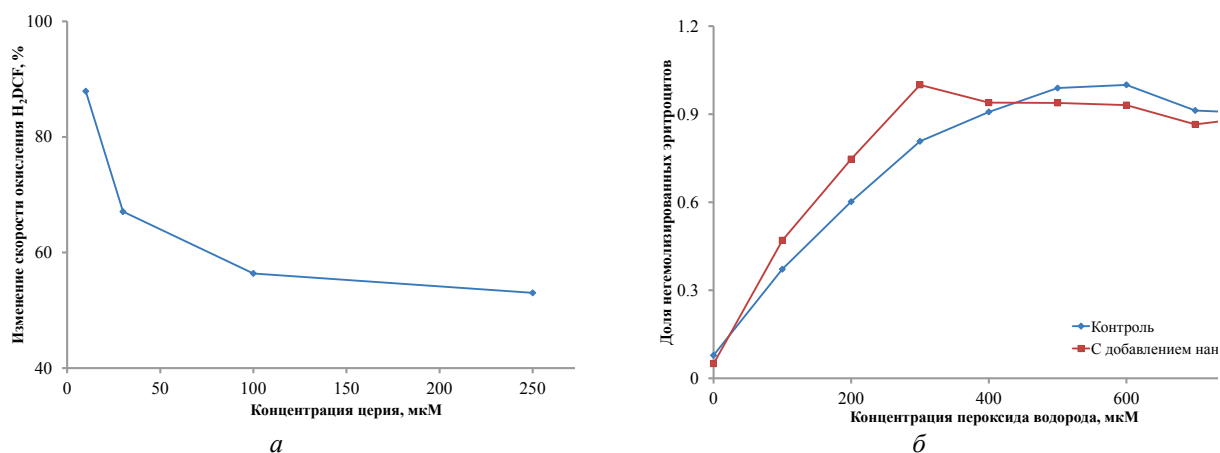


Рисунок 1 – Зависимость скорости окисления H_2DCF пероксидом водорода от концентрации церия (а), доля негемолизированных клеток при гемолизе нитратом серебра в присутствии пероксида водорода и НДЦ

Методом электронной сканирующей микроскопии установлено, что наночастицы имеют преимущественно сферическую форму средним диаметром 50 нм. Спектрофотометрическим методом показано, что они обладают высокой агрегационной устойчивостью. В результате исследований в бесклеточных растворах обнаружено, что НДЦ проявляют антиоксидантные свойства и снижают скорость окисления H_2DCF пероксидом водорода. На рис. 1а представлена зависимость изменения скорости окисления зонда в присутствии наночастиц от концентрации диоксида церия. В экспериментах с эритроцитами НДЦ не изменяли скорости гемолиза клеток, индуцированного нитратом серебра. С другой стороны, предварительное инкубирование клеток с пероксидом водорода приводило к снижению доли гемолизированных клеток. На рис. 1б представлена зависимость доли негемолизированных клеток при различной концентрации пероксида водорода без НДЦ и в присутствии наночастиц. Как видно из представленных данных применение НДЦ приводит к потенцированию защитного эффекта и сдвигу области гормезиса в сторону меньших концентраций пероксида водорода.

Ранее нами было показано, что обратимое связывание метгемоглобина с мембраной является адаптивным механизмом, направленным на стабилизацию эритроцитарной мембраны при действии пероксида водорода [3]. Вероятно, в результате действия НДЦ изменяется метаболизм пероксида водорода и количество метгемоглобина доступного для связывания с мембраной, что и обуславливает смещение области гормезиса при действии пероксида водорода.

1. Huang Y., Jinsong R., Xiaogang Q., Nanozymes: Classification, Catalytic Mechanisms, Activity Regulation, and Applications // Chem. Rev., 2019, vol. 119, no. 6, pp. 4357-4412, doi: 10.1021/acs.chemrev.8b00672.
2. Voinarovskiy V.V., Martinovich G.G. Protective effect of hydrogen peroxide during erythrocyte hemolysis by silver nanoparticles // Biophysics, 2022, vol. 67, no. 5, pp. 734-743.
3. Voinarovskiy V.V., Martinovich G.G. Regulation of the structural stability of erythrocytes by hydrogen peroxide: mathematical model and experiment // Biochem. (Moscow) Suppl. Ser. A., 2022, vol. 16, no. 1, pp. 91-105.

ВЗАИМОДЕЙСТВИИ ЙОДИДА АЦЕТИЛХОЛИНА С ПЕРОКСИДОМ ВОДОРОДА Interaction of Acetylcholine Iodide with Hydrogen Peroxide

Егорова Ю.Н.^{1,2}, Касаикина О.Т.¹

¹ Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, г. Москва, РФ

² Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет),
г. Долгопрудный, РФ, *egorova.mipt@gmail.com*

Ацетилхолин (ACh) является ключевым нейромедиатором в центральной и периферической нервной системах и играет решающую роль в обучении, памяти, вегетативном контроле и мышечных сокращениях [1,2]. Известно, что ACh синтезируется и функционирует не только в нейрональной системе, но принимает участие и в других физиологических и патологических процессах. Способность продуцировать ацетилхолин обнаружена для Т-клеток, реагирующих на вирусную инфекцию [3]. ACh и другие производные холина, содержащие катион тетраалкиламмония $(\text{CH}_3)_3\text{RN}^+$, можно отнести к большому классу четвертичных аммониевых соединений (QAC), катионных биоцидов с широким спектром антимикробной активности [4].

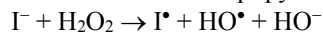
Примечательно, что ацетилхолин в большинстве работ обозначают, как ACh, не указывая, что это четвертичный аммониевый катион R_4N^+ , который в нейтральной среде вне электрического поля требует наличия противоионов. В работах [5,6] было показано, что в органической среде хлорид ацетилхолина подобно катионным ПАВ образует с гидропероксидами, включая H_2O_2 , микроагрегаты, в которых каталитически ускоряется радикальный распад гидропероксидов. В воде гигроскопичный AChCl образует истинные растворы и не влияет на распад гидропероксидов.

В живых организмах ацетилхолин функционирует в водной среде, в связи с чем в данной работе изучено влияние ACh с различными противоионами – хлоридом Cl^- и йодидом I^- на распад H_2O_2 в водной среде. Стоит отметить, что хлор и йод являются жизненно необходимыми элементами, дефицит которых приводит к серьезным нарушениям жизненных процессов.

В работе решали следующие задачи: 1. Методом ингибиторов изучить влияние противоионов I^- и Cl^- на генерирование радикалов при взаимодействии ACh с H_2O_2 в водном растворе. 2. Методом ЭПР с использованием спиновой ловушки DMPO исследовать природу образующихся радикалов. 3. Изучить кинетические особенности взаимодействия AChI с антиоксидантами разной природы (фенолы (ресвератрол, RVT), нитроксильные радикалы (ТЕМПОЛ), глутатион, GSH) в присутствии H_2O_2 .

В водных растворах AChI в присутствии H_2O_2 наблюдается расходование всех акцепторов RVT, ТЕМПОЛ и GSH, что свидетельствует об образовании радикалов, а в смеси AChCl с H_2O_2 радикалы не образуются.

По магнитно-резонансным параметрам образующегося из DMPO нитроксильного радикала ($a_N = 14.9$ Гс и $a_H = 15.0$ Гс) установлено, что в смеси AChI с H_2O_2 и DMPO генерируются гидроксильные HO^\bullet радикалы:



Молекулярные продукты, образующиеся при взаимодействии AChI с H_2O_2 , исследованы масс-спектрометрически методом электроспрейной ионизации в режиме измерения положительных и отрицательных ионов. Изучены кинетические закономерности расходования RVT, ТЕМПОЛ и GSH, накопления I_2 ; обнаружено сильное влияние pH на механизм процесса.

По результатам проведенного исследования установлено значительное влияние противоионов I^- и Cl^- на генерирование радикалов при участии ACh в присутствии H_2O_2 в водной среде. В случае AChCl генерирование радикалов происходит гораздо медленнее и не сопровождается окислением Cl^- . Примечательно, что известная в иодометрии реакция окисления I^- пероксидами имеет радикальную природу и может конкурировать с реакцией Фентона в системах, где исключается присутствие ионов металлов.

1. Pittaras E.C., Faure A., Leray X. et al. Neuronal nicotinic receptors are crucial for tuning of E/I balance in prefrontal cortex and for decision-making processes // *Frontiers in Psychiatry*, 2016, vol. 7, p. 171, doi: 10.3389/fpsy.2016.00171.

2. Schliebs R., Arendt T. The cholinergic system in aging and neuronal degeneration // *Behavioural brain research*, 2011, vol. 221, pp. 555-563, doi: 10.1016/j.bbr.2010.11.058.

3. Cox M.A., Bassi C., Saunders M.E. et al. Beyond neurotransmission: acetylcholine in immunity and inflammation // *Journal of Internal Medicine*, 2020, vol. 287, pp. 120-133, doi: 10.1111/joim.13006.

4. Vereshchagin A.N., Frolov N.A., Egorova K.S. et al. // *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, vol. 22, no. 13, p. 6793, doi: 10.3390/ijms22136793.

5. Трунова Н.А., Круговов Д.А., Богданова Ю.Г., Касаикина О.Т. Мицеллярные инициаторы свободных радикалов // *Вестник Московского университета. Серия 2. Химия*, 2008, т. 49, № 4, с. 259-263.

6. Потапова Н.В., Касаикина О.Т., Березин М.П. и др. // *Кинетика и катализ*, 2023, т. 64, № 1, с. 1-8, doi: 10.31857/S0453881123010057.

ВЛИЯНИЕ НАТИВНОГО И ОКИСЛИТЕЛЬНО-МОДИФИЦИРОВАННОГО ФИБРИНОГЕНА НА ФУНКЦИИ ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ

Influence Native and Oxidize-modified Fibrinogen on Function of Blood Leukocytes

Жамбалова Б.А., Осипов А.Н.

Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, г. Москва, РФ,
zhambalovaba@inbox.ru

Фибриноген является белком острой фазы, концентрация которого значительно увеличивается во время воспаления. Уровень белка в плазме крови выше референтных пределов является независимым риск-фактором развития осложнений, возникающих при воспалительных процессах [1].

Как известно, в развитии воспалительных реакций существенная роль отводится активации лейкоцитов. На функцию лейкоцитов могут оказывать влияние белки, присутствующие в крови. Было показано, что фибриноген специфично связывается на поверхности лейкоцитов посредством α -субъединицы CD11b/CD18 [2]. Последнее обстоятельство представляется весьма важным, поскольку показывает функциональную взаимосвязь фибриногена и лейкоцитов крови. Одним из существенных вопросов в выяснении механизма действия фибриногена является изучение влияния фибриногена на продукцию активных форм кислорода (АФК) лейкоцитами. Этот вопрос мало исследован. В связи с этим целью настоящей работы являлось изучение влияния фибриногена на активность лейкоцитов в процессе люминол-зависимой хемилюминесценции (ЛХЛ).

Изучено влияние нативного и окислительно-модифицированного УФ-облучением фибриногена на интенсивность ЛХЛ лейкоцитов крови, стимулированной опсонизированным зимозаном. Показано, что введение фибриногена, и нативного, и окисленного в суспензию клеток приводило к усилению интенсивности ЛХЛ лейкоцитов. При этом в присутствии окисленного фибриногена интенсивность ЛХЛ была выше по сравнению с присутствием в суспензии клеток нативного фибриногена. Время предварительной инкубации лейкоцитов с фибриногеном при комнатной температуре составляло 30 мин. Интенсивность ЛХЛ возрастала с увеличением содержания фибриногена в реакционной среде, достигая максимума при концентрации фибриногена, равной 600 мкг/мл. При дальнейшем увеличении концентрации фибриногена интенсивность ЛХЛ уменьшается. Далее было изучено влияние фибриногена различной степени окисленности на интенсивность ЛХЛ лейкоцитов. С увеличением степени окисленности интенсивность ЛХЛ лейкоцитов возрастает, достигая максимального значения в присутствии фибриногена с 30% окисленных триптофановых остатков (рис. 1).

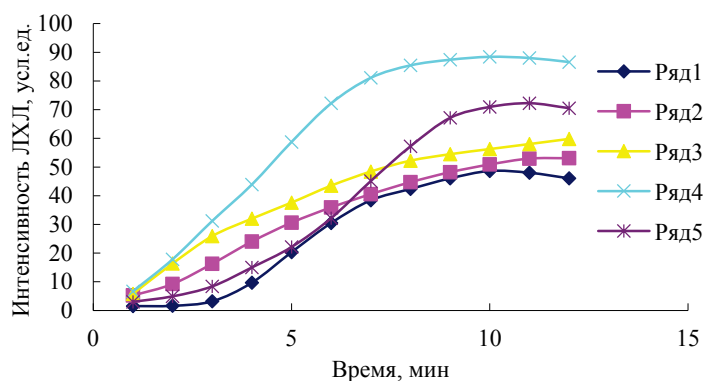


Рисунок 1. Кинетики ЛХЛ лейкоцитов крови, стимулированных опсонизированным зимозаном
Ряд 1 – в отсутствие фибриногена;
Ряд 2 – в присутствии нативного фибриногена;
Ряд 3 – в присутствии фибриногена с 10% окисленных триптофановых остатков;
Ряд 4 – в присутствии фибриногена с 30% окисленных триптофановых остатков;
Ряд 5 – в присутствии фибриногена с 60% окисленных триптофановых остатков

При дальнейшем увеличении степени окисленности наблюдалось снижение эффекта активации. Полученные результаты указывают на то, что нативный и окислительно-модифицированный фибриноген значительно усиливают продукцию АФК лейкоцитами, стимулированными опсонизированным зимозаном и тем самым могут модулировать реакции лейкоцитов, усиливая их функциональную активность, играя важную роль в патогенезе многих заболеваний и патологических состояний организма человека.

1. Berliner J.A., Navab M., Fogelman A.M. et al. Atherosclerosis: basic mechanism oxidation, inflammation and genetic // *Circulation*, 1995, vol. 91, pp. 2488-2496.

2. Rubel C., Fernandez G.C., Dran G. et al. Fibrinogen promotes neutrophil activation and delays apoptosis // *J. Immunol.*, 2001, vol. 166, no. 3, pp. 2002-2010.

ЛЮМИНОЛ-ЗАВИСИМАЯ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ ПОЛИМОРФНО-ЯДЕРНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ У ЗДОРОВЫХ БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН И ЖЕНЩИН С НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ НА РАННИХ СТАДИЯХ ГЕСТАЦИИ
Luminol-dependent Chemiluminescence of Blood PNLs in Healthy Pregnant Women and Women with Pregnancy Miscarriage in the Early Stages of Gestation

Жамбалова Б.А., Осипов А.Н.

Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, г. Москва, РФ,
zhambalovaba@inbox.ru

Активные формы кислорода (АФК), генерируемые полиморфно-ядерными лейкоцитами (ПЯЛ) периферической крови, могут играть важную роль в развитии оксидативного стресса при беременности, осложненной различной патологией, в том числе и невынашивании беременности (НБ).

Способность ПЯЛ периферической крови продуцировать АФК оценивали методом люминол-зависимой хемилюминесценции (ЛХЛ). Для этого фагоциты стимулировали либо липополисахаридом (ЛПС), известных как лиганды Toll-подобных рецепторов, TLR2 и TLR4 соответственно [1]. ЛХЛ ПЯЛ, стимулированных зимозаном и ЛПС, может зависеть от экспрессии этих рецепторов на цитоплазматической мембране клеток, а также функционирования соответствующих сигнальных путей, приводящих к активации этих клеток с последующей продукцией АФК.

В данное исследование включено 85 женщин в возрасте 18–42 лет, которые были распределены на 4 группы: 1-я группа – здоровые небеременные женщины (n=25); 2-я группа – здоровые беременные женщины (n=25); 3-я группа – пациентки с угрозой прерывания беременности (n=18); 4-я группа – пациентки с прервавшейся беременностью (n=17). Все беременные женщины находились в первом триместре гестации (5–12 неделя).

Из результатов наших экспериментов для проведения данного исследования были выбраны следующие условия регистрации ЛХЛ ПЯЛ периферической крови: количество клеток 2×10^5 /мл, концентрации зимозана и ЛПС – 5 мкг/мл и 100 мкг/мл.

На рисунке 1 представлены данные ЛХЛ ПЯЛ периферической крови, стимулированных зимозаном и ЛПС, пациенток обследуемых групп.

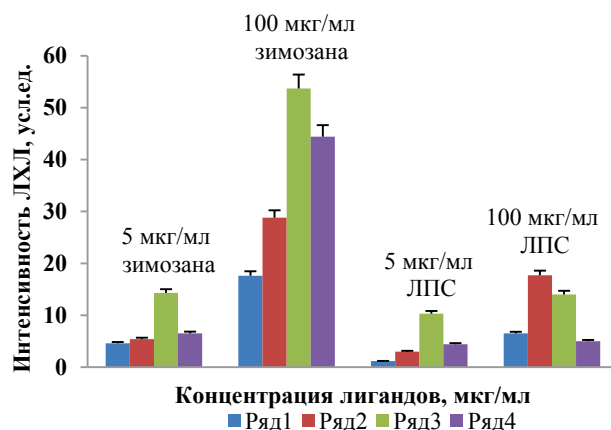


Рисунок 1. Интенсивность ЛХЛ ПЯЛ периферической крови, стимулированных зимозаном и ЛПС

Ряд 1 – 1-я группа пациенток (n = 25); Ряд 2 – 2-я группа пациенток (n = 25);

Ряд 3 – 3-я группа пациенток (n = 18); Ряд 4 – 4-я группа пациенток (n = 17)

Видно, что интенсивность свечения клеток в присутствии зимозана была существенно выше, чем в присутствии ЛПС. Выявлены достоверные различия между обследуемыми группами женщин при стимуляции ПЯЛ крови зимозаном. Так, обнаружено увеличение в 1,6 раза и 3,1 раза ($p < 0,05$) интенсивности ЛХЛ ПЯЛ периферической крови, стимулированных зимозаном в концентрации 100 мкг/мл у пациенток 2-й и 3-й групп соответственно по сравнению с пациентками 1-й группы. Измеряемый показатель у пациенток 4-й группы был в 1,2 раза ниже, чем у пациенток 3-й группы, но выше, чем у пациенток 1-й и 2-й групп. Характер изменения интенсивности свечения ПЯЛ крови, стимулированных ЛПС в концентрациях 5 мкг/мл и 100 мкг/мл различается. В присутствии ЛПС в концентрации 100 мкг/мл наблюдается уменьшение интенсивности свечения у пациенток 3-й и 4-й групп по сравнению с пациентками 2-й группы. Возможными причинами могут являться нарушения в функционировании соответствующих TLR-опосредованных сигнальных путей на фоне развития оксидативного стресса в первом триместре гестации.

1. Akhter N., Madhoun A., Arefanian H. et al. Oxidative Stress Induces Expression of the Toll Like Receptors (TLRs) 2 and 4 in the Human Peripheral Blood Mononuclear Cells: Implications for Metabolic Inflammation // Cell Physiol. Biochem., 2019, vol. 53, no. 1, pp. 1-18, doi: 10.33594/00000117.

ХРОНОФИЗИОТЕРАПИЯ – НОВОЕ НАПРАВЛЕНИЕ В МЕДИЦИНСКОЙ БИОФИЗИКЕ Chronophysiotherapy - a New Direction in Medical Biophysics

Зарубин В.Н.

ООО «Международный центр «Рубин», г. Новосибирск, РФ, *mcrubin@bk.ru*

Работа относится к области хрономедицины, хронофизиотерапии и медицинской биофизики. С позиции науки Хронобиологии все биопроцессы в организме имеют свои биоритмы [1,2]. Поэтому при заболевании нарушение биопроцессов (физиопатология) сопровождается отклонением биоритмов от нормы, происходит их десинхронизация и возникает хронопатология, которая получила название десинхронии [3]. При этом биопроцессы и их биоритмы подчиняются принципу сопряжения, согласно которому изменение одного из сопряжённых процессов сопровождается изменением другого. Эта взаимозависимость проявляется не только при возникновении, но и при лечении заболеваний. В результате медикаментозной терапии происходит восстановление нарушенных биопроцессов, которое по умолчанию, согласно принципу сопряжения, сопровождается нормализацией их биоритмов. Таким образом, все заболевания сопровождаются десинхронозами и представляют собой комбинацию двух сопряжённых патологий – хронофизиопатологию. Это открывает новые возможности в области биомедицины: лечение заболеваний не только методами фармакотерапии, но и методами хронофизиотерапии путём ресинхронизации биоритмов, устранения десинхроноза и восстановления биопроцессов. Проблема заключается в следующем: из-за побочного действия на организм, методы фармакотерапии не обеспечивают достаточную эффективность и безопасность лечения, а аппаратными методами лечения десинхронии хрономедицина не располагает.

В рамках хронобиологического подхода к управлению функциональным состоянием организма в компании разработана хронотехнология лечения заболеваний путём устранения десинхронозов. Технология включает метод ресинхронизирующей физиотерапии (РФТ) и аппаратно-программный комплекс (АПК) хронофизиотерапии для его реализации. Метод лечения основан на явлении усвоения внешних ритмов живыми организмами (свойстве адаптации живых организмов к внешним условиям) [4]. Это явление характеризует способность тканей, органов и организма в целом перестраивать свои биоритмы под воздействием внешних ритмов. В качестве источника внешних ритмов в методе используется электромагнитное поле (ЭМП) частотой биоритмов здоровой ткани, в которой возник патологический процесс. Принцип лечения заключается в следующем. Если на больную ткань подействовать ЭМП частотой биоритмов здоровой ткани, то, в результате явления усвоения ритма, биоритмы больной ткани перестроятся на частоту биоритмов здоровой ткани, и произойдёт устранение десинхроноза, а это, согласно принципу сопряжения биопроцессов и их биоритмов, приведёт к восстановлению нарушенных биопроцессов и выздоровлению. Использование частотной составляющей ЭМП из диапазона биоритмов здоровой ткани, в которой возникла патология, является необходимым и достаточным условием для возникновения явления усвоения ритма только в больной ткани.

Аппарат хронофизиотерапии одновременно реализует две функции лечения: хронотерапию и магнитотерапию. Функция хронотерапии, в которой лечебным фактором является частотная составляющая ЭМП (внешний синхронизатор), реализует основной метод лечения (метод РФТ). Функция магнитотерапии реализует вспомогательный метод лечения локальной магнитотерапии, лечебным фактором которой является магнитная составляющая ЭМП. Функция хронотерапии запускает процесс ресинхронизации биоритмов в больном организме и восстановления нарушенных биопроцессов, а функция магнитотерапии стимулирует процесс выздоровления за счёт реологического эффекта. Аппарат охватывает лечением все ткани и органы, биоритмы которых попадают в диапазон его рабочих частот, и в результате прямого частотного воздействия на биоритмы больного организма и комплексной хрономагнитотерапии позволяет значительно повысить эффективность и безопасность лечения. На метод лечения получен патент на изобретение, а на аппарат патент на полезную модель и Регистрационное удостоверение Росздравнадзора.

Разработанная хронотехнология открывает новое направление в области медицинской биофизики - хронофизиотерапию. Актуальность работ в этом направлении подтверждается: 1) созданием при РАМН проблемной комиссии "Хронобиология и хрономедицина" для решения вопросов возникновения и лечения десинхронозов; 2) добавлением в номенклатуру наук ЮНЕСКО в науку Биофизика раздела «Биофизика периодических процессов (биоритмология и внешние факторы синхро и десинхронизации биоритмов)».

1. Загускин С.Л. Ритмы клетки и здоровье человека. Монография. Ростов-на-Дону: Изд-во ЮФУ, 2010, 292 с.
2. Прохорова Э.М. Биологические ритмы и здоровье // Научный журнал «Сервис plus», раздел «Фундаментальная медицина», 2010, № 3, с. 20-26.
3. Зарипов А.А., Янович К.В., Потапов Р.В., Корнилова А.А. Современные представления о десинхронозе // Современные проблемы науки и образования, 2015, № 3.
4. Ухтомский А.А. Усвоение ритма в свете учения о парабозе. Избранные труды. Под редакцией Е.М. Крепса. Серия «Классики науки». Ленинград: Издательство «Наука», 1978, 360 с.

A GENERALIZATION OF THE THERMOKINETIC OREGONATOR MODEL

Zenteno Mateo B., Morales M.A., Serrano R.A., Cervantes Tavera A.M., Jose Israel R.M., Hernandez Santiago A.A.

Meritorious Autonomous University of Puebla, Puebla, Mexico

In this research work proposal, a way to generalize the thermokinetic oregonator model in order to simulate the dynamics of oscillating chemical reactions. The simulations to be carried out use elementary numerical methods using the Runge Kutta method, which are a very good approximation of the mathematical solutions of the models of these complex systems of nonlinear chemistry [1-10]. The implications of the results of the simulations lie in the reproduction of the nonlinear dynamics of thermokinetic oregonator model to temperatures different from room temperature. Additionally, the linear stability analysis is established to find the oscillation regions in the parameter space of the proposed model.

1. Morales M.A., Anzo A.s, Luna Flores A. et al. The role of activation enthalpy modeled with a modified Arrhenius equation in a variant of a minimal bromate oscillator for temperatures changes // *Chemical Physics*, 2021, vol. 546, p. 111165.

2. Ságues F., Epstein I.R. *Nonlinear Chemical Dynamics*, Dalton Trans. 2003, pp. 1202-1217.

3. Belousov B.P. *Periodicheski deistvuyushchaya reaktsia i ee mechanism*, Sbornik referatov poradiotsionnoi meditsine, 1958. Medgiz: Moscow 1959, pp. 145-147.

4. Zhabotinsky A.M. A history of chemical oscillations and waves, *Chaos Interdisciplinary // J. Nonlinear Sci.*, 1991, vol. 1, no. 4, pp. 379-385, doi: 10.1063/1.165848.

5. Barragán D., Ádera J., Parra W. Entropy production in the Oregonator model perturbed in a calorimeter with a chemical pulse // *J. Therm. Anal. Calorim.*, 2015, vol. 119, p. 705.

6. Püllela S.R., Cristancho D., He P. et al. Temperature dependence of the Oregonator model for the Belousov-Zhabotinsky reaction // *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2009, vol. 11, p. 4236.

7. Aller Pellitero M., Álvarez Lamsfus C., Borge J. The Belousov-Zhabotinskii reaction: improving the oregonator model with the Arrhenius equation // *J. Chem Educ.*, 2013, vol. 90, no. 1, pp. 82-89, doi: 10.1021/ed300227w.

8. Sena S., Riaz S.S., Ray D.S. Temperature dependence and temperature compensation of kinetics of chemical oscillations; Belousov-Zhabotinskii reaction, glycolysis and circadian rhythms // *J. Theoretical Biol.*, 2008, vol. 250, pp. 103-112.

9. Laidler K.J. The development of the Arrhenius equation // *J. Chem. Educ.*, 1984, vol. 61, no. 6, p. 494, doi: 10.1021/ed061p494.

10. Hata S., Nakao H., Mikhailov A.S. Sufficient conditions for wave instability in three-component reaction-diffusion systems // *Progress of Theoretical and Experimental Physics*, 2014, vol. 1, p. 013A01.

СИНЕРГИЯ ГУМОРАЛЬНОГО И Т-КЛЕТОЧНОГО ЗВЕНЬЕВ АДАПТИВНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ КОРОНАВИРУСОМ SARS-COV-2 Synergy of Humoral and T-cell Components of Adaptive Immunity in Response to SARS-CoV-2 Infection

Иванов А.В.^{1,2}, Фролов К.Б.³, Семенова Е.В.⁴

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, РФ, *andrey.v.ivanov@spbu.ru*

² Северо-Западный центр доказательной медицины, г. Санкт-Петербург, РФ

³ Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, г. Санкт-Петербург, РФ

⁴ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», г. Гатчина, Ленинградская обл., РФ

Адаптивный иммунитет – это многоуровневая система защиты, состоящая из гуморального, формирующего защитный пул специфических антител, и клеточного иммунитета. Всесторонний анализ адаптивного иммунного ответа имеет решающее значение для эпидемиологического мониторинга, отслеживания этапов формирования популяционного иммунитета и стратегий вакцинации. Для комплексной оценки адаптивного иммунного статуса человека после инфицирования новым коронавирусом, совместно с определением уровней специфических антител в крови (иммуноферментный анализ (ELISA) с использованием рекомбинантного S1 домена гликопротеина шипа SARS-CoV-2 в качестве антигена) измерялось количество активированных Т-лимфоцитов, секретирующих IFN- γ в ответ на стимуляцию антигенами SARS-CoV-2 (метод IGRA ELISPOT с использованием структурных (S, N, M и ORF3a) и неструктурных (ORF7a) белков вируса SARS-CoV-2 в качестве антигенов). Исследование проводилось в клинике высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова Санкт-Петербургского государственного университета с участием 20 добровольцев (10 мужчин и 10 женщин) через 7 месяцев после постановки методом RT-PCR диагноза Covid-19.

Вирус-специфические Т-клетки были обнаружены нами у всех доноров по прошествии этого достаточно длительного периода после перенесенного заболевания. Ранее долгосрочный мониторинг уровней анти-SARS-CoV-2 IgA и IgG выявил как значительную индивидуальную вариабельность, так и определенные тенденции в изменении антительного ответа с течением времени. Были сформулированы критерии, позволяющие разделить перенесших Covid-19 людей на 3 группы в зависимости от характерных особенностей развития и затухания специфического гуморального иммунного ответа на инфекцию SARS-CoV-2 [1]. По результатам исследования динамики гуморального иммунитета каждый участник данного проекта был отнесен к одной из 3-х групп. Мы проанализировали линейную регрессию, оценивающую зависимость между уровнем анти-SARS-Cov-2 иммуноглобулинов А и G (ratio) и количеством специфических к SARS-Cov-2 Т-лимфоцитов (споты белка S или пула структурных и неструктурных белков + белок N) в каждой группе. Характер взаимозависимости между величиной клеточного и гуморального иммунных ответов на SARS-CoV-2 значительно различался, как между тремя группами участников проекта, так и для иммуноглобулинов А и G внутри каждой группы. Описаны отличительные черты взаимосвязи между переменными регрессионного анализа в каждой из 3-х групп.

Полученные данные указывают как на индивидуальную вариабельность адаптивного иммунного ответа на инфекцию SARS-Cov-2, так и на различия в характере взаимоотношений между двумя звеньями системы адаптивного иммунитета – гуморального и Т-клеточного.

1. Семенова Е.В., Павлюк В.В., Уварова М.А., Иванов А.В. Особенности гуморального иммунитета после перенесенного COVID-19 // Медицинская иммунология, 2022, т. 24, № 2, с. 341-354, doi: 10.15789/1563-0625-FON-2452.

ДЛИТЕЛЬНАЯ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ КСАНТЕНОВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ В ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ И НОРМАЛЬНЫХ ТКАНЯХ *IN VITRO* Long-term Luminescence of Molecular Sensitizers in Tumor and Normal Tissues *in vitro*

Ишемгулов А.Т.¹, Летуга С.Н.¹, Сенчукова М.А.²

¹ Оренбургский государственный университет, г. Оренбург, РФ, azamat.ischemgulov@yandex.ru

² Оренбургский государственный медицинский университет, г. Оренбург, РФ

Исследована кинетика длительной люминесценции ксантеновых красителей (эозина, эритрозина) в тканях молочной железы с целью установить статистически значимые различия параметров люминесценции в злокачественных опухолях и нормальных тканях. В работе использовались макропрепараты молочной железы, полученные от пациенток онкологического диспансера и окрашенные раствором красителя концентрации 10^{-3} моль/л. Все исследования проводились с соблюдением надлежащих требований этики и деонтологии. Источником возбуждения служил импульсный YAG-лазер (532 нм), свечение регистрировалось с помощью ФЭУ-84 через монохроматор МДР-41. Образец подвергался воздействию 10 импульсов, после каждого из которых записывалась кинетика затухания длительной люминесценции.

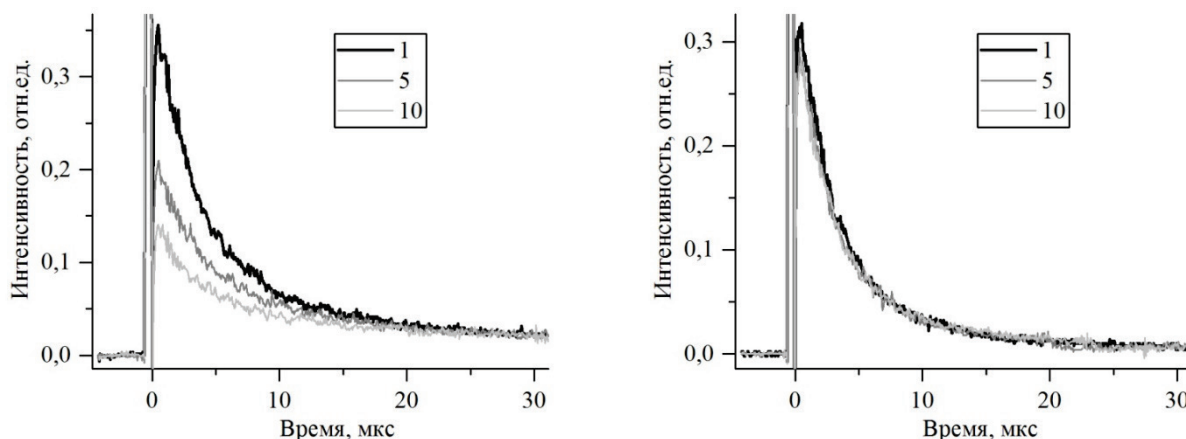


Рисунок 1. Кинетика затухания 3Ф эритрозина в тканях злокачественной опухоли молочной железы (слева) и в прилегающем лимфоузле (справа) для первого, пятого и десятого возбуждающих импульсов, следовавших с частотой 10 Гц

В ходе строб-облучения для некоторых образцов обнаружено обратимое изменение формы кинетических кривых (интенсивности и продолжительности свечения), если частота возбуждающих импульсов превышала 5–10 Гц. В частности, в полосе замедленной флуоресценции (560–570 нм) наблюдалось тушение начального

участка кинетической кривой (рис. 1). Полученные данные аналогичны полученным ранее для лабораторных мышей [1,2]. Так, было показано, что кинетика замедленной флуоресценции (ЗФ) эозина и эритрозина в тканях помимо низкоинтенсивной, но долгоживущей ЗФ типа Е (характерное время жизни порядка десятков мкс) включает также ЗФ, вызванную аннигиляцией триплет-возбуждённого красителя T_1 и синглетного кислорода 1O_2 (т.е. по реакции $^1O_2 + T_1 \rightarrow ^3O_2 + S_1 \rightarrow ^3O_2 + S_0 + h\nu_{DF}$, далее СТАЗФ). Тушение СТАЗФ, сопровождающееся увеличением продолжительности ЗФ типа Е, а также фосфоресценции, указывает на постепенное снижение концентрации кислорода в образце в ходе строб-облучения (видимо, за счёт окислительных реакций с участием 1O_2). То есть разные ткани отличаются либо по начальному количеству молекулярного кислорода в них, либо по характеру образования и (или) потребления синглетного кислорода 1O_2 .

Для выборки из 59 образцов со злокачественной опухолью и 32 образцов без злокачественной опухоли определялись количественные параметры изменения СТАЗФ, ЗФ типа Е, фосфоресценции (площади под кинетическими кривыми и показатели аппроксимирующих экспонент). Было обнаружено статистически значимое различие между злокачественными и нормальными тканями помощью t-критерия Стьюдента с уровнем значимости 0,05 для указанных величин. Полученные результаты могут найти применение в биомедицинской диагностике.

1. Letuta S.N. et al. Delayed luminescence of erythrosine in biological tissue and photodynamic therapy dosimetry // J. Photochem. Photobiol, B: Biology, 2016, vol. 163, pp. 231-236, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2016.08.036.

2. Letuta S.N., Ishemgulov A.T., Letuta U.G., Pashkevich S.N. Continuous in vivo monitoring of the oxygen concentration in tissues // Biophysics, 2018, vol. 63, no. 5, pp. 798-804, doi: 10.1134/S0006350918050160.

ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГЕМИНА И Zn^{II} -КОМПЛЕКСА ТЕТРА(4-ПИРИДИЛ)ПОРФИРИНА С ГЕКСАМОЛИБДЕНОНИКЕЛАТ-ПОЛИАНИОНОМ В ВОДНЫХ СРЕДАХ

Peculiarities of Hemine and Zn^{II} Complex of Tetra(4-pyridyl)porphyrin Interaction with Hexamolibdenicelate-polyanion in Aqueous Media.

Клименко И.В.¹, Китушина Е.В.^{1,2}, Лобанов А.В.^{1,2,3}

¹ Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, г. Москва, РФ, inna@deom.chph.ras.ru

² Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, г. Москва, РФ

³ Московский педагогический государственный университет, г. Москва, РФ

Спектроскопия порфиринов и их комплексов с металлами представляет собой актуальный раздел биохимической физики тетрапиррольных соединений (ТС). Молекулы производных ТС, формально представляющие производные порфирина, обладают макроциклической ароматической сопряженной системой двойных связей, которая обеспечивает делокализацию π -электронов по макроциклу. Характерными особенностями данной системы является наличие разветвления и присутствие гетероатомов в цепи сопряжения.

Так как порфирины и их производные являются важнейшими соединениями, участвующими во многих биологических процессах, большое значение приобретает возможность выявления новых стратегий разработки супрамолекулярных комплексов, используемых при ранней диагностике и лечении различных заболеваний. Создание данных гибридных соединений открывает новые области исследования и синтеза многофункциональных материалов, свойства которых являлись бы симбиозом магнитных, электрических и оптических параметров твердых тел.

В данной работе проводилось исследование взаимодействия комплекса железа(III) с протопорфирином IX (гемина) и комплекса цинка с тетра(4-пиридил)порфирином с кристаллогидратом гексамолибденоникелата натрия $Na_4[Ni(OH)_6Mo_6O_{18}] \cdot 8H_2O$ (гетерополисоединение, ГПС) в водных средах. Образование гибридных органо-неорганических структур наблюдали методами электронной абсорбционной спектроскопии и спектрофлуориметрии.

Сравнение спектров индивидуальных соединений и из смесей показывает, что совместное нахождение в растворе органического и неорганического компонентов приводит к образованию гибридных структур (комплексов). Так, в электронных спектрах поглощения смеси гемина и ГПС в воде проявляется новая полоса, не характерная для чистого гемина. Подобный эффект не обнаруживается при переводе гемина в водную среду из ДМФА. Спектральное поведение Zn-порфирина отражает его нахождение преимущественно в мономерной форме в комплексе с ГПС, тогда как в воде Zn-порфирин представлен молекулярными агрегатами.

Кроме того, в комплексах с ГПС наблюдается тушение флуоресценции Zn-порфирина, происходящее, по видимому, по механизму переноса электрона от порфирина к ГПС. Различия в спектральном поведении двух металлопорфиринов при взаимодействии с ГПС связаны прежде всего с отличием в их структуре.

Таким образом, присутствие в системах гексамолибденоникелата натрия позволяет стабилизировать в водной среде металлокомплексы порфиринов, что, по всей вероятности, связано с образованием гибридных органо-неорганических структур.

Проведенные исследования позволяют значительно расширить спектр применения ГПС и рассматривать данные соединения как перспективные с точки зрения фотобиологии и фотомедицины.

Работа выполнена в рамках Государственного задания ИБХФ РАН (№ гос. регистрации 01201253304) и в рамках проекта «Исследование проблем утилизации отходов природного происхождения в целях практического использования полученных продуктов» (122122600056-9).

ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССА АГРЕГАЦИИ ФТАЛОЦИАНИНА АЛЮМИНИЯ В ВОДНЫХ СРЕДАХ

Study of Aluminum Phthalocyanine Chloride Aggregation in Aqueous Media

Клименко И.В.¹, Астахова Т.Ю.¹, Тимохина Е.Н.¹, Лобанов А.В.^{1,2,3}

¹ Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, г. Москва, РФ, *inna@deom.chph.ras.ru*

² Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, г. Москва, РФ

³ Московский педагогический государственный университет, г. Москва, РФ

Фталоцианины (Фц) относятся к группе тетрапиррольных макрогетероциклических соединений и представляют собой органические красители, используемые во многих областях знаний, например, в нелинейной оптике, в различных электронных устройствах, в виде газовых сенсоров, оптических фильтров, фото- и электрокатализаторов химических реакций, а также в различных биомедицинских приложениях, например, в качестве фотосенсибилизаторов ((Фс), природные или искусственно синтезированные вещества, способные к фотосенсибилизации биологических тканей) в фотодинамической терапии (ФДТ), которая в последнее десятилетие стала одним из важнейших средств лечения онкологических и других видов заболеваний.

Однако наличие у Фц гидрофобных свойств, приводящих к образованию нефлуоресцирующих агрегатов и снижению фотодинамической активности [1], препятствует их широкому применению в различных фармакологических композициях. Поэтому при разработке способов контроля над агрегационным состоянием Фц необходимо понимание механизмов межхромороформного взаимодействия, приводящего к самотушению возбужденных состояний в агрегатах.

В данной работе с помощью методов оптического поглощения и флуоресценции изучен процесс агрегации фталоцианина алюминия (АлСлФц) в водной и водно-органической средах (раствор N, N-диметилформамида в воде, ДМФА-вода) в зависимости от соотношения воды в системе.

Полученные результаты демонстрируют зависимость фотофизических параметров АлСлФц от соотношения мономеров/димеров АлСлФц в системе, которое определяется концентрацией красителя и воды в растворе. Чем выше концентрация АлСлФц в растворе и чем больше доля воды в бинарной системе ДМФА-вода, тем выше степень агрегации Фц.

Экспериментальные результаты, полученные для водно-органической среды, свидетельствуют о существовании критической концентрации воды (~ 7,8%), при которой соотношение мономеров и димеров (J-агрегатов) АлСлФц резко изменяется.

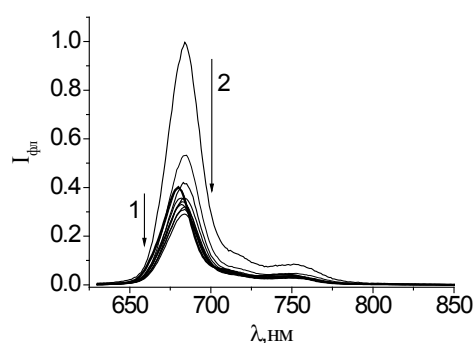


Рисунок 1. Спектры флуоресценции АлСлФц в растворе ДМФА-вода. $C_{H_2O} = 0-12,3$ об.%. Длина волны возбуждения $\lambda_{ex}=610$ нм. Стрелки показывают увеличение концентрации воды: 1 – от 0 до 6,7 об.%, 2 – от 7,8 до 12,3 об.%

Результаты исследования позволяют создать предпосылки для научного прогнозирования и контроля на молекулярном уровне межмолекулярных взаимодействий Фц в органических и водно-органических средах.

Работа выполнена в рамках Государственного задания ИБХФ РАН (№ гос. регистрации 01201253304).

1. Klimenko I.V., Trusova E.A., Shchegolikhin A.N. et al. Surface modification of graphene sheets with aluminum phthalocyanine complex // Fullerenes, Nanotubes and carbon nanostructures, 2022, vol. 30, no. 1, doi: 10.1080/1536383X.2021.1976754.

ВЛИЯНИЕ АСТАКСАНТИНА НА ИЗМЕНЕНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДИНАМИКИ В МИТОХОНДРИЯХ СЕРДЦА КРЫС В УСЛОВИЯХ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ

The effect of Astaxanthin on Changes in Mitochondrial Dynamics in Mitochondria of Rat Hearts under Conditions of Mitochondrial Dysfunction

Крестинин Р.Р., Бабурина Ю.Л., Сотникова Л.Д., Крестинина О.В.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино, Московская обл., РФ, rkrestinin@bk.ru

Одним из самых распространенных заболеваний считается инфаркт миокарда с последующим возникновением сердечной недостаточности. Хотя смертность после инфаркта миокарда снижается, увеличивается распространенность и тяжесть сердечной недостаточности. Следовательно, необходимы новые подходы в лечении для защиты миокарда сохранить функционирование сердца [1]. Участие митохондрий в патогенезе и прогрессировании многочисленных заболеваний, таких как рак, нейродегенеративные и сердечно-сосудистые заболевания, диабет, черепно-мозговая травма и воспаление, объясняется ключевой ролью, которую играют митохондрии в событиях, приводящих к гибели клетки [2]. Митохондрии - это динамические органеллы, которые подвергаются делению и слиянию – процессов необходимых для выживания клеток и адаптации к изменяющимся условиям, которые необходимы для роста клеток, деления и распределения митохондрий [3]. Когда митохондрии повреждены, слияние снимает стресс, позволяя функциональным митохондриям дополнять дисфункциональные митохондрии. Деление необходимо для создания новых митохондрий [4]. У млекопитающих деление митохондрий опосредуется родственным динамину белком 1 (Drp1), который представляет собой крупную ГТФазу [5]. Слияние митохондрий опосредуется такими белками, как митофузин 1 (Mfn1) и 2 (Mfn2) и атрофией зрительного нерва 1 (OPA1) [6]. Mfn1 и Mfn2 - динамин-связанные ГТФазы, которые участвуют в слиянии внешней митохондриальной мембраны, тогда как OPA1 участвует в слиянии внутренних митохондриальных мембран [7]. Благодаря действию лекарств может улучшаться функционирование митохондрий, при этом увеличивается количество здоровых митохондрий, которое происходит за счет ингибирования чрезмерного деления митохондрий, способствующее удалению поврежденных митохондрий. Такой подход может оказаться перспективной стратегией для лечения различных патологических состояний сердца. Ранее, мы изучили влияние астаксантина (АСТ), кето-каротиноида, на функционирование митохондрий сердца крыс, у которых повреждения были вызваны изопротеренолом (ИЗО). Обнаружили, что АСТ способен защищать митохондрии и предотвращать развитие сердечных заболеваний [8]. Кроме того, мы показали, что мишенью защитного действия АСТ может быть прохибитин (РНВ), белок выполняющий различные функции в митохондриях, одним из которых является регуляция «контроля качества» митохондрий [9]. В настоящей работе изучали влияние АСТ на функциональное состояние, изменение слияния/деления митохондрий и митофагии митохондрий сердца крыс после ИЗО-индуцированного повреждения. Гистологический анализ показал, что АСТ уменьшал дегенерацию и отек сердечных мышечных волокон (левый желудочек) при повреждении, вызванном ИЗО. ИЗО усиливал деление митохондрий и ингибировал слияние как внешней мембраны, так и внутренней митохондрий. В этих условиях снижалась митофагия. Эти события, вероятно, происходят из-за того, что содержание РНВ2 в митохондриях снижалось. Поврежденные митохондрии, не удаляются митофагией, накапливаются в митохондриальной сети, и функции митохондрий нарушаются (снижается дыхательный контроль, митохондрии более чувствительны к Ca^{2+} -индуцированному открытию поры неспецифической проницаемости, ускоряется набухание митохондрий). АСТ увеличивал содержание РНВ2, снижал деление, усиливал слияние внешней митохондриальной мембраны и восстанавливал митофагию. При этом улучшалось функциональное состояние митохондрий (повышался дыхательный контроль митохондрий и ёмкость Ca^{2+} , что приводило к замедлению открытия поры неспецифической проницаемости и ингибированию набухания). Мы заключили, что использование АСТ в терапии может быть перспективным подходом для профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

Работа выполнена при поддержке Государственного задания № 075-01025-23-00.

1. Hausenloy D.J., Botker H.E., Engstrom T. et al. Targeting reperfusion injury in patients with st-segment elevation myocardial infarction: Trials and tribulations // Eur. Heart J., 2017, vol. 38, p. 935-941, doi: 10.1093/eurheartj/ehw145.
2. Javadov S., Kozlov A.V., Camara A.K.S. Mitochondria in health and diseases // Cells, 2020, vol. 9, p. 1177, doi: 10.3390/cells9051177.
3. van der Blik A.M., Shen Q., Kawajiri S. Mechanisms of mitochondrial fission and fusion // Cold Spring Harb. Perspect. Biol., 2013, vol. 5, p. a011072, doi: 10.1101/cshperspect.a011072.
4. Scheffer D.D.L., Garcia A.A., Lee L. et al. Mitochondrial fusion, fission, and mitophagy in cardiac diseases: Challenges and therapeutic opportunities // Antioxid. Redox Signal, 2022, vol. 36, p. 844-863, doi: 10.1089/ars.2021.0145.
5. Westermann B. Mitochondrial fusion and fission in cell life and death // Nat. Rev. Mol. Cell Biol., 2010, vol. 11, pp. 872-884, doi: 10.1038/nrm3013.
6. Cipolat S. et al. Mitochondrial rhomboid parl regulates cytochrome c release during apoptosis via opa1-dependent cristae remodeling // Cell, 2006, vol. 126, pp. 163-175, doi: 10.1016/j.cell.2006.06.021.

7. Ni H.M., Williams J.A., Ding W.X. Mitochondrial dynamics and mitochondrial quality control // *Redox Biol.*, 2015, vol. 4, pp. 6-13, doi: 10.1016/j.redox.2014.11.006.
8. Krestinina O., Baburina Y., Krestinin R. Mitochondrion as a target of astaxanthin therapy in heart failure // *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, vol. 22, p. 7964, doi: 10.3390/ijms22157964.
9. Nijtmans L.G., de Jong L., Artal Sanz M. et al. Prohibitins act as a membrane-bound chaperone for the stabilization of mitochondrial proteins // *EMBO J.*, 2000, vol. 19, pp. 2444-2451, doi: 10.1093/emboj/19.11.2444.

**ОСОБЕННОСТИ САМОДИФФУЗИИ В СТВОЛЕ СПИННОГО МОЗГА ЛАБОРАТОРНОЙ
КРЫСЫ ПО ДАННЫМ ЯДЕРНОГО МАГНИТНОГО РЕЗОНАНСА С ИМПУЛЬСНЫМ
ГРАДИЕНТОМ МАГНИТНОГО ПОЛЯ**
**Self-diffusions in the Spinal Cord Stem of a Laboratory Rat According to NMR Pulsed
Magnetic Field Gradient Data**

Линцова П.С.¹, Шевченко Р.В.², Мельникова Д.Л.¹, Гнездилов О.И.¹, Гиматдинов Р.С.^{1,2}

¹ Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, РФ, rsgimatdinov@kpfu.ru

² Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, РФ, rgimatdinov@kazangmu.ru

Необходимым условием эффективной передачи электрических сигналов по аксонам позвоночных является их миелиновая оболочка, действующая как электрический изолятор. Миелиновая оболочка нервов состоит из повторяющихся бислоев разделенных водными цитоплазматическими, а также внеклеточными зазорами и ограничивает возникновение потенциалов действия между небольшими немиелинизированными узлами (перехватами Ранвье). Весовое содержание липидов в миелиновых оболочках в норме составляет 70-80%. Дегенерация миелиновой оболочки приводит к серьезным когнитивным и неврологическим нарушениям.

В настоящее время разрабатываются и применяются различные косвенные методы оценки содержания миелина в тканях головного и спинного мозга методом ядерного магнитного резонанса (ЯМР) основанные на измерении сигналов от молекул воды, находящихся между бислоями миелиновой оболочки (миелиновая вода). Учитывая растущий интерес к проблеме оценки доли миелина при нейровизуализации путем получения диффузионно взвешенных изображений МРТ, в данной работе исследованы особенности латеральной диффузии вдоль миелиновых оболочек молекул липидов, как основных компонентов, ассоциированных непосредственно с бислоями оболочки, а также анизотропия диффузии молекул воды в стволе спинного мозга лабораторной крысы. Измерения самодиффузии проводились на импульсном спектрометре ЯМР с Фурье-преобразованием Bruker Avance-III-400, оснащенный датчиком импульсного градиента магнитного поля, на ядрах ¹H на частоте 400,22 МГц. Для измерения коэффициентов самодиффузии (КСД) использовали импульсную последовательность “стимулированное эхо”. В ходе экспериментов регистрировались спады сигналов спинного эха (диффузионные затухания) в зависимости от амплитуды импульсного градиента в двух взаимно перпендикулярных направлениях (вдоль аксонов G_z и ортогонально к столбу спинного мозга G_x). При анализе диффузионных затуханий использовались соответствующие интегральные интенсивности в Фурье-спектрах эха сигналов ЯМР от липидной фракции и от молекул воды. Времена диффузии t_d (интервалы между градиентными импульсами) варьировались в широких пределах (от 10 до 1500 мс) для обнаружения и наблюдения режима пространственно-ограниченной диффузии, как наиболее чувствительного к морфологии системы.

Полученные диффузионные затухания (ДЗ) для молекул воды, диффундирующих в направлении градиента магнитного поля G_z (вдоль аксонов) не зависят от t_d. С другой стороны, наблюдается определенная зависимость ДЗ от t_d вдоль G_x и эффективный коэффициент самодиффузии молекул воды в направлении градиента G_x примерно в два раза меньше, чем вдоль G_z. Наблюдаемая анизотропия КСД молекул воды может служить косвенной оценкой параметра фракционной анизотропии обусловленной наличием непроницаемых для воды миелиновых оболочек. Для молекул липидов обнаружена ярко выраженная зависимость их латерального коэффициента диффузии от времени диффузии характерная для пространственно-ограниченной диффузии. Полученная из анализа этой зависимости оценка линейных размеров расстояний между ограничениями составляет порядка 2 мкм. Рассматривается вопрос о природе обнаруженных ограничений латеральной диффузии липидов, их связь с междуузлем и процессом демиелинизации.

**О ВЛИЯНИИ ТИМУСНОГО ГОРМОНА ТИМУЛИНА НА СОСТОЯНИЕ
ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ
АУТОИММУННОМ ЭНЦЕФАЛОМИЕЛИТЕ**
**Effects of Thymic Hormone Thymulin on Blood-barrier Condition in Experimental Autoimmune
Encephalomyelitis**

Лунин С.М.¹, Кузекова А.А.¹, Ерилина Д.А.², Новоселова Е.Г.¹, Глушкова О.В.¹, Парфенюк С.Б.¹,
Мубаракшина Э.К.¹, Новоселова Т.В.¹, Хренов М.О.¹

¹ Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино, Московская область, РФ, lunin@rambler.ru

² Государственный университет «Дубна», г. Пущино, Московская область, РФ

Рассеянный склероз (РС) и его общепринятая модель – экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит (ЭАЭ), поражает преимущественно центральную нервную систему и сопровождается тяжелыми неврологическими симптомами: тремор, потеря ориентации и координации, утрата зрения, частичный или полный паралич. Все это является следствием повреждения патологическими аутореактивными иммунными клетками миелиновых оболочек отростков нейронов и нарушения связей между нервными клетками. Ранее нами было показано достаточно высокая эффективность тимусного пептидного гормона тимулина при ЭАЭ [1]. Было продемонстрировано, что тимулин существенно снижает воспалительный аутоиммунный цитокиновый ответ и улучшает общее состояние животных. Вместе с тем, нейрональное воспаление при рассеянном склерозе характеризуется нарушением гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) и инфильтрацией лейкоцитов, преимущественно, Т-лимфоцитов, в центральную нервную систему [2], поэтому одной из стратегий лечения РС является восстановление целостности ГЭБ. Влияние тимулина на состояние ГЭБ ранее не исследовалось.

В представленной работе благоприятный эффект тимулина на состояние животных с ЭАЭ подтверждается – практически у всех животных наблюдалось исчезновение неврологических симптомов. При этом индукция ЭАЭ (осуществляемая введением адьювантом Фрейнда в сочетании с миелиновым белком PLP и коклюшным токсином) вызвала нарушение целостности ГЭБ. Первые признаки (рост содержания белка межклеточных контактов окклюдина-1 в крови) наблюдались еще до появления симптомов, а прямое измерение проницаемости ГЭБ по накоплению синего красителя Эванса в мозге показало более выраженные изменения на ранних, чем на поздних стадиях ЭАЭ (т.е. ГЭБ имел тенденцию спонтанно восстанавливаться, хотя и не до нормального состояния). Тимулин значительно снижал патологически увеличенную проницаемость ГЭБ, судя как по накоплению красителя Эванса, так и по раннему выбросу окклюдина-1 в кровь. Кроме этого, тимулин восстанавливал сниженное вследствие ЭАЭ содержание белков межклеточных контактов в тканях мозга. С восстановлением целостности ГЭБ также под действием тимулина коррелировало снижение инфильтрации лимфоцитов в спинной мозг. Кроме этого, показано, что возможным механизмом положительного влияния тимулина может быть обнаруженное нами подавление экспрессии в тканях головного мозга NADPH-оксидаз, повышенная экспрессия и активность которых играют важнейшую роль в оксидативном стрессе и нарушениях функции ГЭБ различной этиологии [3].

Таким образом, был продемонстрирован новый подход к восстановлению функций ГЭБ на модели рассеянного склероза, а также показаны возможные механизмы благоприятного эффекта тимусного гормона тимулина при этой аутоиммунной патологии.

Работа поддержана грантом РФФИ № 22-24-00076.

1. Lunin S.M., Khrenov M.O., Glushkova O.V. et al. Immune response in the relapsing-remitting experimental autoimmune encephalomyelitis in mice: The role of the NF- κ B signaling pathway // *Cell Immunol.*, 2019, vol. 336, pp. 20-27, doi: 10.1016/j.cellimm.2018.12.003.
2. Alvarez J.I., Cayrol R., Prat A. Disruption of central nervous system barriers in multiple sclerosis // *Biochim. Biophys. Acta*, 2011, vol. 1812, pp. 252-264.
3. Hernandez M.S., Xu Q., Griendling K.K. Role of NADPH Oxidases in Blood-Brain Barrier Disruption and Ischemic Stroke // *Antioxidants (Basel)*, 2022, vol. 11, no. 10, p. 1966, doi: 10.3390/antiox11101966, PMID: 36290688, PMCID: PMC9598888.

ОБ ИНФОРМАТИВНЫХ ВОЗМОЖНОСТЯХ И РЕЗУЛЬТАТАХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ГРВ-ВИЗУАЛИЗАЦИИ БЕЛОК-ИНДУЦИРОВАННЫХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ КОМПЛЕКСОВ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ ТАБЛЕТИРОВАННЫХ ПРЕПАРАТОВ, СОДЕРЖАЩИХ АНТИТЕЛА К ИНТЕРФЕРОНУ- γ

On the informative possibilities and results of experimental investigations of GDV imaging of protein-induced molecular complexes in aqueous solutions of tablet preparations containing antibodies to interferon- γ

Масленникова О.М.¹, Шипко М.Н.², Сибирев А.Л.², Степович М.А.³

¹ Центральная государственная медицинская академия Управления делами Президента РФ, г. Москва, РФ, *o.m.maslennikova@gmail.com*

² Ивановский государственный энергетический университет им. В.И. Ленина, г. Иваново, РФ, *michael-1946@mail.ru, alsibirev@mail.ru*,

³ Калужский государственный университет им. К.Э. Циолковского, г. Калуга, РФ, *m.stepovich@rambler.ru*

Методом газоразрядной визуализации (ГРВ) (см. [1-3] и литературу там же) изучены изменения позиционного порядка в расположении белок-индуцированных водных ассоциатов в водных растворах таблетированных лекарственных препаратов, содержащих антитела к интерферону- γ . Использовали водные растворы таблетированных форм, полученные нанесением растворов антител (концентрацией 10^{-24} мг/мл) на носитель (89 % сырьевой лактозы, 10 % микрокристаллической целлюлозы, 1 % стеарата магния). Исследования выполнены на приборе «ГРВ-камера» медицинского назначения [1]. Анализ ГРВ-изображений растворов позволил определить характеристики каналов облегченного движения электронов и, как следствие, параметры молекулярных ассоциатов, образующих стенки каналов: энтропию (по Шенону) dS , отображающую специфику пространственного расположения и конфигурацию ближнего порядка молекулярных ассоциатов; фрактальность по изолинии, определяемую уровнем пространственного самоподобия и характеризующую специфику процессов самоорганизации в растворе; длину изолинии, пропорциональную свободной энергии Гиббса [4]. Анализ концентрационных зависимостей отклонений перечисленных параметров для растворов, содержащих белковые антитела, от аналогичных параметров для очищенной воды показал следующее. С ростом концентрации вещества таблетированных образцов C (мг/мл) наблюдалось увеличение энтропии dS (см. рис. 1: кривая 1 – содержащие антитела, кривая 2 – не содержащие антитела). При этом относительные изменения энтропии для образцов с антителами (верхняя кривая) превышают соответствующие изменения для растворов, их не содержащих (нижняя кривая). Это указывает на специфическое влияние антител на пространственное

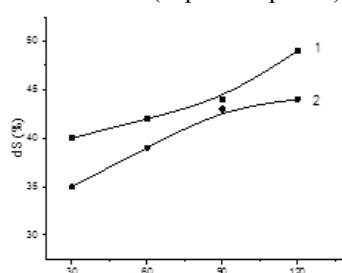


Рисунок 1

расположение водных ассоциатов в растворах, что находится в согласии с концентрационным изменением параметра фрактальности по изолинии. Повышение концентрации антител в растворе обеспечивает интенсификацию кооперативных межмолекулярных взаимодействий между водными ассоциатами. Это может быть связано со специфической структурной организацией раствора на микроуровне, определяющей процессы самоорганизации [4]. Следовательно, несмотря на низкую концентрацию антител в растворах (около 10^{-24} мг/мл), недостаточную для существенных изменений в его материально-энергетическом балансе, наличие молекулярных комплексов растворителя обеспечили формирование специфических водных ассоциатов, изменяющих свободную энергию Гиббса. С учетом изменений энтропии, активация растворов антителами к интерферону- γ связана с интенсификацией ассоциативных процессов, сопровождающихся упорядочением белок-индуцированных молекулярных комплексов [5]. Полученные результаты подтверждают данные о сохранении в растворах таблетированных образцов с антителами к интерферону водных ассоциатов, сформированных в процессе сверхвысокого разведения [3].

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда и Правительства Калужской области № 23-21-10069, <https://rscf.ru/project/23-21-10069/>.

1. Коротков К.Г. Принципы анализа ГРВ биоэлектрографии. Санкт-Петербург: Реноме, 2007, 286 с.

2. Шипко М.Н., Степович М.А., Сибирев А.Л. и др. Ориентационные эффекты при каналировании киловольтных электронов в жидких средах // Известия РАН. Серия физическая, 2020, т. 84, № 7, с. 994-997, doi: 10.31857/S0367676520070273.

3. Масленникова О.М., Шипко М.Н., Сибирев А.Л., Степович М.А. Особенности белок-индуцированных ассоциатов при сверхвысоком разведении антител к интерферону- γ // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2022, т. 7, № 3, с. 467-475.

4. Эпштейн О.И. Феномен релиз-активности и гипотеза пространственного гомеостаза // Успехи физиологических наук, 2013, т. 44, № 3, с. 54-76.

5. Don E., Van der Meide N., Egorov V. et al. The level of natural anionantibodies to IFN-gamma in varicella infection treated with antiviral drug Anaferon for children: A pilot Study // Immunology Letters, 2020. vol. 222, pp. 90-94, doi: 10.1016/j.imlet.2019.10.015.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ АНТИБИОТИКОВ МЕТОДОМ КОНФОКАЛЬНОЙ МИКРОСКОПИИ

Investigation of Intracellular Fluorescence of Antitumor Antibiotics by Confocal Microscopy

Мегер Я.В., Ращенкова И.И., Степанов А.В., Лантушенко А.О.
Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ

Многие противоопухолевые лекарственные препараты проявляют свою цитотоксическую активность путем взаимодействия с ядерной ДНК, вместе в тем существует ряд препаратов, которые связываются с другими внутриклеточными мишенями. Для исследования механизма действия вновь синтезированных препаратов определение локализации мишени является важной научной задачей. При наличии способности к флуоресценции эффективным методом для подобных исследований является конфокальная микроскопия благодаря высокой пространственной разрешающей способности и детекции сигнала в узком диапазоне высот в области фокусировки [1].

В данной работе на модельных соединениях противоопухолевых антибиотиков доксорубина и новатрона исследована динамика накопления препарата внутри клетки, его внутриклеточная локализация и оценена минимальная концентрация препарата, флуоресценция которого превышает фоновую флуоресценцию клеток. Исследования проводились на клеточной линии меланомы. Клетки из культуральных флаконов пересевались в 6-ти луночный планшет, исходная концентрация клеток составляла 10^6 /мл, инкубировались в течение суток, далее производилось удаление питательной среды и трехкратная отмывка клеток холодным PBS буфером. Далее в каждую лунку добавлялось по 1,5 мл PBS буфера и препараты в концентрациях 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} М для новатрона и $6,8 \cdot 10^{-6}$, $2,72 \cdot 10^{-7}$, $5,4 \cdot 10^{-8}$, $5,4 \cdot 10^{-9}$ М для доксорубина.

Исследование проводилось на лазерном сканирующем конфокальном микроскопе Leica Stellaris 5 (Германия). При помощи послойной съемки и реконструкции трехмерной структуры клеток определялась интегральная флуоресценция по всему объему клетки. Определялась средняя флуоресценция клетки, отнесенная к единице площади, за вычетом фоновой флуоресценции. Выборка из трех случайным образом выбранных областей лунки планшета включала в себя 50 клеток, половина из которых были прикреплены к дну лунки. Временная серия снималась в течении 150 минут, после чего интенсивность интегральной флуоресценции по всем клеткам усреднялась.

При добавлении доксорубина увеличение флуоресцентного сигнала, соответствующего накоплению клеткой препарата, наблюдалось в течение часа, далее флуоресценция существенным образом не изменялась. Минимальная концентрация доксорубина, при которой можно осуществить достоверную детекцию сигнала, составила 10^{-8} М.

При использовании новатрона накопление внутриклеточного сигнала наблюдалось в течение часа, минимально детектируемая концентрация составила 10^{-9} М.

Интересно отметить, что при использовании новатрона наблюдается тренд к снижению общей флуоресценции исследуемого кадра (с учетом внутри- и внеклеточной части) с течением времени, что скорее всего связано с образованием продуктов взаимодействия антибиотика с мишенью, не обладающих способностью к флуоресценции. Данный эффект был явным образом выражен при низких концентрациях препарата.

Работа проводилась в рамках гранта РФФИ №23-73-00130 «pH/ATФ-зависимая активация конъюгатов ДНК-аптамеров с эндофуллереами для тераностики рака»

1. Waddell A., Star P., Guitera P. Advances in the use of reflectance confocal microscopy in melanoma // Melanoma management, 2018, vol. 5, no. 01, p. MMT04.

МЕЛОКСИКАМ ОСЛАБЛЯЕТ ЭФФЕКТ ИММУНОМОДУЛЯТОРА ГЛУТОКСИМА НА ТРАНСПОРТ Na^+ В ЭПИТЕЛИИ КОЖИ ЛЯГУШКИ

Meloxicam Attenuates the Effect of Immunomodulator Glutoxim on Na^+ Transport in Frog Skin Epithelium

Мельницкая А.В.¹, Крутецкая З.И.¹, Антонов В.Г.², Крутецкая Н.И.¹, Бадюлина В.И.¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, РФ

² Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, г. Санкт-Петербург, РФ,
a.melnitskaya@spbu.ru

Исследование механизмов трансэпителиального транспорта веществ является интенсивно развивающимся направлением современной биофизики, физиологии и медицины. В последние годы значительно возрос интерес к работе окислительно-восстановительных систем клеток и их влиянию на различные процессы в норме и патологии. Ранее нами было впервые показано, что транспорт Na^+ в коже лягушки модулируется различными окисляющими агентами, такими как окисленный глутатион (GSSG) и глутоксим® (динатриевая соль GSSG с

нанодобавкой d-металла, «ФАРМА – ВАМ», Санкт-Петербург), приложенными к апикальной или базолатеральной поверхности кожи [1]. Фармакологические аналоги GSSG широко применяются в современной медицине в качестве иммуномодуляторов и цитопротекторов в комплексной терапии бактериальных, вирусных и онкологических заболеваний, однако тонкие биофизические механизмы действия этих препаратов далеки от полного понимания.

Известно, что арахидоновая кислота (АК) и ее производные являются важными сигнальными молекулами, выступающими в качестве местных гормонов и медиаторов, играющих важную роль в регуляции различных физиологических и патофизиологических процессов [2]. В почках и других реабсорбирующих эпителиях АК и ее производные (преимущественно продукты циклооксигеназного пути окисления АК – простагландины) участвуют в регуляции транспорта ионов и воды [3,4]. В связи с этим, представлялось целесообразным исследовать возможную роль циклооксигеназного пути окисления АК в регуляции глутоксимального транспорта Na^+ в эпителии кожи лягушки. В экспериментах использовали ингибитор циклооксигеназы (ЦОГ) – мелоксикам – нестероидный противовоспалительный препарат (НПВП), производное эноловой кислоты, проявляющий селективность в отношении ЦОГ-2 по сравнению с ЦОГ-1 [5].

Эксперименты проводили на самцах лягушки *Rana temporaria* в период с ноября по март. Кожу с брюшка лягушки срезали и помещали в камеру Уссинга («World Precision Instruments, Inc.», Германия) с диаметром внутреннего отверстия 12 мм. Для измерения электрических параметров кожи лягушки использовали автоматизированную установку фиксации потенциала и регистрации вольт-амперных характеристик (ВАХ). В интервалах между измерениями ВАХ 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 ВАХ 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 амилоридчувствительный I_{SC} .

Впервые показано, что преинкубация базолатеральной поверхности кожи с 40 мкМ мелоксикама в течение 30 мин до добавления к той же поверхности кожи 100 мкг/мл глутоксида, существенно ослабляет стимулирующее влияние глутоксида на транспорт Na^+ . Полученные результаты свидетельствуют об участии циклооксигеназного пути окисления АК в регуляторном действии глутоксида на транспорт Na^+ в эпителии кожи лягушки.

Известно, что некоторые клинические случаи требуют совместного применения глутоксида и НПВП. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что совместное применение глутоксида и мелоксикама нежелательно, т.к. может привести к ослаблению терапевтического эффекта глутоксида.

1. Крутецкая З.И., Лебедев О.Е., Мельникова А.В. и др. Влияние дисульфидсодержащих соединений на транспорт Na^+ в коже лягушки // Доклады РАН, 2008, т. 421, № 5, с. 709-712.

2. Wang B., Wu L., Chen J. et al. Metabolism pathways of arachidonic acids: mechanisms and potential therapeutic targets // Signal transduct. targ. ther., 2021, vol. 26, no. 6 (1), p. 94, doi: 10.1038/s41392-020-00443-w.

3. Els W.J., Helman S.H. Dual role of prostaglandins (PGE_2) in regulation of channel density and open probability of epithelial Na^+ channels in frog skin (*R. pipiens*) // J. Membr. Biol., 1997, vol. 155, no. 1, pp. 75-87, doi: 10.1007/s002329900159.

4. Shakhmatova E.I., Kuznetsova A.A., Prutskova N.P. et al. The effect of cyclooxygenase inhibitors on ion and water transport in the human kidney and frog skin and bladder // Rossiiskii fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova, 1997, vol. 83, no. 10, pp. 68-75.

5. Engelhardt G., Bögel R., Schnitzler Chr., Utmann R. Meloxicam: Influence on arachidonic acid metabolism Part II. In vivo findings // Biochem. Pharmacol., 1996, vol. 51, no. 8, pp. 29-38, doi: 10.1016/0006-2952(95)02110-8.

СОЕДИНЕНИЕ BD-1063 ПОДАВЛЯЕТ Ca^{2+} -ОТВЕТЫ, ИНДУЦИРУЕМЫЕ ИММУНОМОДУЛЯТОРОМ МОЛИКСАНОМ В МАКРОФАГАХ

Compound BD-1063 Attenuates Ca^{2+} Responses Induced by Immunomodulator Molixan in Macrophages

Миленина Л.С.¹, Крутецкая З.И.¹, Антонов В.Г.², Крутецкая Н.И.¹, Бадюлина В.И.¹, Симонян А.О.¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, РФ

² Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, г. Санкт-Петербург, РФ,
l.milenina@spbu.ru, z.krutetskaya@spbu.ru

Рецепторы сигма-1 – повсеместные многофункциональные лигандрегулируемые молекулярные шапероны в мембране эндоплазматического ретикулума, имеющие уникальную историю, структуру и фармакологический профиль. Эти рецепторы экспрессированы в клетках различных типов, включая иммунные. Выполняя функции шаперонов, рецепторы сигма-1 взаимодействуют с белками-мишенями (ионными каналами, рецепторами в плазмалемме и др.) и модулируют широкий спектр клеточных процессов в норме и патологии, включая процессы Ca^{2+} -сигнализации [1,2].

Фармакологический аналог окисленного глутатиона препарат моликсан® («ФАРМА-ВАМ», Санкт-Петербург) используется как иммуномодулятор и цитопротектор в комплексной терапии бактериальных,

вирусных и онкологических заболеваний [3]. Клинические исследования показали, что моликсан эффективен в профилактике и лечении коронавирусной инфекции COVID-19. Приводит к более быстрому регрессу тяжести заболевания в более легкую форму [4]. Ранее нами было впервые показано, что моликсан увеличивает внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} , $[Ca^{2+}]_i$, вызывая мобилизацию Ca^{2+} из тапсигаргинчувствительных Ca^{2+} -депо и последующий депозависимый вход Ca^{2+} в перитонеальные макрофаги крысы [5]. Для выявления участия рецепторов сигма-1 во влиянии моликсана на $[Ca^{2+}]_i$ в макрофагах и в регуляции процессов Ca^{2+} -сигнализации в макрофагах в целом, исследовали влияние лиганда рецепторов сигма-1, соединения BD-1063, на Ca^{2+} -ответы, вызываемые моликсаном в перитонеальных макрофагах крысы. Соединение BD-1063 – 1-[2-(3,4-дихлорофенил)этил]-4-метилпиперазин дигидрохлорид – является эффективным и избирательным антагонистом рецепторов сигма-1 [6].

Эксперименты проводили на культивируемых резидентных перитонеальных макрофагах крыс линии Wistar на автоматизированной установке для измерения $[Ca^{2+}]_i$ на базе флуоресцентного микроскопа Leica DM 4000B (Leica Microsystems, Германия). Для измерения $[Ca^{2+}]_i$ использовали флуоресцентный зонд Fura-2AM (Sigma-Aldrich, США). Значения $[Ca^{2+}]_i$ рассчитывали по уравнению Гринкевича [7]. Статистический анализ проводили с применением критерия *t* Стьюдента. Достоверными считали различия при $P \leq 0,05$.

Впервые обнаружено, что антагонист рецепторов сигма-1, соединение BD-1063, подавляет обе фазы Ca^{2+} -ответов, вызываемых моликсаном в перитонеальных макрофагах. Показано, что предварительная инкубация макрофагов с 60 мкМ BD-1063 в течение 40 мин до введения 100 мкг/мл моликсана приводит к значительному подавлению как мобилизации Ca^{2+} из внутриклеточных Ca^{2+} -депо (на $50,8 \pm 9,3\%$, $n = 7$; $P < 0,05$), так и последующего депозависимого входа Ca^{2+} в клетки (на $54,0 \pm 10,1\%$, $n = 7$, $P < 0,05$), индуцируемых моликсаном. Кроме того, выявлено, что добавление 60 мкМ BD-1063 на фоне развившегося входа Ca^{2+} , индуцированного моликсаном, вызывает значительное (на $63,1 \pm 8,5\%$, $n = 12$; $P < 0,05$) подавление депозависимого входа Ca^{2+} в макрофаги. Полученные нами данные свидетельствуют об участии рецепторов сигма-1 в комплексном сигнальном каскаде, вызываемом моликсаном и приводящем к увеличению $[Ca^{2+}]_i$ в макрофагах, а также об участии сигма-1 рецепторов в регуляции депозависимого входа Ca^{2+} в макрофагах.

1. Schmidt H.R., Kruse A.C. The molecular function of σ receptors: past, present, and future // Trends Pharmacol. Sci., 2019, vol. 40, no. 9, pp. 636-654.

2. Aishwarya R., Abdullah C.S., Morshed M. et al. Sigmar1's molecular, cellular, and biological functions in regulating cellular pathophysiology // Front. Physiol., 2021, vol. 12, p. 705575, doi: 10.3389/fphys.2021.705575.

3. Borisov A.E., Kozhemyakin L.A., Antushevich A.E. et al. Clinical and experimental grounds of the regional and systemic administration of the thiopoetin group medicines for cirrhosis of the liver // Vestnic hirurgii im. I.I. Grekova, 2001, vol. 4, no. 2, pp. 32-38 (In Russ.).

4. Dubina M.V., Gomonova V.V., Taraskina A.E. et al. Pathogenesis-based pre-exposure prophylaxis associated with low risk of SARS-CoV-2 infection in healthcare workers at a designated COVID-19 hospital. 2020, doi: 10.1101/2020.09.25.20199562 (medrxiv.org 06.10.2020).

5. Kurilova L.S., Krutetskaya Z.I., Lebedev O.E. et al. The effect of drug molixan on Ca^{2+} signaling processes in macrophages // Tsitologiya, 2011, vol. 53, p. 708 (In Russ.).

6. Matsumoto R.R., Bowen W.D., Tom M.A. et al. Characterization of two novel sigma receptor ligands: antidystonic effects in rats suggest sigma receptor antagonism // Eur. J. Pharmacol., 1995, vol. 280, pp. 301-310.

7. Gryniewicz G., Poenie M., Tsien R.Y. A new generation of Ca^{2+} indicators with greatly improved fluorescence properties // J. Biol. Chem., 1985, vol. 260, pp. 3440-3450.

О СУБСТРАТНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ И НЕКОТОРЫХ СВОЙСТВАХ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ОКСИДАЗЫ ИЗ БАЗИДИОМИЦЕТА *NEONOTHOPANUS NAMBI*

On the Substrate Specificity and Some Properties of the Extracellular Oxidase from the *Neonothopanus nambi* Basidiomycete

Могильная О.А., Ронжин Н.О., Посохина Е.Д., Бондарь В.С.

Институт биофизики ФИЦ КНЦ СО РАН, г. Красноярск, РФ, ol_mog@mail.ru

Базидиальные грибы обладают уникальным набором ферментных систем, участвующих в разложении растительных биополимеров (лигнин и целлюлоза). Благодаря значительной окислительно-восстановительной способности грибных ферментных систем, исследователи интенсивно изучают возможности их применения для деградации ксенобиотиков и биоремедиации загрязненных природных объектов. Высокая селективность, образование малотоксичных продуктов в ходе катализируемых реакций, сохранение функциональной активности в широком диапазоне pH, температур, концентраций поллютантов и, что важно, без привлечения медиаторов, позволяют говорить о перспективности использования грибных ферментов (и грибных ферментных систем) в разработке «зеленых» биотехнологий. Однако следует сказать, что в ряде случаев применение в аналитических приложениях секретрируемых грибных оксидаз затруднено из-за их недостаточной стабильности. Это стимулирует исследования, направленные на поиск новых видов базидиомицетов в качестве перспективных

источников получения оксидоредуктаз, изучение возможностей увеличения продукции этих ферментов в грибной биомассе и повышения их резистентности, выявление грибных оксидаз с новыми свойствами [1-3]. Ранее из мицелия базидиомицета *Neonothopanus nambi* (штамм IBSO 2391 из Коллекция культур микроорганизмов ССИБСО 836 Института биофизики ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск) с помощью мягкой обработки биомассы β -глюкозидазой нами был выделен внеклеточный фермент с оксидазной активностью [4]. Было показано, что выделенный фермент имеет величину нативной молекулярной массы 80-85 кДа, не содержит хромофорных компонентов и катализирует окисление вератрилового спирта с величиной кажущейся $K_m = 0,58$ мМ.

В предлагаемой работе приводятся экспериментальные данные о субстратной специфичности и некоторых дополнительных свойствах внеклеточной оксидазы из базидиомицета *N. nambi* IBSO 2391.

Методические особенности получения биомассы грибного мицелия и выделения из нее изучаемого фермента подробно изложены нами в предыдущей работе [4]. Для исследований субстратной специфичности внеклеточной оксидазы использовали ряд ароматических соединений, имеющих структурные отличия. Активность фермента оценивали при нейтральных (рН 7,0) и слабокислых (рН 6,0) условиях.

Как показали эксперименты, внеклеточная оксидаза гриба *N. nambi* IBSO 2391 проявляла активность с большинством соединений, выбранных в качестве модельных субстратов. При этом следует отметить, что фермент проявлял каталитическую функцию без добавки в реакционную смесь пероксида водорода и иных дополнительных медиаторов. Наибольшая активность фермента наблюдалась при использовании в качестве субстратов вератрилового спирта и двухатомных фенолов – гидрохинона и гваякола. В реакциях с другими двухатомными фенолами (резорцин и кофейная кислота) и монофенолом каталитическая эффективность фермента была существенно ниже. Невысокую активность фермент показал в реакциях с ароматическими азосоединениями (АБТС, диаминобензидином, о-дианизидином) и не проявлял активность с тирозином.

Для активно окисляемых субстратов были определены кинетические параметры ферментативных реакций. Из кинетических характеристик следует, что внеклеточная оксидаза базидиомицета *N. nambi* IBSO 2391 обладает наилучшим родством к вератриловому спирту и окисляет его с наибольшей эффективностью ($K_m = 0,52$ мМ, $k_{cat} = 97$ сек⁻¹, $k_{cat}/K_m = 186$ мМ⁻¹сек⁻¹). С меньшей эффективностью фермент окисляет гидрохинон ($K_m = 0,67$ мМ, $k_{cat} = 88$ сек⁻¹, $k_{cat}/K_m = 132$ мМ⁻¹сек⁻¹) и гваякол ($K_m = 0,72$ мМ, $k_{cat} = 47$ сек⁻¹, $k_{cat}/K_m = 65$ мМ⁻¹сек⁻¹). Следует сказать, что добавки хелатора двухвалентных ионов металлов (ЭДТА) не влияли на активность фермента, что может свидетельствовать об их отсутствии в молекуле фермента. В то же время, добавки SH реагента (дитиотрептола) увеличивали каталитическую эффективность изучаемой оксидазы. Механизм этого феномена пока не понятен и требует отдельного исследования.

Совокупность полученных данных свидетельствует, что внеклеточная оксидаза гриба *N. nambi* IBSO 2391 катализирует окисление широкого спектра ароматических соединений в слабокислых и нейтральных условиях без добавления дополнительных медиаторов (в частности, пероксида водорода). Это создает предпосылки для изучения применимости фермента в биомедицинской аналитике.

1. Zhang D. et al. Removal of pharmaceuticals and personal care products in aquatic plant-based systems: A review // *Environmental Pollution*, 2014, vol. 184, doi: 10.1016/j.envpol.2013.09.009.

2. Savino S., Fraaije M.W. The vast repertoire of carbohydrate oxidases: An overview // *Biotechnology advances*, 2021, vol. 51, doi: 10.1016/j.biotechadv.2020.107634.

3. Shebanova A.D. et al. Novel biocatalyst from *Microthielavia ovispora* VKM F-1735 for industrial dye decolorization in the absence of mediators // *Process Biochemistry*, 2021, vol. 109, doi: 10.1016/j.procbio.2021.07.009.

4. Ronzhin N.O. et al. Extracellular oxidases of basidiomycete *Neonothopanus nambi*: isolation and some properties // *Doklady Biochemistry and Biophysics*, 2020, vol. 490, doi: 10.1134/S1607672920010135.

STATISTICAL EVALUATION FOR BACTERIA ELECTRO-STIMULATION USING THE DUNNETT METHOD FOR A MICROBIAL FUEL CELL

Montiel del Cueto A.M., Hernandez Santiago A.A., Gonzalez Flores M., Mendez Albores E.,
Gonzalez Fuentes M.A.

Meritorious Autonomous University of Puebla, Puebla, Mexico

A microbial fuel cell is a bioelectrochemical device that uses microorganisms such as electrogenic bacteria, which are capable of generating electricity [1-3]. However, the electrical energy generated depends mainly on the ability of the microorganisms present in the anode to decompose the organic matter contained in an effluent. In this work, an electrochemical environment consisting of an anode and cathode carbon felt connected in an electrical circuit was used to electrostimulate microorganisms in order to enhance the biofilm on the anode. In this sense, different potential values were imposed in several electrochemical cells to evaluate COD, volatile solids and bacteria increase. Dunnett method was used to find significant differences between treatments, taking a sample without treatment as the control sample.

1. Mateo F., Hernández F., Pérez A. et al. Aplicación de la tecnología de Pilas de Combustible Microbianas en depuración de aguas de origen urbano e industrial con producción simultánea de energía eléctrica // *Anuario de Jóvenes*, 2014.

2. Cercado B., Cházaro-Ruiz L.F., Ruiz V. et al. Biotic and abiotic characterization of bioanodes formed on oxidized carbon electrodes as a basis to predict their performance // *Biosensors and Bioelectronics*, 2013, vol. 50, pp. 373-381, doi: 10.1016/j.bios.2013.06.051.

3. Czerwińska-Główka D., Krukiewicz K. A journey in the complex interactions between electrochemistry and bacteriology: From electroactivity to electromodulation of bacterial biofilms // *Bioelectrochemistry*, 2020, vol. 131, doi: 10.1016/j.bioelechem.2019.107401.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЛИПОПОЛИСАХАРИД-СВЯЗЫВАЮЩИХ БЕЛКОВ С РАЗЛИЧНЫМИ ФОРМАМИ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ

Interaction of Lipopolysaccharide-binding Proteins with Various Forms of Lipopolysaccharides

Набережных Г.А., Давыдова В.Н., Соловьева Т.Ф.

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, г. Владивосток, РФ, naber1953@mail.ru

Выделены и очищены катионнообменной хроматографией липополисахарид-связывающие белки (ЛСБ) из двух массовых видов медуз *Aurelia aurita* и *Rhopilema asamushi* и изучено взаимодействие разных форм ЛПС с ЛСБ. В ЛСБ присутствует два типа сайтов связывания. Оба белка специфически связываются с липидным и коровым компонентами ЛПС. Константу диссоциации для одного класса рецепторов $K_d = 3,28 \cdot 10^{-6}$ М, а для второго класса рецепторов $K_d = 0,13 \cdot 10^{-6}$ М для аурелии и $K_d = 3,66 \cdot 10^{-6}$ М and $K_d = 0,27 \cdot 10^{-6}$ М для ропилемы. Связывание ЛСБ с ЛПС приводит к диссоциации мицелл ЛПС, что установлено с помощью измерения интенсивности флуоресценции ФИТЦ-ЛПС под воздействием ЛСБ и определения размеров ЛПС методом динамического светорассеивания. Показано, размеры ЛПС уменьшаются с 200 нм до 25-30 нм в составе комплексов ЛПС-ЛСБ.

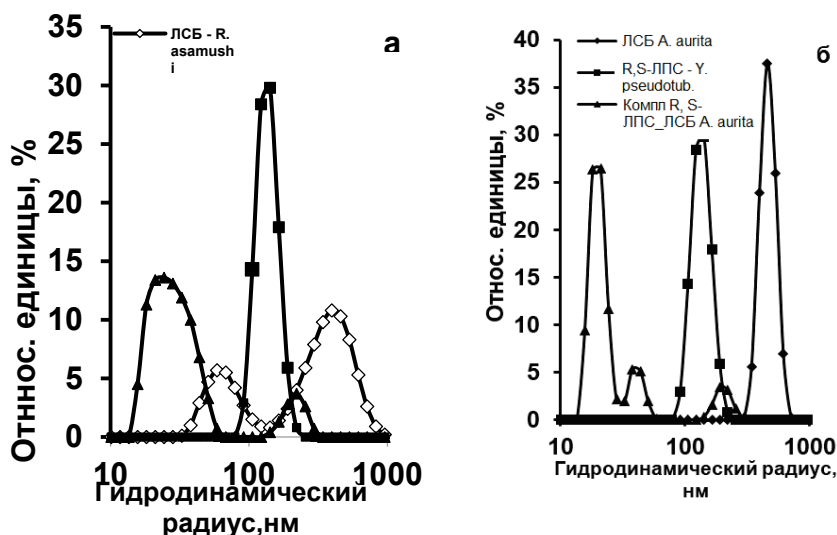


Рисунок 1. Объемное распределение по размеру частиц ЛСБ из *R. asamushi* (1а), *A. aurita* (1б), R,S-ЛПС *Y. pseudotuberculosis* (2а,б), комплексов ЛСБ из *R. asamushi* с R,S-ЛПС (3а), *A. aurita* с R,S-ЛПС (3б).

Данные электрокинетических измерений так же указывают на дезагрегацию ЛПС. Происходит нейтрализация отрицательного заряда R-ЛПС (-42,2 мВ) в комплексе ЛПС-ЛСБ-Ропилема до -4,4 мВ. Мицеллы длинноцепочечного S-ЛПС из *E. coli* слабо дезагрегируют при связывании с ЛСБ, что, по-видимому, связано с экранированием липида А О-специфическими цепями в молекуле S-ЛПС. Связывание ЛПС с ЛСБ может оказывать влияние на эндотоксические свойства ЛПС.

ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ОПТИЧЕСКОГО ДИАПАЗОНА ПРИ ОНКОГЕНЕЗЕ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИНТЕНСИВНОСТИ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В ОРГАНИЗМЕ КРЫС
Features of the Action of Low-Intense Electromagnetic Radiation of the Optical Range during Oncogenesis Depending on the Intensity of Oxidation Processes in the Organism of Rats

Позднякова М.А., Жукова Е.С.

Нижегородский научно-исследовательский институт гигиены и профпатологии, г. Нижний Новгород, РФ,
evgenya_plekhanova@mail.ru

Традиционные методы лечения в онкологии (хирургия, лучевая и химиотерапия) в моновариантах практически исчерпали свой ресурс. В настоящее время востребованы разработки методов комбинированной и комплексной терапии, направленных на повышение противоопухолевой эффективности воздействия и/или снижение токсических эффектов лечения. В исследованиях *in vitro* и *in vivo* показано, что низкоинтенсивное электромагнитное излучение (ЭМИ) оптического диапазона способствует сенсibilизации опухолевой ткани к химио- и радиотерапии. Однако применение этого излучения связано с риском интенсификации пролиферации опухолевых клеток, что является серьезным препятствием внедрения данного воздействия в клиническую практику. Условия, при которых происходит стимуляция роста опухолей, остаются не выясненными. Целью данного исследования явилась оценка зависимости действия низкоинтенсивного ЭМИ оптического диапазона на развитие солидных опухолей от интенсивности окислительных процессов в организме крыс.

Исследования проведены на 138 ювенильных аутбредных крысах-самцах стока SD. Модели неоплазии – штаммы солидных опухолей крыс РС-1 и РА (РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН), перевиваемые подкожно. Источники ЭМИ оптического диапазона – экспериментальные генераторы низкоинтенсивного ЭМИ ($\lambda_1 = 400 \pm 20$ нм, 4,6 Дж/см², $\lambda_2 = 460 \pm 20$ нм, 3,2 Дж/см², транскутанно; ИПФ РАН, Нижний Новгород), и аппарат физиотерапевтический светодиодный АФС для ФДТ ($\lambda_3 = 660 \pm 10$ нм; ООО «Полироник», Москва). Модификаторы окислительных процессов – озон, получаемый на медицинском озонаторе «ТЕОЗОН» (РФЯЦ ВНИИЭФ, Саров), посредством внутрибрюшинного введения озонированного физиологического раствора, и фотосенсибилизатор гидроксисаломиния трисульфоталочианин (ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», Москва). Схемы воздействия и дозировки подробно описаны в наших работах [1,2]. Оценивали поведение крыс в тесте «открытое поле», противоопухолевую эффективность воздействий по индексу торможения роста опухоли и по коэффициенту прироста опухоли, общую свободнорадикальную активность косвенно методом индуцированной H₂O₂ и Fe²⁺ хемиллюминесценции, уровень перекисного окисления липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой, степень окислительной модификации белков по уровню карбонильных производных с помощью реакции с 2,4-динитрофенилгидразином, уровень повреждений ДНК в лейкоцитах крови крыс с помощью щелочной версии метода ДНК-комет, активность супероксиддисмутазы по реакции восстановления нитросинего тетразолия и каталазы по скорости разложения H₂O₂ [1,2].

По показателям исследовательской и двигательной активности, эмоциональности и тревожности животные разделились по типу поведения: 1) пассивные 2) среднеактивные и 3) высокоактивные (метод k-средних, $p < 0,001$). По сравнению со среднеактивными для пассивных крыс была характерна более высокая интенсивность окислительных процессов в организме, для высокоактивных наоборот – низкая [1]. Для животных с пассивным поведением отмечены более высокая скорость пролиферации опухолевых клеток РС-1 в начале логарифмической фазы роста и последующая спонтанная регрессия [1], более агрессивное развитие РА с метастазированием [2]. Воздействие ЭМИ фиолетово-синего диапазона на РС-1 ранних сроков развития у пассивных животных стимулировало опухолевую прогрессию, у среднеактивных – тормозило, у высокоактивных – привело к регрессированию. Предварительное курсовое действие озона изменило отклик на воздействие ЭМИ фиолетово-синего спектра: у пассивных крыс наблюдалась остановка роста с последующим регрессированием опухолевого очага, у среднеактивных – краткосрочное торможение и продолженный рост, у высокоактивных - наблюдался выраженный противоопухолевый эффект [1]. Фотодинамическое воздействие с использованием ЭМИ красного диапазона и фотосенсибилизатора способствовало прогрессии РА у высокоактивных крыс. При этом предварительное курсовое действие озона снижало риски стимулирования пролиферации опухолевых клеток и повышало противоопухолевый эффект [2].

Таким образом, показано, что эффективность действия ЭМИ оптического диапазона при онкогенезе зависит от интенсивности окислительных процессов в организме и взаимосвязана с особенностями поведения крыс.

1. Zhukova E.S., Shcherbatyuk T.G., Chernigina I.A. et al. Violet-Blue Light Photobiomodulation of the Dynamics of Tumor Growth and Prooxidant-Antioxidant Balance in the Body of Tumor Carriers // *Biophysics*, 2022, vol. 67, no. 3, doi: 10.1134/s0006350922030241.

2. Shcherbatyuk T.G., Zhukova Plekhanova E.S., Nikitina J.V., Gapeyev A.B. Oxidative Modification of Proteins in the Tissues of Rats with Growing Tumors under the Ozone-Photodynamic Treatment // *Biophysics*, 2020, vol. 65, no. 2, doi: 10.1134/S0006350920020219.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВОЛНОВОДНО ДИЭЛЕКТРИЧЕСКОГО МЕТОДА И УСТРОЙСТВА ДЛЯ ИЗМЕРЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ И ОБЛУЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ

Use of the Waveguide Dielectric Method and Device for Measuring the Concentration of Aqueous Solutions and Irradiation of Biological Objects

Полников И.Г., Казаринов К.Д.

Институт радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова РАН, г. Фрязино, РФ, kazarinov@ms.ire.rssi.ru

Развитие измерительной техники микроволнового излучения дает возможность получать существенную информацию о водосодержащих системах. В работе показан пример использования современных физических методов микроволновой электроники для разработки новых датчиков определения диэлектрических характеристик биологических сред. В отличие от широко применяемых в измерительной технике полевых резонаторов с поглощающим образцом, для которых измерения основаны на эффекте малого возмущения поля в резонаторе с образцом, в данном случае исходная измерительная система с пустым капилляром не обладает резонансными свойствами, а резонанс возникает только в присутствии исследуемого образца. Эта особенность рассматриваемого волноводного резонатора и определяет высокую чувствительность параметров регистрируемого резонанса к диэлектрическим свойствам образца.

В радиопрозрачный капилляр, пронизывающий широкую стенку металлического прямоугольного волновода, наливается исследуемая жидкость. Затем с помощью подвижных поршней добиваются максимального значения добротности резонаторной измерительной системы, что регистрируется по величине амплитуды резонансной кривой на экране. Разность амплитуд резонансной кривой при последовательных измерениях показывает изменение концентрации вещества в бинарной или же многокомпонентной исследуемой жидкости, связанной с изменением величины диэлектрической проницаемости. Доработка измерительного устройства коснулась конструкции дроссельных поршней, и их привода, введения пружин для фиксации положения поршней, а также предусматривалась возможность калибровки положения дроссельных поршней в резонаторе [1].

Температурная зависимость диэлектрических свойств воды и водных смесей хорошо изучена в диапазоне от низких частот до КВЧ (крайне высокие частоты). Следует отметить недостаток метода, связанный с необходимостью экранировки термодпары при микроволновом облучении, а также влияние самих термодпар на температуру объекта в капиллярной трубке, что не может не сказаться на точности измерений. Мы же решили заменить в данном способе сложную процедуру измерения температуры анализируемого образца на регистрацию изменения коэффициента поглощения микроволнового излучения при нагревании за фиксированный промежуток времени [1]. Предложенный таким образом новый способ измерения диэлектрических характеристик водных растворов, хотя и несколько уступает по чувствительности прежнему способу измерений с помощью волноводной резонаторной камеры, но зато свободен от необходимости термостатировать измерительную ячейку, что не всегда представляется возможным.

Известно успешное использование прямоугольной волноводной секции с пронизывающим ее широкую стенку диэлектрическим капилляром для исследований растворов, суспензий и гидродинамических свойств воды при поглощении микроволнового излучения [2]. Подобный способ облучения в капилляре, пропущенном сквозь широкую стенку волновода, обеспечивает хорошее согласование биологического объекта с волноводным измерительным трактом. В наших экспериментах с липосомами из ДПЛ (дипальмитоиллецитин) наблюдался отчетливый излом кривой поглощения при мощности 40-50 мВт. Поглощение микроволнового сигнала измерялось в двух точках кинетической кривой: P_0 – исходной, т.е. непосредственно после включения мощности в волноводном тракте и $P_{ст}$ – стационарной, после завершения переходного процесса и установления стационарного значения проходящего КВЧ сигнала через диэлектрический капилляр в волноводном тракте. В случае липосом из яичного лецитина, которые претерпевают фазовый структурный переход при более высоких температурах, резких изменений зависимости поглощения от мощности сигнала мы не наблюдали. Все эксперименты были выполнены на длине волны излучения 8,5 мм.

Работа выполнена в рамках Госзадания № 075-01110-23-01 ИРЭ им. В.А. Котельникова РАН на 2023 год.

1. Казаринов К.Д. Комплекс методов и приборов для изучения электромагнитной чувствительности биологических объектов // Биомедицинская радиоэлектроника, 2020, № 2, с. 5-14, doi: 10.18127/j15604136-202002-01.

2. Казаринов К.Д. Исследование мембранотропной активности ЭМИ в широком диапазоне длин волн // Электронная техника. Сер. 1. СВЧ-техника, 2018, вып. 2, с. 62-75.

СПЕКТРОСКОПИЯ ЯМР РАСТИТЕЛЬНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СЫРЬЯ С ЦЕЛЬЮ ЕГО ИДЕНТИФИКАЦИИ

NMR Spectroscopy of Herbal Medicinal Raw Materials for the Purpose of its Identification

Прокопов А.А.^{1,2}, Нестерова О.В.³

¹ Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова Минздрава РФ, г. Москва, РФ, pral@mail.ru

² Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН, г. Москва, РФ

³ Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет), Москва, РФ

Потребность здравоохранения и фармацевтической промышленности в лекарствах на основе растительного сырья быстро растёт, не отрицая безусловные достижения биоорганической химии. В настоящее время по причинам, понятным специалистам, акцент от синтетических препаратов (важность которых никто не подвергает сомнению) обоснованно смещается в сторону возможных природных альтернатив. Этому способствует и устойчивая тенденция импортозамещения на территории нашего лекарственного рынка. Важно и то, что комплекс веществ, содержащихся в растении, часто действует несколько иначе, чем выделенное из него индивидуальное химически чистое вещество. Лечебное действие растительных препаратов реализуется за счёт именно комплекса биологически активных веществ (БАВ), усиливающих, ослабляющих или даже видоизменяющих действие главного агента. Возрастающему интересу к лекарствам на растительной основе сопутствует повышение требований к их стандартизации – идентификации, определению количества БАВ в фитопрепарате, к методам контроля его качества.

Сложность работы с лекарственными растениями состоит в невозможности абсолютной идентификации заготовленного сырья в связи с затруднённой количественной оценкой каждого его компонента из-за бесконечно разнообразного спектра химических структур и из-за отсутствия стандартных образцов. При оценке качества и подлинности сырья по единичному компоненту из поля зрения, к сожалению, исчезает шлейф сопутствующих соединений, влияющих на терапевтическую эффективность [1].

Исследовали два дикорастущих растения, широко распространённых по территории России: золотарник канадский (ЗК, *Solidago Canadensis*) и борщевик Сосновского (БС, *Heracleum Sosnowskyi*). Различные виды золотарника являются официальными растениями, они входят в ряд зарубежных фармакопей, известны препараты на основе ЗК [2]. БС пока используется только народной медициной, но уже показано, что сырьё на его основе перспективно для создания препаратов флеботропной направленности. Имеются исследования [3], предвещающие использование сырья на основе БС в фармацевтической промышленности и разработку стандартов, определяющих его качество.

Для идентификации растительного сырья на основе ЗК и БС применили метод «фингерпринт», когда в качестве эталона используется характеристический спектр объекта. Для анализа растительных экстрактов Фармакопея допускает [4] использование одномерных спектров ядерного магнитного резонанса (ЯМР) целиком, без детализации значений хим. сдвигов и мультиплетности отдельных сигналов.

Спектры ЯМР $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ высокого разрешения с широкополосным подавлением протонов извлечений из травы ЗК и листьев БС записали на спектрометре AVANCE-300. Сравнительный анализ спектров водных и водно-спиртовых экстрактов как ЗК, так и БС показал, что лишь небольшая часть сигналов в этих спектрах совпадает по значениям хим. сдвигов, т.е. состав водных экстрактов сырья существенно отличается от состава водно-спиртовых экстрактов. Отнесение сигналов спектров ЯМР экстрактов ЗК соответствует данным о присутствии разнообразных полифенолов, тритерпеновых сапонинов, ароматических структур, карбоновых кислот [5], а в экстрактах БС подтверждено наличие кумаринов и фурукумаринов [6]. Водно-спиртовая смесь показала большую экстрактивную способность в отношении комплексов БАВ ЗК и БС. С учётом высокой гидролитической активности воды и отсутствием у неё бактерицидных свойств сделан вывод, что спектры ЯМР ^{13}C водно-спиртовых экстрактов ЗК и БС обладают высокой информативностью, что даёт возможность использовать набор хим. сдвигов C-13 для паспортной идентификации сырья и лекарственных форм на его основе.

1. Павлова Л.В. Экстракционно-хроматографическое определение физиологически-активных компонентов цветов «ромашки аптечной» и листьев «эвкалипта прутовидного»: дис. ... канд. хим. наук. Самара, 2015, 176 с.

2. Сулейманова Ф.Ш., Нестерова О.В., Матюшин А.А. Исторический опыт и перспективы использования травы золотарника канадского (*Solidago canadensis* L.) в медицине // Здоровье и образование в XXI веке, 2017, т. 19, № 4, с. 142-149.

3. Антипина Г.С., Маганов И.А., Платонова Е.А., Фалин А.Ю. Борщевик Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden.) в Ботаническом саду ПетрГУ // Hortus botanicus, 2017, № 12, с. 345-351.

4. Государственная фармакопея Российской Федерации. Издание XIV. ОФС.1.2.1.1.0007.15. «Спектроскопия ядерного магнитного резонанса». Том 1. М.: 2018. С. 784-795.

5. Федотова В.В., Челомбитько В.А. Виды рода золотарник (*Solidago*): значение для медицинской практики, перспективы изучения // Научные ведомости БелГУ. Сер. Медицина. Фармация, 2012, т. 135, № 16, вып. 19, с. 136-145.

6. Luz Raphael F., Vieira Ivo J. C., Braz-Filho Raimundo, Moreira Vinicius F. 13C-NMR Data from Coumarins from Moraceae Family // American Journal of Analytical Chemistry, 2015, vol. 6, pp. 851-866, doi: 10.4236/ajac.2015.611081.

НАНО-ПРОЦЕСС СБОРКИ ГОЛОВОК (КАПСИДОВ) И УКЛАДКИ ДНК НА ПРИМЕРЕ ХВОСТАТЫХ БАКТЕРИОФАГОВ (ЛЯМБДА, T4)

The Nano-Process of Assembling Heads (Capsids) and Laying DNA on the Example of Tailed Bacteriophages (Lambda, T4)

Пулин А.М.¹, Ботин А.С.^{1,2}, Гаврилов А.В.¹, Попова Т.С.², Кордова А.В.¹

¹ Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы, г. Москва, РФ, botin-as@rudn.ru

² ГБУЗ «НИИ Скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», г. Москва, РФ, BotinAS@sklif.mos.ru

Широкое и бесконтрольное применение антибактериальных препаратов не только в медицине, но и в сельском хозяйстве, животноводстве, пищевой промышленности привело к распространению мультирезистентных штаммов, устойчивых к наиболее распространенным антибактериальным препаратам. В поисках альтернативных стратегий профилактики и контроля бактериальной инфекции все чаще обращают внимание на бактериофаговую (фаговую) терапию.

Благодаря широкому диапазону возможностей генной инженерии эти бактериальные вирусы могут быть модифицированы с целью достижения точного контроля и обнаружения бактерий и, таким образом, послужить новым источником антимикробных средств. Кроме применения в антимикробной терапии, фаги также могут быть использованы как транспортные системы для доставки препаратов, как вакцины или же могут быть использованы для сборки новых материалов.

В настоящее время накоплен большой массив данных, свидетельствующих о том, что у всех хвостатых фагов способ укладки полипептидной цепи (фолд) капсидных белков идентичен. Это косвенно подтверждается общность их происхождения [1].

Морфогенез капсида (головки) хвостатых фагов инициируется портовым белком, который может связываться с другими морфогенетическими белками вируса для образования инициирующего комплекса. Этот комплекс инициирует сборку более крупной промежуточной структуры — так называемой проголовки (или прокапсида), которая затем подвергается протеолитическому процессингу, упаковке ДНК и расширению, что приводит к образованию законченной головки фага [2].

В частности, у фага T4 и родственных вирусов инициирующий комплекс проголовки, состоящий из портового белка gp20 и морфогенетического фактора gp40, прикрепляется к внутренней стороне цитоплазматической мембраны. Однако это является скорее исключением, и у большинства бактериофагов сборка проголовок осуществляется в цитоплазме. Стенка капсида формируется как правило одним единственным белком — главным белком капсида, который образует как гексамеры, из которых сложены грани икосаэдра, так и пентамеры, расположенные в вершинах проголовки. В некоторых случаях эти функции могут быть разделены. Так у фага T4 главный белок капсида gp23 образует только гексамеры, а вершины заняты отдельным белком — gp24, который, однако, гомологичен gp23 и также обладает характерным НК97-фолдом. Весьма важно, что хотя проголовки имеют такую же укладку субъединиц, как и зрелые капсиды, их форма менее угловатая, и часто ближе к сфере, чем к икосаэдру. Контакты между соседними олигомерами главного белка капсида менее жесткие [3].

С другой стороны, морфогенетический процесс, при котором ДНК упаковывается в АТФ-зависимой реакции в предварительно собранные прокапсиды, является общим свойством всех хвостатых бактериофагов, а также герпес-вирусов животных, которые, как считается, имеют с хвостатыми фагами отдаленного общего предка. Таким образом, процесс упаковки вирусной ДНК является очень древним [1].

Синтез ДНК большинства фагов приводит к образованию конкатемерных молекул, состоящих из нескольких копий геномной последовательности вируса, объединенных «голова к хвосту». Поэтому упаковка сопряжена с разрезанием конкатемера на индивидуальные геномные молекулы. Различные способы этого разрезания (стратегии упаковки) приводят к образованию различных вариантов организации вирионной ДНК [4].

Данная работа является результатом проведения анализа и обобщения обширной и важной информации по теме бактериофагов, оценка актуальности методов их определения в современной молекулярной биологии, биофизике, био- и нано- технологии, обзор современных исследований в области процесса сборки головок (капсидов) и укладки внутрикапсидной ДНК у хвостатых бактериофагов (лямбда и фаг T4), производство геномодифицированных фагов и прогноз основных перспектив развития данного направления.

2. Fokine A., Rossmann M. G. Molecular architecture of tailed double-stranded DNA phages // *Bacteriophage*, 2014, vol. 4, p. e28281.
3. Leiman P.G., Arisaka F., van Raaij M.J., et al. Morphogenesis of the T4 tail and tail fibers // *Virology*, 2010, vol. 7, p. 355, doi: 10.1186/1743-422X-7-355.
4. Casjens S.R., Molineux I.J. Short noncontractile tail machines: adsorption and DNA delivery by podoviruses // *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2012, vol. 726, pp. 143-179, doi: 10.1007/978-1-4614-0980-9_7.

ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ В СТРОЕНИИ МОЛЕКУЛЫ БЕНЗИЛПЕНИЦИЛЛИНА НАТРИЕВОЙ СОЛИ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ИМПУЛЬСНОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА
Investigation of Changes in the Structure of the Benzylpenicillin Sodium Salt Molecule under the Action of a Pulsed Magnetic Field and their Effect on the Biological Activity of the Drug

Роденко Н.А.^{1,2}, Богданов А.В.³, Васильева Т.И.¹, Глушченков В.А.^{1,2}

¹ Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева, г. Самара, РФ, t.rodenko@mail.ru

² Самарский федеральный исследовательский центр РАН, г. Самара, РФ

³ Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова ФИЦ КазНЦ РАН, г. Казань, РФ

Приспособляемость бактерий к существующим антибиотикам делает весьма актуальной задачу повышения их биологической активности под воздействием внешних физических факторов [1,2]. В работах установлен и описан факт повышения биологической активности бензилпенициллина натриевой соли после обработки препарата импульсным магнитным полем (ИМП) [3,4].

Для понимания причин такого поведения антибиотика проведены исследования тех изменений, которые произошли в молекуле бензилпенициллина натриевой соли под воздействием ИМП.

В экспериментах использовали импульсное магнитное поле напряженностью $H=(0,09\div 0,82)\cdot 10^6$ А/м с частотой разряда цепи $f=40$ кГц и $f=51$ кГц при синусоидальной форме импульса.

Происходящие в строении молекулы бензилпенициллина изменения изучались с помощью ЯМР ¹H-спектроскопии (Bruker Avance 400, Германия) и ИК-Фурье спектроскопии (ФСМ-2201, Россия) [5].

По данным ЯМР ¹H-спектроскопии был сделан вывод о сохранении каркаса бензилпенициллина натриевой соли и всех связей экзоциклических фрагментов. Установлено изменение величин химических сдвигов (δ_H) и констант спин-спинового взаимодействия ($^2J_{HH}$) сигналов метиленовых протонов бензильного заместителя в результате воздействия ИМП на антибиотик.

С помощью ИК-Фурье спектроскопии было обнаружено, что обработка ИМП молекулы бензилпенициллина натриевой соли привела к небольшим изменениям интенсивностей поглощения валентных колебаний связей N-H и C=O амидной группировки и карбонильной группы лактамного цикла.

Изменение строения функциональных группировок, присоединенных к амидному атому азота бета-лактамного антибиотика, влияет на его связывающую способность с ферментом. Соответственно, изменить уровень биологической активности препарата, преодолев возникшую к нему устойчивость, можно путем изменения структуры этих заместителей [6].

Таким образом, с помощью ЯМР ¹H- и ИК-Фурье спектроскопии выявлены небольшие изменения геометрии молекулы бензилпенициллина натриевой соли после воздействия ИМП высокой напряженности. Этот конфигурационный переход, вероятнее всего, сказывается на изменении величины дипольного момента молекулы и доступности амидной группировки при связывании с пенициллинсвязывающими белками бактериальной клетки что, следовательно, влияет на повышение антимикробной активности препарата после магнитно-импульсного воздействия.

1. Aslam B., Wang W., Arshad M.I. et al. Antibiotic Resistance: A Rundown of a Global Crisis. *Infection and Drug Resistance* // *Infection and Drug Resistance*, 2018, no. 11, doi: 10.2147/IDR.S173867.
2. Noor R., Maniha S., Murshed T., Rahman M. Effectiveness of Antibiotics: Anti-Bacterial Activity or Microbial Drug Resistance // *Bangladesh Journal of Microbiology*, 2020, vol. 36, no. 2, doi: 10.3329/bjm.v36i2.45537.
3. Glushchenkov V.A., Vasilyeva T.I., Purigin P.P. et al. Changes in the Antibacterial Activity of Benzylpenicillin Exposed to a Pulsed High-Intensity Magnetic Field // *Biophysics*, 2019, vol. 64, no. 2, doi: 10.1134/S0006350919020088.
4. Васильева Т.И., Роденко Н.А., Мадьярова А.К., Беляева И.А. Изучение антибактериальной активности бензилпенициллина натриевой соли, обработанной импульсным магнитным полем, в отношении бактерий *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli* // *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова*, 2021, т. 17, № 3.
5. Казицына Л.А., Куплетская Н.Б. Применение ИК-, УФ- и ЯМР спектроскопии в органической химии. Москва: Высшая школа, 1971, 264 с.
6. Waxman D.J., Strominger J.H. Penicillin-binding proteins and the mechanism of action of beta-lactam antibiotics // *Annual Review of Biochemistry*, 1983, no. 52, doi: 10.1146/annurev.bi.52.070183.004141.

О Na-Cu-ХЛОРОФИЛЛИНЕ КАК ВОЗМОЖНОМ РАДИОПРОТЕКТОРЕ About Na-Cu-chlorophyllin as a Possible Radioprotector

Ромодин Л.А.

ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России, г. Москва, РФ, rla2904@mail.ru

Все известные на сегодняшний день эффективные радиопротекторы чрезвычайно химически токсичны [1]. Поэтому проблема поиска эффективного, и при том безопасного, радиозащитного препарата остаётся актуальной несмотря на то, что ею активно занимаются с середины XX века.

Однако имеются сведения о том, что препараты на основе хлорофилла, зелёного пигмента растений, могут обладать радиопротекторными свойствами. В работах [2,3], проведённых под руководством Н.П. Лысенко, было показано увеличение выживаемости мышей, подвергнутых воздействию γ -излучения, а также снижение содержания в их тканях малонового диальдегида – маркера перекисного окисления липидов (ПОЛ) – под действием хлорофилла. Снижение выраженности радиационно-индуцированного окислительного стресса на животных и на культуре клеток было показано и для хлорофиллина – водорастворимого продукта омыления хлорофилла [4].

На основании этих данных было сделано предположение, подтверждённое экспериментально на молекулярной модели методом регистрации хемилюминесценции, что важную роль в радиозащитном действии препаратов на основе хлорофилла играет подавление каскада реакций ПОЛ.

Ввиду своей растворимости в воде, хлорофиллин использовался в исследованиях гораздо чаще, чем сам хлорофилл. Медный комплекс хлорофиллина натрия широко используется в качестве пищевого красителя. Его получение налажено в ряде стран. Поэтому запуск производства препарата на его основе не создаст трудностей.

Помимо упомянутой работы [4], радиозащитные свойства хлорофиллина также изучались в контексте снижения радиационно-индуцированных повреждений генетического аппарата на мушках *Drosophila melanogaster* [5] и на мышах [6,7].

Однако в эксперименте по облучению суспензии человеческих лимфоцитов рентгеновским излучением в дозе 2 Гр при использовании метода ДНК-комет генопротекторных свойств у Na-Cu-хлорофиллина обнаружено не было. Далее было проведено спектрофотометрическое исследование поступления Na-Cu-хлорофиллина в клетки через плазмалемму. После часовой инкубации лимфоцитов в растворе Na-Cu-хлорофиллина и отделения их с помощью центрифугирования от среды инкубации с последующим линзированием 0,5% тритоном X-100 было обнаружено более высокое, по сравнению со средой инкубации, содержание хлорофиллина в лизате. На основании этого был сделан вывод, что хлорофиллин активно поступает в цитоплазму из межклеточной среды.

А на основании того, что хлорофиллин не проявил радиозащитных свойств на суспензии лимфоцитов, продемонстрировав их *in vivo* в клетках костного мозга [6] и сперматогониях [7] облучённых мышей, был сделан вывод, что он не способен проникнуть из цитоплазмы в ядро через ядерную мембрану, разрушающуюся во время митоза, который постоянно претерпевают клетки костного мозга и сперматогонии.

Поэтому Na-Cu-хлорофиллин в большей степени сможет нивелировать последствия лучевого поражения в тканях, состоящих из быстроделющихся клеток. Однако именно эти ткани наиболее радиочувствительны, поэтому Na-Cu-хлорофиллин можно считать перспективным радиозащитным средством.

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда № 23-24-00383, <https://rscf.ru/project/23-24-00383/>.

1. Рождественский Л.М. Проблемы разработки отечественных противолучевых средств в кризисный период: поиск актуальных направлений развития // Радиационная биология. Радиозология, 2020, т. 60, № 3, с. 279-290, doi: 10.31857/S086980312003011X.

2. Поздеев А.В., Лысенко Н.П. Повышение радиационной устойчивости организма млекопитающих при применении препаратов хлорофилла в условиях радиоактивного загрязнения окружающей среды // Известия Международной академии аграрного образования, 2018, вып. 42 (т. 2), с. 60-62.

3. Поздеев А.В. Разработка радиозащитных средств на основе веществ растительного и минерального происхождения. Дисс. ... д-ра биол. наук, Косторома, 2015, 313 с.

4. Kumar S.S., Shankar B., Sainis K.B. Effect of chlorophyllin against oxidative stress in splenic lymphocytes *in vitro* and *in vivo* // Biochimica et biophysica acta, 2004, vol. 1672 (2), pp. 100-111, doi: 10.1016/j.bbagen.2004.03.002.

5. Zimmering S., Olvera O., Hernandez M.E. et al. Evidence for a radioprotective effect of chlorophyllin in *Drosophila* // Mutation research, 1990, vol. 245 (1), pp. 47-49, doi: 10.1016/0165-7992(90)90024-e.

6. Morales-Ramirez P., Garcia-Rodriguez M.C. *In vivo* effect of chlorophyllin on gamma-ray-induced sister chromatid exchange in murine bone marrow cells // Mutation research, 1994, vol. 320 (4), pp. 329-334, doi: 10.1016/0165-1218(94)90085-x.

7. Morales-Ramirez P., Mendiola-Cruz M.T. *In vivo* radioprotective effect of chlorophyllin on sister chromatid exchange induction in murine spermatogonial cells // Mutation research, 1995, vol. 344 (1-2), pp. 73-78, DOI: 10.1016/0165-1218(95)90041-1.

**КОФЕЙНАЯ КИСЛОТА СТИМУЛИРУЕТ СВЕЧЕНИЕ МИЦЕЛИЯ ВЫСШИХ ГРИБОВ
NEONOTHOPANUS NAMBI И *ARMILLARIA BOREALIS* *IN VIVO*
Caffeic Acid Stimulates *in vivo* Luminescence of the Mycelia of the Higher Fungi *Neonothopanus nambi* and
*Armillaria borealis***

Ронжин Н.О.¹, Посохина Е.Д.¹, Ле В.М.², Могильная О.А.¹, Захарова Ю.В.³, Сухих А.С.², Бондарь В.С.¹

¹ Институт биофизики ФИЦ КНЦ СО РАН, г. Красноярск, РФ, roniol@mail.ru

² Кемеровский государственный университет, г. Кемерово, РФ

³ Кемеровский государственный медицинский университет, г. Кемерово, РФ

В настоящее время известно более 100 видов высших грибов, обладающих видимым в темноте свечением [1]. В исследованиях грибной биолюминесценции за последнее десятилетие достигнуты заметные успехи, однако молекулярные механизмы этого феномена, по-прежнему, недостаточно понятны и требуют дополнительного изучения. До сих пор неясно: какой фермент (или ферментный комплекс) выполняет функцию люциферазы, так как он не выделен в чистом виде и не охарактеризован; является ли люциферин-люциферазный механизм единственным в светоизлучении грибов; является ли 3-гидроксигиспидин единственным субстратом реакции. Было установлено, что прекурсором люциферина светящихся грибов является гиспидин (ГП), преобразуемый НАДФН-зависимой гидроксилазой в люциферин (3-гидроксигиспидин), который окисляется люциферазой с излучением квантов видимого света [2]. Известно, что ГП образуется из 3,4-дигидроксикоричной (кофейной) кислоты под действием ГП-синтазы [3]. В то же время, в экспериментах с плодовыми телами светящегося гриба *Mycena chlorophos* было обнаружено, что добавки кофейной кислоты (КК) увеличивали интенсивность свечения пластинок шляпки гриба [4]. Позже было высказано предположение, что это не связано с образованием ГП, так как его добавки не влияли на уровень свечения пластинок [5]. В предлагаемой работе приводятся данные об эффектах КК *in vivo* и *in vitro* на биолюминесценцию высших грибов *N. nambi* и *A. borealis*.

В работе использовали штаммы высших грибов *N. nambi* IBSO 2391 и *A. borealis* IBSO 2328 из Коллекции культур микроорганизмов (ССИБСО 836) Института биофизики ФИЦ КНЦ СО РАН (Красноярск). Эксперименты проводили с шарообразными пеллетами мицелия, которые получали при культивировании грибов в погруженных условиях [6]. Грибные люминесцентные системы выделяли из биомассы мицелия [7]. Для проверки активности люминесцентных систем использовали НАДФН (Sigma-Aldrich, США) и экстракты из мицелия несветящегося гриба *Pholiota squarrosa* (штамм IBSO 2376), содержащие ГП [2]. Эффекты КК на свечение оценивали в экспериментах *in vivo* (на пеллетах мицелия) и *in vitro* (с использованием люминесцентных систем). КК выделяли из корневищ дикорастущего бодяка девясилавидного (*Cirsium helenioides* (L.) Hill) водно-спиртовым извлечением с разделением и очисткой на сефадексе LH-20 (Sigma-Aldrich), модифицированном ванкомицином, доочисткой в условиях ВЭЖХ (Shimadzu LC-20 Prominence, Япония) на колонке Gemini 5 мкм C18 (Phenomenex, США) с подтверждением чистоты выделенного компонента ГХ-МС (Agilent 7000 B, США).

В исследованиях *in vitro* показано, что свечение грибных люминесцентных систем, активированное НАДФН и ГП, подавляется КК. Эффект объясним, исходя из понятия классической биохимии об ингибировании фермента продуктом реакции по принципу обратной отрицательной связи, поскольку КК является конечным продуктом трансформации ГП в светоизлучении высших грибов [1,8]. При этом, в экспериментах *in vivo* установлено, что при добавках КК к пеллетам грибного мицелия наблюдается быстрое и значительное увеличение интенсивности их световой эмиссии. Важно отметить, что добавки ГП к пеллетам мицелия не влияли на интенсивность их свечения. В целом, совокупность полученных данных свидетельствует о наличии разных биохимических путей генерации квантов видимого света в светоизлучающих высших грибах. Установление механизма стимуляции КК биолюминесценции высших грибов *in vivo* является приоритетной задачей дальнейших исследований.

1. Ke H.-M., Tsai I.J. Understanding and using fungal bioluminescence – recent progress and future perspectives // Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry, 2022, vol. 33, art. 100570, doi: 10.1016/j.cogsc.2021.100570.

2. Purto V. K. et al. The chemical basis of fungal bioluminescence // Angewandte Chemie International Edition, 2015, vol. 54, no. 28, doi: 10.1002/anie.201501779.

3. Mitiouchkina T. et al. Plants with genetically encoded autoluminescence // Nature Biotechnology, 2020, vol. 38, no. 8, doi: 10.1038/s41587-020-0500-9.

4. Teranishi K. Second bioluminescence-activating component in the luminous fungus *Mycena chlorophos* // Luminescence, 2017, vol. 32, no. 2, doi: 10.1002/bio.3165.

5. Teranishi K. A combination of NADHP and hispidin is not essential for bioluminescence in luminous fungal living gills of *Mycena chlorophos* // Luminescence, 2017, vol. 32, no. 5, doi: 10.1002/bio.3265.

6. Mogilnaya O.A. et al. Total peroxidase and catalase activity of luminous basidiomycetes *Armillaria borealis* and *Neonothopanus nambi* in comparison with the level of light emission // Applied Biochemistry and Microbiology, 2015, vol. 51, no. 4, doi: 10.1134/S0003683815040110.

7. Bondar V.S. et al. Isolation of luminescence system from the luminescent fungus *Neonothopanus nambi* // Doklady Biochemistry and Biophysics, 2014, vol. 455, no. 1, doi: 10.1134/S1607672914020045.

8. Kotlobay A.A. et al. Genetically encodable bioluminescent system from fungi // Proceedings of the National Academy of Sciences, 2018, vol. 115, no. 50, doi: 10.1073/pnas.1803615115.

BIOCOMPATIBILITY OF GRAPHENE AND ITS DERIVATIVES

Rizk M.G.H.¹, Botin A.S.^{1,2}, Popova T.S.², Cordova A.V.

¹ Institute of Biochemical Technology and Nanotechnology, RUDN University named after Patrice Lumumba, Moscow, Russia, *botin-as@rudn.ru*

² N.V. Sklifosovsky Institute of Emergency Medicine, Moscow, Russia, *BotinAS@sklif.mos.ru*

Graphene and its derivatives have shown exceptional properties and potential for various applications. While graphene derivatives as graphene-oxide (GO), reduced graphene-oxide (rGO), few-layers graphene (FLG), and multi-layers graphene (MLG) exhibit similar properties to graphene, more research is needed to address scalability and cost-effectiveness for practical applications. In tissue engineering, graphene-based materials have shown promise in scaffolds, biosensors, and drug delivery systems, but optimizing biocompatibility and functionalization strategies are crucial for safe and effective use. This report is a try to better understanding the complex interactions between graphene and biological systems, including cells, tissues, and organs, which is necessary for future research and expanding the use of graphene in biomedical applications.

The unique properties of graphene and its derivatives have generated significant interest for potential applications in biomedicine.

In particular, it is investigated that expanded graphite – Nanocomposite of PolyGraphene (PG) obtained after hydro-thermic treatment of modified graphite became to be able to interact as sorbent PG with enzyme L-lysine alpha-oxidase from *Trichoderma cf. aureoviride* Rifai.

It was studied the sorption properties of carbon material as an example of PolyGraphene (PG) concerning enzyme L-lysine alpha-oxidase from *Trichoderma cf. aureoviride* Rifai.

PG - version of ultrafine carbon sorbent, which was developed on the basis of the modified oxygen-containing expanded graphite (OCEG).

L-Lysine α -oxidase (LysOx) is one of the enzymes which are prospective in biotechnology and medicine due to its antitumor and kinetic properties [1]. An in vivo therapeutic effect was demonstrated on animals with tumor grafts: breast carcinoma SKBR3, Bro melanoma, intestinal cancer HCT116 and LS174T, ovary adenocarcinoma SCOV3, liver carcinoma.

Furthermore, understanding the complex interactions between graphene and biological systems is necessary to mitigate potential risks and optimize performance in biomedical applications. The dosage of graphene is an important factor that influences its effects on biological systems, and the biocompatibility and toxicity of graphene need to be carefully studied and optimized for safe use [2].

As such, further research is needed to develop reliable and effective methods for large-scale synthesis and production of graphene and its derivatives, as well as to optimize their properties and performance for specific applications. With continued innovation and development, it is possible that graphene-based materials will play a critical role in shaping the future of technology, medicine, and other industries [3].

1. Smirnova I.P., Kuznetsova O.M., Botin A.S. et al. Amino oxidase activities of antitumor enzyme producer from *Trichoderma* // *Drug Invention Today*, 2019, vol. 11, pp. 758-762.

2. Rasanani A.H., Kaffashi B., Seyfi J., Ahmadi S. Probing the effect of graphene surface chemistry on compatibility, crystallinity, and viscoelastic response of polylactic acid/polyvinylidene fluoride blends // *Mater. Today Commun.*, 2022, vol. 30, no. January, p. 103188, doi: 10.1016/j.mtcomm.2022.103188.

3. Raslan A., Saenz del Burgo L., Ciriza J., Luis Pedraz J. Graphene oxide and reduced graphene oxide-based scaffolds in regenerative medicine // *Int. J. Pharm.*, 2020, vol. 580, no. December, p. 119226, doi: 10.1016/j.ijpharm.2020.119226.

ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕКТРАЛЬНЫХ СВОЙСТВ МОДЕЛИ ХРОМОФОРНОГО ЦЕНТРА БАКТЕРИАЛЬНЫХ РОДОПСИНОВ И ИСКУССТВЕННЫХ ПИГМЕНТОВ НА ЕЕ ОСНОВЕ Study of the Spectral Properties of the Chromophore Center Model of Bacterial Rhodopsins and Artificial Pigments on its Basis

Сафинова А.Я.^{1,3}, Беликов Н.Е.¹, Петровская Л.Е.², Лукин А.Ю.³, Демина О.В.¹, Варфоломеев С.Д.¹, Ходонов А.А.¹

¹ Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, РФ, *khodonov@gmail.com*

² Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, РФ

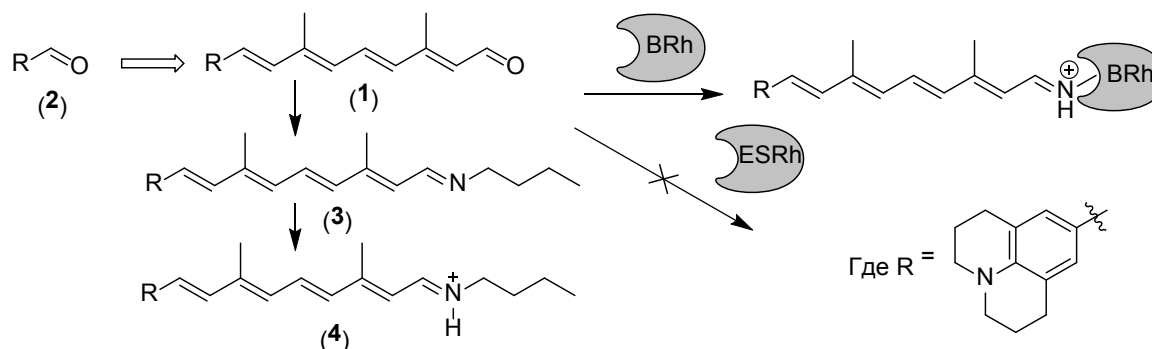
³ МИРЭА – Российский технологический университет, Москва, РФ

Ретиналь-содержащие белки играют ключевую роль в ряде важнейших биологических и физиологических процессов – зрении, росте и дифференцировке тканей, и светозависимом прямом и обратном транспорте протонов и ионов хлора, натрия, и в фототаксисе. Цель настоящей работы заключалась в получении аналога

ретиная – (2E,4E,6E,8E)-3,7-диметил-9-(2,3,6,7-тетрагидро-1H,5H-пиrido[3,2,1-ij]хинолин-9-ил)нона-2,4,6,8-тетраеналя (1) и модельного основания Шиффа (альдимины) с н-бутиламином (3) и в изучении процесса взаимодействия целевого альдегида (1) с белками-мишенями (BRh и ESRh) и спектральных характеристик образующихся аналогов бактериальных родопсинов (BRh и ESRh).

Замена фрагмента триметилциклогексенового кольца молекулы природного ретиная на мощный электроно-донорный юлолидиновый заместитель должно оказать сильное влияние на оптические параметры и спектральные свойства целевого альдегида и его модельного альдимины с н-бутиламином (3).

Целевой ретиноид (1) был получен из исходного альдегида (2) с общим выходом 19% на исходный альдегид. Индивидуальный *all-E*-изомер ретиноида (1) был выделен с чистотой 98–99% при помощи препаративной ВЭЖХ. Его структура была подтверждена набором физико-химических методов анализа (УФ-, ¹H-ЯМР-спектроскопией и масс-спектрометрией).



Спектральные свойства полученных препаратов альдегида (1) и альдимины (3), а также их протонированной формы (4) были исследованы при помощи стационарной UV-vis-спектроскопии в диапазоне 250–700 нм в растворе метанола. Обнаружены выраженные различия в спектральном поведении препаратов альдегида (1) и модельного альдимины (3) по сравнению с природным ретиналом и его альдимином.

Было изучено взаимодействие альдегида (1) с препаратами опсинов BRh из *Halobacterium salinarum* и ESRh из *Exiguobacterium sibiricum*. Обнаружено, что альдегид (1) образует искусственный пигмент только с бактериоопсином BRh, но не взаимодействует с опсином ESRh. Были исследованы спектральные свойства полученного искусственного аналога бактериородопсина.

Работа частично выполнена в рамках Государственного задания ИБХФ РАН 2022 года (тема №122041300210-2).

АВТОМАТИЗАЦИЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО РАСЧЕТА КОНЦЕНТРАЦИИ ВЕЩЕСТВ В ЭКСТРАКТАХ ТКАНЕЙ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА ПРОИЗВОДНЫХ СПЕКТРОВ ПОГЛОЩЕНИЯ НА ПРИМЕРЕ МДА

Automation of the Quantitative Calculation of the Substances Concentrations in Tissue Extracts based on the Analysis of the Absorption Spectra Derivatives on the Example of MDA

Смирнова О.Д.

НИЦ «Курчатовский институт», г. Москва, РФ, smirnovaoksana@ya.ru

Оптические спектры большинства экстрактов биологических тканей часто искажены процессами неспецифического поглощения и рассеяния, что существенно затрудняет возможности количественного определения содержания в них отдельных веществ. Гетерофазность водных экстрактов биологических тканей даже при сильных разбавлениях обуславливает некорректность линейного соотношения измеряемой оптической плотности с концентрацией отдельных веществ и требует математически сложного моделирования переноса излучения при анализе спектрофотометрических данных растворов [1]. Это затрудняет возможности автоматизации процесса определения количественного содержания веществ при рутинных измерениях. В ряде случаев расчет содержания отдельных веществ может быть сделан на основе прямых расчетов по калибровочной зависимости амплитуд высших производных в максимуме поглощения анализируемого вещества. В то же время, вторая производная спектральной функции поглощения также гауссовое распределение, меньшую ширину и уже лишена линейных искажений, связанных с рассеянием и флуктуациями базовой линии [2]. Однако на практике результаты измерения зависимости оптической плотности от длины волны сопровождаются многокомпонентным шумом, который перед дифференцированием необходимо нивелировать процедурой сглаживания.

Содержание малонового диальдегида (МДА) – продукта перекисного окисления липидов – в экстрактах головного мозга контрольных и облученных самок мышей линии C57Bl/6J определяли при использовании тиобарбитуровой кислоты и тетраметоксипропана (ТМП) в качестве калибровочного раствора [3]. Концентрацию

МДА измеряли в экстрактах головного мозга интактных (контроль) мышей и через 3 суток после окончания пролонгированного гамма-нейтронного облучения в суммарной дозе $0,5 \text{ Гр}$ ($2,13 \cdot 10^{-3} \text{ Гр/ч}$).

Растворы анализировали в кварцевых кюветках на спектрофотометре Shimadzu UV3600. Перед построением вторых производных использовалось сглаживание спектров методом скользящей средней. По полученным данным были построены следующие калибровочные зависимости функций оптической плотности от содержания МДА в растворе (x): амплитуда в максимуме $f_{532\text{нм}}(x)$, соответствующее значение второй производной $f'_{532\text{нм}}(x)$ и её интегральная сумма $\int_{520}^{550} \ddot{f}$, – параметры которых, а также полученные в результате обратных расчетов по ним, усредненные по 5 спектральным данным образцов мозга каждой группы, концентрации МДА, – представлены в таблице 1.

Таблица 1. Калибровочные зависимости функций оптической плотности растворов ТМП от концентрации (x) и рассчитанное на их основании среднее по 5 образцам содержание МДА в экстрактах мозга мышей.

| функция | параметры линии тренда вида $y=ax+b$ | | | концентрация МДА в 10% экстракте мозга, мкМ | |
|-----------------------------|--------------------------------------|----------|----------------|---|-------------|
| | a | b | R ² | контроль | 0,5 Грей |
| $f_{532\text{нм}}(x)$ | 0,0459 | 0,0048 | 0,777 | 1,0±0,8 | 1,0±0,5 |
| $f'_{532\text{нм}}(x)$ | -0,00042 | -0,00003 | 0,981 | 0,32±0,01 | 0,22±0,01 |
| $\int_{520}^{550} \ddot{f}$ | 0,0607 | 0,0015 | 0,985 | 0,227±0,003 | 0,192±0,007 |

Полученные зависимости показывают, что корреляция амплитуды второй производной функции поглощения в минимуме, а также площади ее соответствующего пика, с концентрацией поглощающего вещества дают более близкие к 1 значения, чем данные оптической плотности при 532 нм, в случаях растворов субмикромольной концентрации, когда флуктуации базовой линии поглощения сравнимы с амплитудой поглощения определяемого вещества. Таким образом, сходимость получаемых по второй производной данных лучше. Полученные данные не показали повышения уровня МДА в мозге мышей спустя 3 суток после окончания облучения. Работа выполнена с использованием оборудования ресурсного центра «Оптика» НИЦ «Курчатовский институт».

1. Исимару А. Распространение и рассеяние волн в случайно неоднородных средах. Т.1. Однократное рассеяние и теория переноса. М.: Мир, 1981, 281 с.

2. Bridge T.P., Fell A.F., Wardman R.H. Perspectives in derivative spectroscopy, Part 1 – Theoretical principles // JSDS, 1987, vol.103, no. 1, p. 17-27, doi: 10.1111/j.1478-4408.1987.tb01081.x.

3. Костюк А.И., Котова Д.А., Демидович А.Д. и др. Изменение ключевых параметров метаболизма липидов в тканях мозга крыс при перманентной ишемии // Вестник РГМУ, 2019, т. 1, с. 50-57.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОДИФИЦИРОВАННОГО ИШЕМИЕЙ АЛЬБУМИНА И АНТИОКСИДАНТНОЙ СПОСОБНОСТИ СЫВОРОТКИ КРОВИ ПРИ АСФИКСИИ НОВОРОЖДЕННЫХ

Determination of Ischemia-Modified Albumin and Antioxidant Capacity of Blood Serum in Neonatal Asphyxia

Теселкин Ю.О., Бабенкова И.В., Дельсуз С.Ф., Караганова Е.Я., Шалина Р.И., Осипов А.Н.

Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, г. Москва, РФ,
teselkin-box@mail.ru

Асфиксия – одна из основных причин развития ряда тяжелых заболеваний новорожденных, приводящих к неблагоприятным исходам. Важным патогенетическим механизмом, лежащим в основе повреждения тканей и органов при перинатальной асфиксии, является оксидативный стресс. Поскольку прогноз при асфиксии зависит от проведения своевременных и адекватных терапевтических мероприятий, многие исследования направлены на поиск наиболее чувствительных маркеров оксидативного стресса и разработку принципов антиоксидантной терапии при данной патологии. Полагают, что в качестве предиктора перинатальной асфиксии может служить увеличение содержания в сыворотке крови модифицированного ишемией альбумина (ischemia-modified albumin – IMA) [1]. Образование IMA происходит в результате N-концевой модификации сывороточного альбумина при его взаимодействии с активными формами кислорода в очаге ишемии-реперфузии. Однако изменение содержания IMA в сыворотке крови новорожденных с асфиксией еще недостаточно изучено.

Цель работы – исследовать содержание IMA в сыворотке крови и антиоксидантную способность (АОС) сыворотки крови новорожденных с асфиксией разной степени тяжести.

Состояние детей при рождении оценивали по шкале Апгар. В первую группу (контрольную, $n=10$) вошли

здоровые новорожденные, которые родились от здоровых матерей с нормально протекающей беременностью и родами (8–10 баллов по шкале Апгар на 1-й минуте после рождения). Во вторую группу ($n=17$) включали новорожденных, родившихся в состоянии умеренной асфиксии (4–7 баллов по шкале Апгар). В раннем неонатальном периоде эти дети получали комплексную терапию по стандартному протоколу (инфузионная, церебропротективная, мембраностабилизирующая, противосудорожная, антибактериальная терапия). Третью группу ($n=17$) составили дети с тяжелой асфиксией при рождении (1–3 балла по шкале Апгар), которые получали указанную комплексную терапию и были подвергнуты общей гипотермии в течение 72 ч. Определение содержания ИМА в сыворотке крови [2], а также АОС сыворотки крови [3] у новорожденных проводили в 1–2-е и 3–4-е сутки постнатального периода.

Обнаружены изменения исследуемых показателей в обеих группах новорожденных с асфиксией по сравнению с контрольной группой [4]. Так, при умеренной и тяжелой асфиксии на 1–2-е сутки установлено увеличение уровня ИМА в 1,2 и 1,6 раза ($p<0,001$) соответственно. АОС сыворотки крови у новорожденных с умеренной асфиксией в 1–2-е сутки не отличалась от нормы, тогда как при тяжелой асфиксии была выше в 2,4 раза ($p<0,001$). На 3–4-е сутки у новорожденных с тяжелой асфиксией, в отличие от детей с умеренной асфиксией, содержание ИМА оставалось повышенным (в 1,2 раза, $p<0,001$), а АОС была больше контрольных значений в 3,7 раза ($p<0,001$). Наблюдаемое увеличение АОС сыворотки крови у новорожденных с тяжелой асфиксией может быть, в частности, обусловлено повышением содержания в ней мочевой кислоты. Усиление продукции последней происходит в период ишемии-реперфузии в результате активации фермента ксантиноксидазы.

Таким образом, у новорожденных с асфиксией наблюдалось развитие оксидативного стресса. Значения ИМА и АОС сыворотки крови в 1–2-е сутки жизни отражали степень тяжести асфиксии. Анализ изменений ИМА к 3–4-м суткам у новорожденных с умеренной и тяжелой асфиксией свидетельствовал о снижении интенсивности свободнорадикальных реакций на фоне комплексной терапии.

1. Dursun A., Okumus N., Zenciroglu A. Ischemia-modified albumin (IMA): could it be useful to predict perinatal asphyxia? // *The Journal of Maternal-fetal and Neonatal Medicine*, 2012, vol. 25, no. 11, pp. 2401-2405, doi: 10.3109/14767058.2012.697943.

2. Bar-Or D., Lau E., Winkler J.V. A novel assay for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia-a preliminary report // *The Journal of Emergency Medicine*, 2000, vol. 19, no. 4, pp. 311-315, doi: 10.1016/s0736-4679(00)00255-9.

3. Teselkin Yu.O., Babenkova I.V., Osipov A.N. A modified chemiluminescent method for determination of the antioxidant capacity of biological fluids and tissues // *Biophysics*, 2019, vol. 64, no. 5, pp. 708-716, doi: 10.1134/S0006350919050233.

4. Дельсуз С.Ф., Шалина Р.И., Караганова Е.Я. и др. Модифицированный ишемией альбумин и антиоксидантная защита у новорожденных с асфиксией разной степени тяжести // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, 2023, т. 175, № 5, с. 554-558, doi: 10.47056/0365-9615-2023-175-5-554-558.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ И СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ТИМУСА КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ ЭНДОКРИННОГО ДИСРАПТОРА

Comparative Characterization of Functional and Structural Changes in the rat Thymus Induced by Different Doses of Endocrine Disruptor

Тимохина Е.П., Яглова Н.В., Обернихин С.С., Яглов В.В.

Научно-исследовательский институт морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБУН «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского», г. Москва, РФ, rodich_k@mail.ru

В последние десятилетия в мире отмечается рост заболеваемости, связанный с нарушениями функционирования иммунной системы. Многие исследователи из разных стран сходятся во мнении, что основной причиной этого роста является загрязнение окружающей среды стойкими органическими соединениями, приводящее к срыву защитных функций и адаптационных резервов организма человека. Дихлордифенилтрихлорэтан (ДДТ) — один из самых распространенных стойких органических загрязнителей на нашей планете, метаболиты которого встречаются в воде и пище повсеместно.

Целью данной работы было изучение функциональных и структурных изменений тимуса крыс при воздействии различных доз эндокринного дисраптора ДДТ.

В тимусе крыс опытной группы, потреблявшей ДДТ в дозе $1,890\pm 0,086$ мкг/кг/сут в течение 10 недель (1 опытная группа) наблюдалась гибель лимфоцитов, проявляющаяся наличием участков опустошения коркового вещества. Процентное содержание клеток, экспрессирующих белок p53, не изменилось по сравнению с контрольной группой. Количество тимических телец в мозговом веществе не изменилось, однако число ретикулоэпителиоцитов в их составе статистически значимо увеличилось до $5,34\pm 0,21$ клеток в среднем, тогда как в контрольной группе это значение составляло $3,61\pm 0,10$. Доля тимических телец на ранних стадиях развития

также увеличилась. Отмечено снижение спонтанной пролиферативной активности тимоцитов и повышение пролиферативного ответа на митоген (рис. 1).

В тимусе крыс, потреблявших раствор ДДТ в дозе $7,77 \pm 0,17$ мкг/кг/сут в течение 10 недель (2 опытная группа), статистически значимо изменилось соотношение коркового и мозгового слоев. Отмечено также уменьшение ширины субкапсулярного слоя до $39,35 \pm 1,44$ мкм по сравнению с $44,22 \pm 1,19$ мкм в контрольной группе. В корковом слое имелись участки опустошения. Количество тимических телец в мозговом веществе не менялось, однако количество ретикулоэпителиоцитов увеличилось до $5,01 \pm 0,20$ клеток. И, в отличие от контрольной группы, были выявлены тимические тельца с распадом и образованием полости в центральной части телец. Экспрессия белка p53 клетками тимуса возросла по сравнению с контрольной и 1 опытной группой. Показатели пролиферативной активности тимоцитов и индуцированная пролиферация при этом значительно снизились (рис. 1).

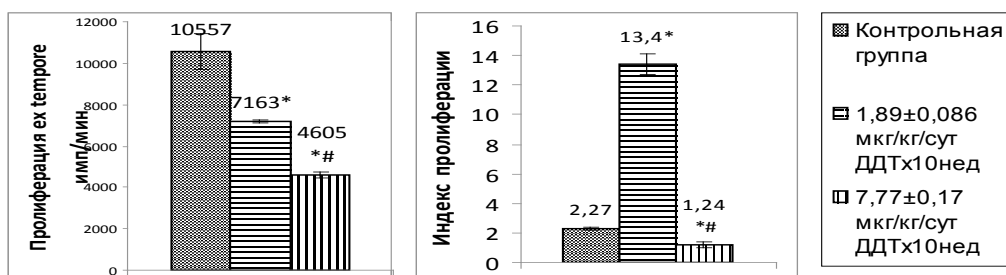


Рисунок 1. Пролiferация ex tempore и индекс пролиферации клеток тимуса контрольной и опытных групп через 10 недель после начала эксперимента. Статистически значимое отличие: * – от контрольной группы; # – от группы, потреблявшей меньшую дозу ДДТ

Таким образом, воздействие низких доз ДДТ приводит к изменению функциональных и структурных характеристик тимуса крыс, проявляющихся усилением гибели как лимфоцитов, так и ретикулоэпителиоцитов, и к снижению пролиферативной активности клеток тимуса, т.е. оказывает иммунотоксическое действие.

ОКСИД АЗОТА – ВЫСОКОЭФФЕКТИВНАЯ ЛОВУШКА АФК. ВОЗМОЖНОСТИ КЛИНИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ

Nitric Oxide is a Highly Efficient ROS TRAP. Possibility of Clinical Use for Diagnostics

Титов В.Ю.^{1,2}, Осипов А.Н.¹, Ананкина А.А.¹, Кочиш И.И.²

¹ Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, г. Москва, РФ, vtitov43@yandex.ru

² Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина, г. Москва, РФ, kochish.i@mail.ru

Показано, что супероксид (O_2^-) эффективно взаимодействует с оксидом азота (NO), находящимся как в свободной форме, так и в составе соединений-доноров NO: нитрозотиолов (RSNO), динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ) [1,2]. Константа скорости – не менее $10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ [1]. Нами разработан ферментный сенсор, основанный на обратимом ингибировании фермента каталазы нитритом и нитрозосоединениями и утрате ими способности ингибировать под действием ряда веществ, специфичных для каждой группы этих соединений. Он позволяет оперативно, без какой-либо подготовки объекта, определить концентрации RSNO, ДНКЖ, а также нитрита (NO_2^-), негематных нитрозосоединений (RNO) с точностью до 50 нМ [2]. При помощи него установлено, что конечные продукты взаимодействия супероксида и соединений-доноров NO (RSNO, ДНКЖ) в физиологических условиях представлены нитритом (NO_2^-) и негематными нитрозосоединениями (RNO). В отсутствие активных форм кислорода (АФК) соединения – доноры NO не продуцируют NO_2^- и RNO, поскольку спонтанно не распадаются с высвобождением NO, который мог бы быть окислен кислородом до нитрита [2]. Воздействие ультрафиолета и видимого света на ДНКЖ и нитрозотиолы, их окисление в системе пероксидаза – перекись водорода не приводят к появлению нитрита и RNO. Они появляются в крови под действием активатора фагоцитов зимозана. Супероксиддисмутаза (СОД) предотвращала их появление. Эти же закономерности имели место в молоке [2]. Достаточно 700 активированных фагоцитов на микролитр крови, чтобы обеспечить трансформацию 30% содержащихся в плазме доноров NO до $NO_2^- + RNO$. В связи со сравнительно высокой концентрацией доноров NO в тканях, равной десяткам микромоляр, и высокой константе скорости их взаимодействия с O_2^- , у доноров NO в тканях нет эффективных конкурентов за супероксид. Аскорбат в

концентрации 100 мкМ незначительно снижал интенсивность образования $\text{NO}_2^- + \text{RNO}$ [2]. В норме $\text{NO}_2^- + \text{RNO}$ присутствуют в большинстве тканей в суммарной концентрации, не превышающей 50 нМ [2].

Таким образом, появление $\text{NO}_2^- + \text{RNO}$ является очень чувствительным индикатором на присутствие супероксида. Показано, что все воспалительные заболевания сопровождаются появлением в плазме крови $\text{NO}_2^- + \text{RNO}$ в концентрации от сотен наномоль до нескольких микромоль [2]. Причем их появление предшествует проявлению клинических признаков. Такие показатели как СОЭ, число лейкоцитов в микролитре, содержание С-реактивного белка значительно уступали показателю концентрации $\text{NO}_2^- + \text{RNO}$ по чувствительности, а, главное, специфичности. Это следует из того, что содержание $\text{NO}_2^- + \text{RNO}$ – индикатор продукции супероксида фагоцитами, то есть их активации, что является начальной фазой всякого воспаления. Неактивированные фагоциты не продуцируют O_2^- , и нет условий для трансформации доноров NO в $\text{NO}_2^- + \text{RNO}$. Особенно ценным этот показатель оказался при контроле состояния пациентов в стационаре, в частности, пациентов с ограниченной коммуникабельностью — неврологических, и при контроле за состоянием животных [2]. Но возможно ли таким образом диагностировать локальные воспаления, не носящие генерализованный характер? Согласно нашим данным, во всех случаях диагностированного преждевременного разрыва плодных оболочек (ПРПО) концентрация $\text{NO}_2^- + \text{RNO}$ в крови матери достигала нескольких мкМ, при полном отсутствии клинических и биохимических признаков воспаления. Применение антибиотиков при ПРПО способствовало нормализации концентрации ($\text{NO}_2^- + \text{RNO}$), то есть появление $\text{NO}_2^- + \text{RNO}$, по-видимому, связано с воспалением инфекционного характера [3]. О возможности контроля состояния плода по концентрации ($\text{NO}_2^- + \text{RNO}$) в крови матери, пока однозначного ответа дать нельзя.

1. Shumaev K., Gubkin A., Serezhenkov V. et al. Interaction of reactive oxygen and nitrogen species with albumin- and methemoglobin-bound dinitrosyl-iron complexes // Nitric Oxide, 2008, vol. 18, no. 1, pp. 37-46.

2. Titov V., Osipov A., Vanin A. The Ability of Blood Plasma to Inhibit Catalase in the Presence of Chloride is a Highly Sensitive Indicator of Deposited Nitric Oxide and Leukocyte Activation // Current Enzyme Inhibition, 2020, vol. 16, no. 2, pp. 172-180, doi: 10.2174/1573408016999200429123919.

3. Титов В.Ю., Ананкина А.А., Осипов А.Н. и др. Возможности диагностики внутриутробного инфицирования по содержанию нитрита и негемоглобиновых нитрозосоединений в плазме материнской крови // Клиническая лабораторная диагностика, 2022, т. 67, № 11, с. 633-639, doi: 10.51620/0869-2084-2022-67-11-633-639.

РЕКОНСТРУКЦИЯ ГЕННЫХ И АССОЦИАТИВНЫХ СЕТЕЙ ЗАБОЛЕВАНИЙ ДЛЯ ПОИСКА ГЕНОВ-МИШЕНЕЙ

Reconstruction of Gene and Associative Networks of the Diseases for Gene-Targets Search

Туркина В.А., Ярема П.О., Майорова А.А. Савина Е.А., Орлов Ю.Л.

Первый МГМУ им. И.М.Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), г. Москва, РФ,
orlov@d-health.institute

Реконструкция генных сетей – наборов взаимодействующих макромолекул, объединенных общей функцией – представляет собой комплексную задачу биоинформатики. В более широком плане мы рассматриваем ассоциативные генные сети заболеваний, куда входят не только гены и их продукты – белки, метаболиты, нкРНК, лекарственные соединения, но и общие признаки заболеваний – симптомы, фенотипические проявления. Мы рассматриваем онлайн-доступные инструменты биоинформатики и примеры применения для анализа генных сетей опухолей мозга. Ранее рассматривались примеры анализа генных сетей комплексных заболеваний, таких как болезнь Паркинсона, шизофрения [1].

В данной работе рассмотрен пример глиомы [2]. Диффузные глиомы относятся к числу наиболее трудно поддающихся лечению видов рака [3]. Согласно клиническим рекомендациям стандарт лечения включает в себя хирургическую резекцию опухоли с последующей лучевой и/или химиотерапией, а также использование немногочисленных таргетных методов лечения. Проблемой для эффективного лечения является гематоэнцефалический барьер, который препятствует проникновению в головной мозг лекарственных средств. Необходимо развитие компьютерных моделей для анализа заболевания и поиска возможных мишеней для терапии. Работа по анализу генов, реконструкции генной сети, и оформлению результатов с использованием инструментов биоинформатики была выполнена студентами на цифровой кафедре Сеченовского Университета. Для получения списка генов, связанных с наследственной предрасположенностью к заболеванию, использовался интернет-ресурс OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man, <https://omim.org/>). С помощью базы данных GeneCards (<https://www.genecards.org/>) проведен детальный анализ генов, играющих ключевую роль в развитии заболевания. Для реконструкции генной сети взаимодействий генов использовался ресурс STRING-DB (<https://string-db.org/>). Взаимодействия включают прямые (физические) и косвенные (функциональные) ассоциации. Для поиска ассоциированных заболеваний использовался открытый онлайн-ресурс MalaCards (<https://www.malacards.org/>) – интегративная база данных о болезнях и расстройствах организованная в виде

"карточек болезней". В настоящее время развиваются новые инструменты для анализа ассоциативных сетей – Cytoscape, ANDVisio, ANDSystem, которые могут быть использованы в подобных исследованиях [3].

Запрос “glioma” в базе данных OMIM дал 176 результатов – имен генов. Анализ категорий генных онтологий (ресурсы DAVID, PANTHER), показал, что самыми значимыми категориями являются: негативная регуляция биологического процесса, регуляция программируемой клеточной гибели, негативная регуляция клеточных процессов, регуляция клеточной гибели. Эти категории относятся к общему клеточному развитию, что связано с нормальным функционированием клеток и тканей. Значимыми категориями являются: связывание идентичных белков, активность димеризации белков, активность гомодимеризации белков, связывание сигнальных рецепторов. Эти категории можно отнести к работе путей передачи межклеточных сигналов, что связано с работой нервной системы. Генная сеть для генов глиомы была реконструирована с помощью ресурса STRING-DB (<https://string-db.org>) и собственной разработанной программы по визуализации сетей. Граф включал 150 генов (белков). Сеть была перестроена с удалением не связанных генов и заменой нескольких линий связей между узлами сети одной линией с учётом только доказанных взаимодействий со средним уровнем достоверности. В центре сети - белки EGFR и TP53, которые являются известными онкогенами, а также STAT3, KRAS, PIK3CA, IDH1, KDR. Несмотря на то, что часть объектов сети не контактировали с другими, сеть достаточно связанная, в ней выделяется центральный сильно связанный кластер генов. Для более детального анализа сеть была перестроена итеративно с учетом только экспериментально доказанных взаимодействий. В сети четко выделяются несколько кластеров. Наибольшее число связей у генов EGFR, TP53, KRAS, из которых EGFR и TP53 ранее подробно изученные онкогены. С помощью ресурса MalaCards были определены заболевания, генно-ассоциированные с глиомой – glioblastoma, malignant astrocytoma, neuroblastoma. Мы обсуждаем ключевые компоненты реконструированной сети, структуру узловых белков.

1. Дохоян А.Ю., Глущенко М.В., Орлов Ю.Л. Реконструкция генной сети шизофрении для поиска генов-мишеней // Ульяновский медико-биологический журнал, 2022, т. 3, с. 6-22, doi: 10.34014/2227-1848-2022-3-6-22.

2. Туркина В.А., Майорова А.А., Дергилев А.И. и др. Компьютерный анализ структуры генной сети глиобластомы и опухолей мозга // Сборник научных трудов VII Съезда биофизиков России: в 2 томах, том 1 – Краснодар: Типография ФГБОУ ВО «КубГТУ», 2023, Краснодар, с. 294-295, doi 10.26297/SbR6.2023.001.

3. Gubanov N.V., Orlova N.G., Dergilev A.I. et al. Glioblastoma gene network reconstruction and ontology analysis by online bioinformatics tools // Journal of Integrative Bioinformatics, 2021, vol. 18, p. 20210031, doi: 10.1515/jib-2021-0031.

РАЗВИТИЕ ОРГАНИЗМА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭНДОКРИННОГО ДИСРАПТОРА ДДТ ИЗМЕНЯЕТ ПАРАМЕТРЫ СИНТЕЗА ПОЛОВЫХ СТЕРОИДОВ У САМЦОВ КРЫС Developmental Exposure to Endocrine Disruptor DDT Alters Parameters of Sex Steroid Production in Male Rats

Яглова Н.В., Обернихин С.С., Назимова С.В., Тимохина Е.П.

НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского, г. Москва, РФ,
yaglova@mail.ru

Дихлордифенилтрихлорэтан (ДДТ) является самым распространённым на планете стойким системным поллютантом [1]. Он известен как эндокринный дисраптор с антиандрогенными свойствами, обусловленными его способностью блокировать рецепторы андрогенов в клетках-мишенях и тем самым, нарушать сигнальные каскады андрогенов [2]. Его влияние на синтез половых стероидов изучено в меньшей степени. В наших предыдущих работах мы выявили у самцов крыс, развивавшихся при воздействии низких доз ДДТ, изменения в профиле стероидных надпочечниковых гормонов в периоде полового созревания [3,4]. Целью настоящего исследования было установление параметров синтеза половых стероидов у крыс, подвергавшихся воздействию низких доз ДДТ в пренатальном и постнатальном развитии, после наступления половой зрелости.

Исследование выполнено на крысах Вистар. Самки крыс получали раствор *o,p'*-ДДТ с концентрацией 20мкг/л с момента ссаживания с самцами в течение всей беременности и периода молочного вскармливания потомства. С трехнедельного возраста потомство самостоятельно потребляло это раствор ДДТ вместо воды. Среднесуточное потребление ДДТ составило менее 3мкг/кг/сут, что соответствует уровню воздействия ДДТ на человека. Было проведено определение гонадных и надпочечниковых половых стероидов и их предшественников в сыворотке крови самцов крыс в возрасте 10 недель, развивавшихся при воздействии ДДТ (n=10) и интактных крыс соответствующего возраста (n=11) методом иммуноферментного анализа. Статистическая обработка данных выполнена с помощью пакета программ «Statistica 7.0». Статистически значимыми различия считались при $p < 0,01$.

Исследование выявило, что у крыс, подвергавшихся воздействию низких доз ДДТ в пренатальном и постнатальном развитии, после наступления половой зрелости концентрация связанного с белками плазмы тестостерона на четверть ниже, чем у крыс контрольной группы. Концентрация андростендиона также была понижена по сравнению с контролем, но в большей степени, чем тестостерона.

Определение предшественника стероидных гормонов прогестерона показало, что его содержание в системном кровотоке было более высоким, чем в контрольной группе, а уровень 17-оксипрогестерона был значительно снижен.

Проведенное исследование показало, что воздействие низких доз ДДТ в пренатальном и постнатальном периодах онтогенеза приводит к снижению продуцируемых гонадами, так и сетчатой зоной надпочечников мужских половых стероидов. При этом уровень общего предшественника стероидных гормонов прогестерона не только не снижен, но и повышен. 17-оксипрогестерон является непосредственным предшественником половых стероидов. Его пониженное содержание в системном кровотоке наряду с избытком прогестерона указывает на замедление гидроксилирования прогестерона, что в свою очередь влечет за собой снижение синтеза половых гормонов в организме.

Таким образом, воздействие низких доз эндокринного дисраптора ДДТ в пренатальном и постнатальном развитии нарушает синтез половых гормонов у крыс после достижения ими половой зрелости и в надпочечниках, и в семенниках за счет ингибирования гидроксилирования прогестерона. Следовательно, ДДТ оказывает дисрапторное действие не только за счет блокады рецепторов андрогенов, но и за счет снижения синтеза самих половых гормонов.

Работа выполнена по госзаданию № FGFZ-2022-0035.

1. World Health Organization. State of the Science of Evidence for Endocrine Disruption in Humans and Wildlife; Bergman, A., Heindel, J., Jobling, S., Kidd, K., Zoeller, R.T., Eds.; WHO: Geneva, Switzerland, 2012, 260 p.

2. De Falco M., Forte M., Laforgia V. Estrogenic and anti-androgenic disrupting chemicals and their impact on the male reproductive system // *Front. Environ. Sci.*, 2015, vol. 3, no. 3, doi:10.3389/fenvs.2015.00003.

3. Яглова Н.В., Цомартова Д.А., Яглов В.В. Особенности продукции стероидных гормонов надпочечников в пубертатном периоде у крыс, подвергавшихся воздействию низких доз эндокринного дисраптора ДДТ в пренатальном и постнатальном развитии // *Биомедицинская химия*, 2017, т. 63, № 4, с. 306-311, doi: 10.18097/PBMC20176304306.

4. Яглова Н.В., Обернихин С.С., Назимова С.В. и др. Развитие и функционирование сетчатой зоны коркового вещества надпочечников крыс, подвергавшихся пренатальному и постнатальному воздействию эндокринного дисраптора ДДТ // *Известия РАН. Серия биологическая*, 2022, № 3, с. 227-236, doi: 10.31857/S1026347022030179.

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ КОМПЛЕКС РУТИНА С ТРИТЕРПЕНОВЫМ ГЛИКОЗИДОМ АЛЬФА-ХЕДЕРИНОМ

Molecular Complex of Rutin with Triterpene Glycoside alpha-Hederin

Яковишин Л.А., Ратников В.Д.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, chemsevntu@rambler.ru

Рутин (Rut) – известный флавоноидный гликозид, обладающий разнообразной биологической активностью [1]. У него установлено наличие противоопухолевого, антибактериального, противовоспалительного, антифунгального, кардиопротекторного и антиоксидантного действия [1]. В последнее время широко изучается молекулярное комплексобразование тритерпеновых гликозидов различного строения с лекарственными и биологически активными веществами [2]. В частности, были получены комплексы сапонина альфа-хедерина (α -хедерина, AHed), одного из главных гликозидов плющей [2].

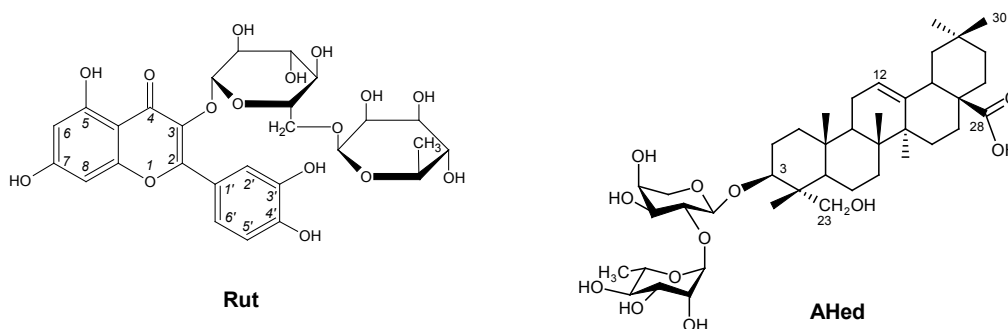


Рисунок 1. Рутин (Rut) и тритерпеновый гликозид альфа-хедерин (AHed)

Нами получен новый молекулярный комплекс Rut с AHed жидкофазным способом. Комплексообразование Rut с AHed изучено методами электронной и ИК-Фурье-спектроскопии. Сравнение ИК-спектров показало, что при образовании комплекса происходит смещение полос поглощения валентных колебаний связей O–H, C=O и

C–O (в C–O–C и C–OH). Наличие сдвигов полос поглощения свидетельствует о наличии водородных связей между Rut и AHed, образующими комплекс.

Состав комплекса установлен методом изомолярных серий в спектрофотометрическом варианте. Константа устойчивости комплекса была рассчитана на основе изомолярной кривой.

Проведено исследование антиоксидантной и аллелопатической активности комплекса Rut с AHedC.

1. Gullón B., Lú-Chau T.A., Moreira M.T. et al. Rutin: a review on extraction, identification and purification methods, biological activities and approaches to enhance its bioavailability // Trends Food Sci. Technol., 2017, vol. 67, pp. 220-235, doi: 10.1016/j.tifs.2017.07.008.

2. Yakovishin L.A., Grishkovets V.I. Ivy and licorice triterpene glycosides: promising molecular containers for some drugs and biomolecules // Studies in Natural Product Chemistry, 2018, vol. 55, pp. 351-383, doi: 10.1016/B978-0-444-64068-0.00011-5.

СЕКЦИЯ 4. БИОФИЗИЧЕСКАЯ ЭКОЛОГИЯ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕСУРСЫ

СООБЩЕСТВА МИКРООРГАНИЗМОВ, ФОРМИРУЮЩИЕСЯ В МОРЕ, НА ПОКРЫТИЯХ, СОДЕРЖАЩИХ БИМЕТАЛЛИЧЕСКИЕ НАНОЧАСТИЦЫ *Communities of Microorganisms Formed in the Sea on Coatings Containing Bimetallic Nanoparticles*

Андреева Н.А.^{1,2}, Копытина Н.И.³, Сизова О.С.^{1,2}, Мосунов А.А.¹, Евстигнеев В.П.¹

¹ Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, *andreeva.54@list.ru*

² Институт природно-технических систем, г. Севастополь, РФ

³ Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина, пос. Борок, РФ

В период с 30 августа по 28 октября 2022 г. в прибрежной акватории г. Севастополь (Чёрное море) был проведён эксперимент по исследованию сообществ микрорастающих, формирующихся в естественных условиях, на пластинах, покрытых экспериментальными составами, содержащими наночастицы в качестве антиобрастающего агента. Покрытие было изготовлено на основе эпоксидной смолы, с использованием ксилола в качестве растворителя. Исследуемые наночастицы были добавлены в растворитель и при помощи ультразвукового диспергатора была изготовлена однородная суспензия, содержащая 15–20% наночастиц (НЧ) по массе. В работе исследовались антиобрастающие эффекты следующих НЧ: ZnO-FeZnO, CuO-FeCuO, ZnTi₂O₄-ZnO (15%), ZnTi₂O₄-TiO₂ и Ag-TiO₂. Биметаллические НЧ металлов получены от коллег из Института физики прочности и материаловедения СО РАН, г. Томск в рамках работ по гранту РФФИ 21-13-00498. Покрытия были нанесены кистью в два слоя на пластины из полиметилакрилата. Одна пластина без покрытия была использована в качестве контроля (К). Для сравнения противообрастающих свойств составов с НЧ параллельно были экспонировали пластины с противообрастающей эмалью Биопласт-52 (БП) (Эмаль “Биопласт-52”. 2017. Технические условия. ТУ 20.30.12.130-002-03218320-2017. Дата введения 05.09.2017 г.). Размер пластин 10,0x15,0x0,3 см. Пластины закрепляли в металлических рамах на расстоянии 3 см друг от друга, конструкцию помещали на глубину от 2 м перпендикулярно поверхности воды. Отбор проб проводили через три, тринадцать, двадцать и шестьдесят суток. В течение эксперимента проводили замеры параметров морской воды (температура, рН, солёность, проводимость). В частности, температура понижалась от 25,5⁰С до 21,8⁰С.

Бактерии и микроскопические грибы выделяли из смывов методом посева на агаризованные среды. Микроводоросли и цианобактерии исследовали в суспензии смывов или после культивирования на жидкой модифицированной среде Громова №6, приготовленной на морской воде.

На всех пластинах численность бактерий изменялась от десятков до сотен КОЕ/см², но колебания не превышали одиннадцати раз. Наибольшие изменения численности отмечены на контрольных пластинах от 35 (третьи сутки) до 380 КОЕ/см² (шестидесятые сутки). Средняя численность составляла 107 (CuO-FeCuO) – 268 КОЕ/см² (контроль). По срокам экспозиции суммарная средняя численность бактерий на всех субстратах менялась незначительно – 188 (третьи сутки) до 255 КОЕ/см² (тринадцатые сутки). Следовательно, в бактериальном обрастании экспериментальных пластин не выявлены статистически значимые различия между субстратами и по времени экспозиции.

Определено 32 вида грибов из 15 родов, 11 семейств, 8 порядков, 6 классов, 2 отделов и группа неидентифицированных таксонов Fungi spp. Доминировали представители семейств Aspergillaceae (роды *Aspergillus* – 5 видов; *Penicillium* – 5) и Pleosporaceae (*Alternaria* – 6, *Paradendryphiella* – 1). Количество таксонов на покрытиях изменялось от 14 (К) до 18 (НЧ Ag-TiO₂), средняя численность – от 174 (БП) до 1096 (НЧ Ag-TiO₂). На разных сроках экспозиции выделяли 21-25 видов грибов, наименьшая средняя суммарная численность на пластинах составляла 15 КОЕ/см² (третьи сутки), наибольшие значения отмечены на 20 сутки: число видов 25, средняя численность 1310 КОЕ/см². Сходство количественной структуры микокомплексов изменялось от 13,3 (третьи и двадцатые сутки) до 46,0% (тринадцатые и шестидесятые сутки). R-статистика для одноуровневого теста по методу рандомизации выявила, что общее различие структуры микокомплексов по суткам экспозиции близко к статистически достоверной (R=0,455, уровень значимости 0,1%). Наибольшие различия выявлены в количественной структуре комплексов между тринадцатыми и двадцатыми сутками (R=0,518), между третьими и двадцатыми (R=0,695), а также между двадцатыми и шестидесятыми сутками (R=0,707, уровень значимости 0,2%).

На субстратах обнаружено 28 таксонов водорослей разной ранговой принадлежности (в основном идентификация водорослей выполнена до рода, некоторые до более высоких рангов). В составе обрастаний доминировали диатомовые водоросли из родов *Amphora*, *Amphipleura*, *Navicula*, *Cylindrotheca*, *Coscinodiscus*, *Cymbella*, *Pinnularia*, *Melosira*, *Nitzschia*, *Entomoneis*, *Pleurosigma*, цианобактерии из родов *Aphanocapsa*, *Microcystis*, *Chroococcus*, *Leptolyngbya*, *Spirulina*, несколько зелёных форм, динофитовые водоросли и лентообразные и гантелевидные организмы неясного систематического положения. Общее число таксонов на

субстратах изменялось от 15 (БП) до 29 ($ZnTi_2O_4-TiO_2$), в течение экспозиции от 20 (третьи сутки) до 31 (шестидесятые сутки). Статистически значимого различия в систематической структуре таксоценов водорослей не выявлено, как на субстратах, так и по срокам экспозиции.

Работа по синтезу НЧ, изготовлению модифицированных покрытий и организации эксперимента выполнены за счет гранта РНФ 21-13-00498, <https://rscf.ru/project/21-13-00498>. Исследование микромицетов проведено за счет государственного задания: Института биологии внутренних вод РАН №121051100102-2.

НОВЫЙ НАУЧНО-МЕТОДИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКЕ СЕМЯН ЛЬНА, ПОВЫШАЮЩЕЙ ВСХОЖЕСТЬ И ПРЕДОТВРАЩАЮЩЕЙ СЛИПАНИЕ ПОСЕВНОГО МАТЕРИАЛА

A New Scientific and Methodological Approach to the Ecological Processing of Flax Seeds, which Increases Germination and Prevents the Adhesion of Seed Material

Будник М.И.¹, Сергеев С.Н.², Тараскин К.А.², Апашева Л.М.³, Ростовцев Р.А.⁴, Ущановский И.В.⁴, Пролетова Н.В.⁴, Лобанов А.В.^{3,5}, Степнова А.Ф.⁵, Казиев Г.З.⁵, Овчаренко Е.Н.³, Барнашова Е.К.⁶, Смунова Л.А.³, Грузинский А.В.¹

¹Российская академия ракетных и артиллерийских наук, г. Москва, РФ, ziraf@mail.ru

²Научно-исследовательский институт прикладной акустики, г. Дубна, РФ, kant1958@yandex.ru

³Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семёнова, г. Москва, РФ

⁴Федеральный научный центр лубяных культур, г. Тверь, РФ

⁵Московский педагогический государственный университет, г. Москва, РФ

⁶Федеральный аграрный научный центр Юго-Востока, г. Саратов, РФ

Лён – одна из ценнейших технических и масличных культур, значение которой в мире до сих пор очень велико. Россия на протяжении многих столетий являлась основным мировым производителем льна. Проблема возрождения производства, переработки льна и повышения его урожайности в Российской Федерации является особенно актуальной в настоящее время, так как лён становится основным сырьевым источником для пороховой промышленности и специальной химии взамен импортного хлопка [1].

Известно, что слизь из семян льна образуется во вторичной клеточной стенке эпидермальных клеток оболочки семян и способствует их распространению животными, адгезии с почвой, привлечению почвенных микроорганизмов в ризосфере, а также используется в питании проростка [2]. После увлажнения семян льна при их предпосевной обработке выделяется слизь, и семена слипаются, что осложняет и замедляет процесс предпосевной подготовки семенного материала.

Новый научно-методический подход к экологической обработке семян льна основан на создании рецептурного экологически чистого состава, состоящего из природного стимулятора роста и развития растений и полимера, образующего биodeградируемую полимерную пленку природного происхождения на семенах, не пропускающую слизь наружу и тем самым предотвращающую слипание семян после их обработки.

В качестве стимулятора роста и развития льна использовался экологически чистый водный раствор пероксида водорода природной концентрации от $2,94 \times 10^{-6}$ до $82,00 \times 10^{-6}$ М, который одновременно являлся растворителем для природного биodeградируемого полимера инулина, представляющего из себя D-фруктозу, хорошо растворимую в воде; концентрация инулина при этом находилась в диапазоне 1,5–2,5%.

В экспериментах использовали «устройство получения экологически чистого раствора пероксида водорода для стимуляции роста и развития растений» (RU 2773011 C1), который не содержал каких-либо стабилизаторов и других примесей. Концентрацию водного раствора пероксида водорода определяли методом йодометрии [3].

Инулин выделен из корней топинамбура по методике, изложенной в RU 2485958 C1, с модификацией, основанной на кавитационной обработке сырья в роторно-пульсационном аппарате.

Рецептура для обработки семян готовилась путём смешения вышеуказанных компонентов на основе деионизированной воды с последующим тщательным перемешиванием до получения однородного прозрачного состава. В контроле семена обрабатывались только деионизированной водой.

В экспериментах использовали семена льна-долгунца сорта Универсал урожая 2020 года. Проводили полусухую обработку семян, затем их просушивали до полного высыхания и образования сыпучего состояния.

Наилучший результат был получен после обработки семян льна составом, состоящим из экологически чистого водного раствора пероксида водорода с концентрацией 5×10^{-6} М и 2% раствора инулина, а именно: слипание семян отсутствовало, а всхожесть семян увеличилась на 30% по сравнению с контролем.

Определение интенсивности пробуждения семян по выходу метаболитов в воду в опытной и контрольной группах на спектрофотометре Specord UV-Vis при $\lambda_{\max} = 207$ нм подтверждает полученные выше данные: показатель оптической плотности через один час в опыте был в 1,75 раз больше, чем в контроле.

Таким образом, разработан новый научно-методический подход к экологической обработке семян льна, повышающей всхожесть и предотвращающей слипание посевного материала.

1. Лён в пороховой промышленности. 3-е изд., доп. и перераб. Под ред. И.Н. Торгуна. М.: ФГУП «ЦНИИХМ», 2021, 392 с.
2. Пороховинова Е.А., Павлов А.В., Брач Н.Б., Морван Н. Углеводный состав слизи из семян льна и его связь с морфологическими признаками // Сельскохозяйственная биология, 2017, т. 52, № 1, с. 161-171, doi: 10.15389/agrobiology.2017.1.161.rus.
3. Лобанов А.В., Рубцова Н.А., Комиссаров Г.Г. Фотокаталитическая активность хлорофилла в образовании пероксида водорода в воде // Доклады Академии наук, 2008, т. 421, № 6, с. 773-776.

АНГИДРОБИОЗ В СООБЩЕСТВЕ ЗЕЛЕННОЙ НИТЧАТОЙ ВОДОРΟΣЛИ *CLADOPHORA* В ГИПЕРСОЛЕННОМ ЗАЛИВЕ СИВАШ *Anhydrobiosis in the Community of the Green Filamentous Algae *Cladophora* in the Hypersaline Sivash Bay*

Гассиев Д.Д.¹, Шадрин Н.В.^{1,2}, Празукин А.В.²

¹ Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ

² Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь, РФ, snickolai@yandex.ru

Способность формировать покоящиеся стадии, включая, организмы, находящиеся в состоянии ангидроброза (обезвоживания), является адаптацией, позволяющей гидробионтам существовать в экстремальной меняющейся среде. Она характерна для многих одноклеточных организмов и животных гиперсоленых водоемов (соленость выше 35 г/л) [1]. В крупнейшей гиперсоленой лагуне мира заливе Сиваш (Азовское море) зеленая нитчатая водоросль *Cladophora sivashensis* С.Мeyer, 1922 создает огромные маты, которые занимают десятки квадратных километров, с высокой биомассой, до 5 кг/м² [2]. При этом концентрация животных и инфузорий в кладофоровых матах огромна [2,3]. Было выдвинуто предположение, что как сама кладофора, так и с ней ассоциированные организмы, способны длительно находиться в состоянии ангидроброза. Для проверки этой гипотезы были поставлены две серии экспериментов. В первой серии использовали кладофору, собранную в водоеме и высушенную в сушильном шкафу при температуре 45 °С. Затем через 5, 10, 20 и 30 дней хранения в холодильнике проверяли ее жизнеспособность при помещении в воду соленостью 50 г/л. Определяли также концентрацию хлорофилла в биомассе. Водоросль восстанавливала нормальную жизнедеятельность при всех сроках хранения. Чем дольше хранили водоросль, тем меньше была концентрация хлорофилла и тем дольше происходило восстановление нормального уровня хлорофилла. В заливе Сиваш осенью маты выбрасываются на берег и высыхают. В июне 2022 г. был взят фрагмент такого мата, с которым был проведен многодневный опыт. Для опыта кусочки мата помещали в сосуды с соленостью 0, 30, 50 и 100 г/л. Опыт показал: 1. что при длительном нахождении сухого мата на свету, кладофора теряет способность к восстановлению нормальной жизнедеятельности, 2. при этом при всех соленостях отмечали выход активных стадий жаброногого рачка артемии и 6 видов инфузорий. Интересно отметить, что три вида инфузорий ранее в Сиваше не отмечали.

Полученные данные – лишь первый шаг к пониманию роли ангидроброза в динамике сообщества кладофоры.

1. Shadrin N.V., Anufriieva E.V., Amat F., Eremin O.Y. Dormant stages of crustaceans as a mechanism of propagation in the extreme and unpredictable environment in the Crimean hypersaline lakes // Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2015, vol. 33, pp. 1362-1367.
2. Anufriieva E., Kolesnikova E., Revkova T. et al. Human-Induced Sharp Salinity Changes in the World's Largest Hypersaline Lagoon Bay Sivash (Crimea) and Their Effects on the Ecosystem // Water, 2022, vol. 14, iss. 3, art. no. 403, 17 p. doi: 10.3390/w14030403.
3. Prazukin A.V., Anufriieva E.V., Shadrin N.V. Cladophora mats in a Crimean hypersaline lake: structure, dynamics, and inhabiting animals // Journal of Oceanology and Limnology, 2018, vol. 36, iss. 6, pp. 1930-1940, doi: 10.1007/s00343-018-7313-4.

**СРАВНЕНИЕ МИКРОПЛАНКТОНА ВОЗЛЕ БАЗЫ МОКРОУСОВА И В ФОРОСЕ (КРЫМ):
ОБЪЕДИНЕНИЕ ДАННЫХ ИЗ РАЗНЫХ ИСТОЧНИКОВ**
**Comparison of Microplankton near Mokrousov Camp and in Foros (Crimea): Combining Data from Different
Sources**

Гладыш М.А.¹, Хавронюк И.С.¹, Таран Н.А.¹, Гунькова А.К.¹, Челябинина Н.С.², Железнова С.Н.²,
Лишаев Д.Н.², Стельмах Л.В.², Кузнецов А.В.^{1,2}

¹ Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, *magladush2003@gmail.com*

² Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь, РФ

С бурным развитием информационных технологий появились глобальные базы данных со свободным доступом и развитым пользовательским интерфейсом в различных областях от молекулярной биологии до спутникового мониторинга. В этой связи, возникает закономерный вопрос о возможности их совместного использования с целью создания общей картины при изучении узкой биологической проблемы на нескольких уровнях организации – от молекул к экосистемам и обратно.

Цель работы: совместить разные методические подходы для планирования перспективных исследований в области биотехнологии.

Методы. Изучали коллекции морских микроводорослей Карадагской научной станции им. Т.И. Вяземского и Отдела экологической физиологии водорослей ФИЦ ИнБЮМ им. А.О. Ковалевского [1]. Пробы поверхностного прибрежного микропланктона собирали с помощью установки последовательной фильтрации «Бибер-2» [2] с пирсов на 3 станциях: пляж Якорь возле базы отдыха Мокроусова, пляж в санатории Форос и радиобиологический корпус (РБК) ИнБЮМ. Организмы фиксировали 2,5% глутаровым альдегидом, доставляли в лабораторию и изучали под световыми микроскопами Zeiss Stemi 305 и Nikon Eclipse Ts2R, а также в электронном микроскопе Hitachi SU3500. Спутниковые данные брали в базе Copernicus [3]. Поиск секвенированных организмов осуществляли в NCBI [4], деревья родства строили в Clustal Omega [5], 3D-модели протеинов – с помощью Phyre2 [6].

Результаты и обсуждение. **Работа с базами данных.** В коллекции Карадагской станции ИнБЮМ содержится 20 записей о представителях морских планктонных организмов с известными отдельными последовательностями ДНК и белков. Например, число известных ДНК *Pseudo-nitzschia pungens* составляет 64979, белковых последовательностей – 24400. Однако в массиве данных от 05.05.2023 нет ни одного организма с изученным геномом. Поэтому исходный массив был дополнен двумя записями, среди которых диатомовая водоросль *Phaeodactylum tricorutum*, которая обладает секвенированным геномом размером 275 Мб, включающим 10398 генов, 146125 секвенированных фрагментов ДНК и 27846 белковых последовательностей.

Для выбора близлежащих станций использовали данные Copernicus. Такими оказались пляж Якорь в районе Учкучевки возле базы отдыха Мокроусова (44°39'11.0"N 33°32'20.2"E) и пляж в Форосе (44°23'17.9"N 33°46'54.7"E), для которых существует два независимых множества спутниковых данных. Кроме того, выбранные станции отличаются по ландшафту. Для района Учкучевки характерна пологая песчаная местность, а для Фороса – скалы и большой перепад высот и глубин. Станция РБК (44°36'56.7"N 33°30'11.0"E) выбрана в качестве контрольной, т.к. на ней проводятся круглогодичные исследования планктона. При использовании спутниковых данных по температуре, солености, значению pH, содержанию кислорода и хлорофилла за последний год выявлен следующий тренд: с понижением температуры в зимний сезон, общее количество хлорофилла увеличивается, а при повышении температуры летом – уменьшается, поскольку в холодной воде содержится больше питательных веществ, чем в теплой.

Микроскопия. При изучении размерной фракции планктона от 150 до 2-5 мкм под световым микроскопом при увеличении 400 раз обнаружены многочисленные представители диатомовых и динофитовых водорослей, а также отдельные личинки, яйца и цисты морских обитателей на всех 3 станциях. С помощью сканирующей электронной микроскопии изучена тонкая морфология отдельных представителей диатомовых и динофитовых водорослей. Биоразнообразие увеличивалось с севера на юг в ряду станций: Мокроусова, РБК, Форос. Число морфотипов составило 9 для станции Мокроусова, 10 для РБК и 19 для станции в Форосе. Среди обнаруженных видов отмечены *Licmofora gracilis*, *Ceratium furca* и *Protoperdinium steinii* на станции Мокроусова. На РБК выявлены колонии ликмофоры, а также цепочки и одиночные *Chaetoceros* sp. Больше всего видов отмечено для станции Форос, например, *Coscinodiscus gigas*, *P. steinii* и *L. gracilis*.

Биоинформатика. У диатомеи *P. tricorutum* методами биоинформатики найдено 4 белка транспортера кремния ACJ65491.1, ACJ65492.1, ACJ65493.1 и ACJ65494.1. Множественное выравнивание позволило построить их направляющее дерево. Редакционное расстояние между протеинами ACJ65492.1 и ACJ65493.1 отсутствует. Редакционная дистанция для ACJ65491.1 составляет 0,0523715, а для ACJ65494.1 – 0,285865. Пространственная реконструкция кремниевых транспортеров позволила построить наилучшую 3D модель для белка ACJ65494.1 с достоверностью 76,8% и покрытием 24%. В силу малой изученности данного класса протеинов, 3D модель представляет ¼ часть общепринятой модели транспортера кремния на N-конце полипептидной цепи [7].

Заключение. Выбраны две ближайшие станции в Учкучевке и в Форосе для которых имеются отдельные спутниковые данные. Обнаруженные в пробах планктонные организмы были описаны ранее [8], биоразнообразие

прибрежного микропланктона Гераклейского полуострова возрастает с усложнением рельефа с севера на юг. В силу недостатка необходимых сведений в базе сервера Phyre2 требуются другие инструменты построения пространственных моделей транспортеров кремния. Стратегия совмещения разных методов исследования позволяет надеяться на успешный поиск и использование диатомовых водорослей в нанотехнологии.

Выводы. 1. Собран массив данных по черноморскому микропланктону и связан с реляционной базой данных NCBI.

2. Обнаружены обратные зависимости для температуры и содержания хлорофилла возле Гераклейского полуострова.

3. Показано увеличение разнообразия прибрежных планктонных организмов от Учкеевки к Форосу, что связано с усложнением ландшафта.

4. У диатомовой водоросли *Phaeodactylum tricornutum* найдено 4 белка – транспортера кремния.

5. Построена пространственная структура N-концевой части одного из транспортеров кремния.

1. ЦКП «Коллекция диатомовых водорослей Мирового океана», <https://ibss-ras.ru/about-ibss/structure-ibss/tentry-kollektivnogo-polzovaniya/collection-of-diatoms-of-world-ocean/catalogues-of-collections.php>

2. Уфимцева М.А., Кузнецов А.В. Экспресс-оценка размерных фракций планктона в акватории г. Севастополь зимой 2021-2022 гг: модельные исследования // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2022, т. 7, № 4, с. 640-644.

3. Copernicus, <https://marine.copernicus.eu/>

4. NCBI, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

5. Clustal Omega, <https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>

6. Phyre2, <http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/~phyre2/html/page.cgi?id=index>

7. Durkin C.A., Koester J.A., Bender S.J., Armbrust E.V. The evolution of silicon transporters in diatoms // J. Phycol., 2016, vol. 52, no. 5, pp. 716-731.

8. Стельмах Л.В., Губанов В.И., Бабиц И.И. Сезонные изменения скорости роста и лимитирование фитопланктона питательными веществами в прибрежных водах Черного моря в районе Севастополя // Морской экологический журнал, 2004, т. 3, № 4, с. 55-73.

ОТ БАЗ ДАННЫХ К ЭКСПЕРИМЕНТАМ НА МОДЕЛИ КАДЫКОВСКОГО КАРЬЕРА From Databases to Experiments on the Model of Kadykovsky Quarry

Гуныкова А.К.¹, Тихонов С.Ю.¹, Курченко В.М.¹, Подкидышева Ю.К.², Поспелова Н.В.³, Лишаев Д.Н.³,
Кузнецов А.В.^{1,2,3}

¹ Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, gynkova1@gmail.com

² Центр дополнительного образования «Малая академия наук», г. Севастополь, РФ

³ Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь, РФ

Сравнение образцов собранного в экспедициях биологического материала с огромным количеством ранее накопленных данных представляет сложную задачу. Биологические знания распределены по не связанным друг с другом коллекциям, каталогам, статьям и электронным базам данных. Особенно проблематична связь между традиционным морфологическим описанием организмов и их современными молекулярно-генетическими характеристиками. Кадыковский карьер – это красивое озеро искусственного происхождения в Крыму. Оно появилось сравнительно недавно и за последние годы стало широко известно благодаря социальным сетям. Интерес представляют не только его необычные форма в виде сердечка и бирюзовый цвет, но и живые обитатели. Флора и фауна Кадыковского карьера не изучались. Озеро Сердце может служить моделью условно изолированного биогеоценоза.

Цель работы: изучить пробы микропланктона из Кадыковского карьера и провести их анализ. Для достижения поставленной цели решали следующие задачи: 1) исследовать базы данных пресноводных микропланктонных организмов Карадагской станции ИнБЮМ; 2) найти организмы с секвенированным геномом; 3) провести микроскопический анализ планктонных организмов из Кадыковского карьера.

Методы. Работа с базами данных. В качестве исходных данных использовали доступную информацию по пресноводному микропланктону из коллекции Карадагской научной станции им. Т.И. Вяземского [1,2]. После сбора таксономических данных, информация была залита в локальный массив данных. Из реляционной базы данных NCBI [3] были извлечены значения геномных, нуклеотидных и белковых последовательностей, а также внешний вид организмов, которые занесли в соответствующие поля таблицы.

Отбор и подготовка проб. Пробы поверхностного микропланктона отбирали в западной части Кадыковского озера возле берега 24 июня 2023 г. Через фильтры 300, 150, 84 и 2-5 мкм сепаратора «Бибер-2» [4] медленно прокачали 100 л воды. Извлекли фильтры и промыли их чистой пресной водой. К полученным фракциям добавили глутаровый альдегид (ГА) до концентрации 2,5%. Пробы просматривали в лаборатории под световым микроскопом (СМ) Zeiss «Stemi 305» и фотографировали под микроскопом Nikon «Eclipse T2R», а также в электронном растровом микроскопе (ЭМ) Hitachi «SU3500».

Электронная микроскопия. Для ЭМ использовали третью фракцию (-150, +84 мкм), так как СМ показала там обилие микропланктона. Исходную пробу развели в 50 мл чистой воды и профильтровали под вакуумом, а фильтр (0,2 мкм) аккуратно поместили на поверхность раствора 2,5% ГА на 15 мин. Пробы промыли несколько раз по 10 мин, помещая их на поверхность дистиллированной воды. Фрагменты фильтра приклеили двусторонним скотчем к поверхности токопроводящего столика, напылили золотом и платиной в установке Leica «EM ACE200» в течение 15 мин, поместили в ЭМ, откачали воздух до глубокого вакуума и позиционировали при малом увеличении. При детальном исследовании образцы рассматривали с разных ракурсов.

Результаты и обсуждение. Биоинформатика. В массиве данных содержится 8 видов пресноводных диатомовых водорослей: *Asterionella formosa*, *Fragilaria radians*, *Hantzschia amphioxys*, *Nitzschia palea*, *Tabellaria* sp., *Ulnaria acus*, *Ulnaria danica* и *Ulnaria ulna*. У трех из них прочитан геном: *A. formosa* (GCA_002256025.1, 68,4 Mb), *F. radians* (GCA_900642245.1, 98,4 Mb) и *N. palea* (GCA_019593585.1, 41,2 Mb). Нуклеотидные последовательности могут быть загружены на локальный сервер для дальнейшей обработки. Все организмы являются фотосинтетиками, так как у них присутствует белок рибулозобисфосфаткарбоксилаза, RuBisCo – фермент, катализирующий присоединение углекислого газа к рибулозо-1,5-бисфосфату на первой стадии цикла Кальвина.

Микроскопия. При изучении размерных фракций планктона от 150 до 2-5 мкм под световым микроскопом при увеличении до 400 раз обнаружено, что пробы обогащены преобладающим видом организмов. Данный морфотип («Эйфелева башня») встречался в третьей (-150, +84 мкм) и четвертой (-84, +2-5 мкм) пробах. ЭМ организмов, обнаруженных в третьей фракции, показала, что их длина превышает 200 мкм, а ширина 70 мкм. Поверхность неизвестного организма покрыта панцирем со множеством отверстий, состоящим из эпитеки и гипотеки, разделенных пояском. На передней части эпитеки имеется единственный апексный вырост с открытым зубчатым концом. На гипотеке расположены два выроста, заканчивающихся острым закрытым концом. Также можно наблюдать валики, разделяющие поверхность найденного неизвестного организма на части. Панцирь представляет собой налегающие друг на друга пластины, которые пронизаны порами диаметром 0,5 мкм. Полученные при помощи микроскопии фотографии сравнили с морфологическими данными из созданного массива по пресноводному микропланктону.

Заключение. Благодаря снимкам, сделанным с помощью двух видов микроскопии, можно сделать заключение, что микропланктонный организм, который доминирует в Кадыковском карьере, внешне не похож ни на один из видов Карадагской базы данных пресноводного микропланктона. Обнаруженный нами биообъект напоминает динофитовую водоросль *Ceratium hirundinella* (O.F.Müller) Dujardin, 1841, которая встречается как в соленой, так и в пресной воде и является фотосинтезирующей, а также бывает ответственна за цветение и токсичность водоёмов [5-7]. Тело *C. hirundinella* темно-коричневое, с центральной бороздкой, имеет длину от 80 до 400 мкм и сильно сплющено. Внешний шип длинный и узкий, с тупым концом, два рога на противоположной стороне прямые с заостренными концами и обычно расходятся в разных направлениях. Организмы двигаются вращательно, что возможно, способствует прикреплению к оперению водоплавающих птиц.

Выводы. 1. Создан массив данных пресноводных планктонных организмов, связанных с базой NCBI.

2. Отобраны размерные фракции микропланктона из Кадыковского карьера на фильтрах: 300, 150, 84 и 2–5 мкм.

3. Проведена световая микроскопия размерной фракции планктона от 150 до 2–5 мкм и электронная микроскопия фракции от 150 до 84 мкм.

4. Обнаружен доминирующий организм, предположительно, динофитовая одноклеточная водоросль *C. hirundinella*.

5. Возможно, организм-вселенец был занесен в водоем водоплавающими птицами (утки, чайки, бакланы и др.), которые обитают в этом ареале.

1. Давидович Н.А., Давидович О.И., Подунай Ю.А. Коллекция культур диатомовых водорослей Карадагской научной станции (Крым) // Морской биологический журнал, 2017, т. 2, № 1, с. 18-28.

2. ЦКП «Коллекция диатомовых водорослей Мирового океана», каталоги пресноводных видов, <https://ibss-ras.ru/about-ibss/structure-ibss/tsestry-kollektivnogo-polzovaniya/collection-of-diatoms-of-world-ocean/catalogues-of-collections.php>

3. NCBI, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

4. Уфимцева М.А., Кузнецов А.В. Экспресс-оценка размерных фракций планктона в акватории г. Севастополь зимой 2021-2022 гг: модельные исследования // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2022, т. 7, № 4, с. 640-644.

5. Nwankwegu A.S., Zhang L., Xie D. et al. Metabolites dynamics exacerbated by external nutrients inputs into a *Ceratium hirundinella*-dominated bloom in the Pengxi River, Three Gorges Reservoir, China // *Aquat Toxicol*, 2023, vol. 258, p. 106507.

6. Kutlu B., Aydın R., Danabas D., Serdar O. Temporal and seasonal variations in phytoplankton community structure in Uzuncayir Dam Lake (Tunceli, Turkey) // *Environ Monit Assess*, 2020, vol. 192, no. 2, p. 105.

7. Parulekar N.N., Kolekar P., Jenkins A. et al. Characterization of bacterial community associated with phytoplankton bloom in a eutrophic lake in South Norway using 16S rRNA gene amplicon sequence analysis // *PLoS One*, 2017, vol. 12, no. 3, p. e0173408.

СРАВНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ И ОКТОПИНДЕГИДРОГЕНАЗЫ У ЧЕРНОМОРСКОЙ МИДИИ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ

Comparison of Lactate Dehydrogenase and Octopindehydrogenase Gene Expression in the Black Sea Mussel under Experimental Hypoxia

Дегтяр И.В.¹, Кохан А.С.², Лантушенко А.О.¹, Солдатов А.А.^{1,2}

¹ Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, skuratovskaya95@mail.ru

² Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь, РФ

За последние десятилетия отмечается значительное увеличение гипоксических зон и по последним оценкам они занимают около 8% Мирового океана. Считается, что в условиях глобального потепления количество зон с критически низким уровнем кислорода будет увеличиваться [1,2]. Одними из наиболее устойчивых к недостатку кислорода организмов считаются моллюски. Данное свойство определяется их способностью переходить в гипометаболическое состояние [3].

При изучении неблагоприятного действия среды на организм моллюсков наряду с оценкой состояния антиоксидантного ферментного комплекса тканей широко используется анализ активности ряда маркерных ферментов тканевого метаболизма. Известно, что в условиях острой гипоксии в большинстве тканей усиливаются процессы анаэробного гликолиза, который может иметь видовую специфику. В глюкозо-опиновом и глюкозо-лактатном путях лактатдеhydroгеназа (*LDG*) и другие пируватредуктазы (т.е. опиновые дегидрогеназы) обеспечивают постоянную скорость гликолитических процессов и адекватный ресинтез АТФ за счет поддержания отношения $NADH/NAD^+$ [4]. Установлено, что многие из устойчивых к гипоксии организмов исключают накопление тканевого лактата. При этом они имеют высоко эффективную октопиндеhydroгеназу (*ODH*) и в качестве конечных продуктов накапливают одну из разновидностей опинов – октопин.

Исследование проводилось на взрослых особях черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819). В условиях эксперимента исследовалось влияние острых форм гипоксии на уровень экспрессии дегидрогеназ: октопиндеhydroгеназы (*ODH*) и лактатдеhydroгеназы (*LDG*). Контрольная и опытная группы мидий содержались при $15 \pm 1^\circ\text{C}$. Уровень кислорода в контрольной группе в воде составлял $8,5 \text{ мг O}_2 \text{ л}^{-1}$, а у опытной $1 \text{ мг O}_2 \text{ л}^{-1}$ с экспозицией – 24 часа. Фотопериод – 12 часов день: 12 часов ночь.

Общая РНК была выделена из жаберной ткани с использованием набора реактивов «РНК-ЭКСТРАН» (Синтол, Россия) в соответствии с протоколом производителя. Из каждой экспериментальной группы (контроль, суточная гипоксия) было отобрано по десять особей. Количество и качество выделенной РНК проверяли методом электрофореза на 1,5 % агарозном геле и на флуориметре Qubit 4,0 (Thermo Fisher Scientific, США). кДНК синтезировали с использованием набора Mint-2 (Евроген, Россия) в соответствии с протоколом производителя. Обратную транскрипцию проводили в конечном объеме 15 мкл, содержащем 1 мкг очищенной общей РНК. В качестве референса использовали ген фактора элонгации (*EF-1*). Количественный ПЦР-анализ в реальном времени (RT-qPCR) проводили на амплификаторе ПЦР в реальном времени CFX96 (BioRad, США) с использованием набора qPCRmix-HS с красителем SYBR Green I (Евроген, Россия). Эффективность амплификации определяли путем построения стандартной кривой с последовательными разведениями кДНК. Для каждого измерения определяли пороговое значение C_t . Для расчета относительной экспрессии использовали метод $\Delta\Delta C_t$ [5].

Исследования показали, что относительная экспрессия *ODH* превышает экспрессию *LDG* более чем в 10 раз, при этом экспрессия *LDG* при гипоксии возрастает в 3,3 раза, а для *ODH* аналогичное значение 3,5.

1. Paulmier A., Ruiz-Pino D. Oxygen minimum zones (OMZs) in the modern ocean // Progress in Oceanography, 2009, vol. 80, no. 3-4, pp. 113-128.

2. Karstensen J., Stramma L., Visbeck M. Oxygen minimum zones in the eastern tropical Atlantic and Pacific Oceans // Prog. Oceanogr., 2008, vol. 77, pp. 331-350, doi: 10.1016/j.pcean.2007.05.009.

3. Gille O. et al. Erector spinae muscle changes on magnetic resonance imaging following lumbar surgery through a posterior approach // Spine, 2007, vol. 32, no. 11, pp. 1236-1241.

4. Gäde G., Grieshaber M.K. Pyruvate reductases catalyze the formation of lactate and opiines in anaerobic invertebrates // Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry, 1986, vol. 83, no. 2, pp. 255-272.

5. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta C_t$ method // Methods, 2001, vol. 25, no. 4, pp. 402-408.

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ЦЕЛОСТНОСТЬ МЕНДЕЛЕЕВСКОЙ ПЛАНЕТЫ ЗЕМЛЯ Ecological Integrity of the Mendeleev Planet Earth

Иванова Э.А.

Уфимский институт биологии РАН, УФИЦ УИБ РАН, г. Уфа, fiona_belobor@mail.ru

Именно такая мысль возникла на основе цикла работ, посвященных зко-геномно-протеомному анализу стрессоустойчивости растений в связи с тематическим направлением “*Plant Gen*”. Этому способствовал и доклад Г.Ю. Резниченко «Мышление и экологическое сознание» по материалам «Нелинейные явления в биологии», Пушино, 1998.

В мире планеты (planet) растений (plant) многие проблемы из области экологии, энергетики, передачи информации, выполняемые растениями (plants) безупречны и одновременно просты [1]. Человек учится у растений, постигает их способы и методы освоения в решении своих проблем: «Что такое жизнь?». Этот пространственно-временной процесс происходит неотрывно в фазовых режимах единения Линнеевской системы организации мира флоры и фауны по пути Шлейденского проникновения в суть организации клеточного ядра и его фазовых циклов, где хранится видовой код ДНК. На всём передвижении ДНК, по фазам клеточного цикла живых клеток и организма, сопровождают белковые-*супер-атомно*-молекулярные ансамбли, которые постоянно перестраиваются, выбирая «А.М.Ляпуновскую позицию устойчивости», в условиях окружающей среды. Известно, что «.вершина теоретической химии – периодический закон Менделеева - была достигнута независимо от физики, но лишь квантовая механика позволила раскрыть истинный смысл этого закона» [2].

Молекулярная физико-химия, занимающаяся строением и свойствами биологически функциональных молекул и атомно-молекулярным истолкованием явлений жизнедеятельности, за короткое время стала широко развитой наукой, активно делающей шаги навстречу возрастающей сложности изучения запрограммированных супрамолекулярных систем, вплоть до экосистем [3].

Идеальным модельным объектом, в этом случае, являются коллекционные семена ВИРа, преобразованные селекционерами из фенотипа яровой пшеницы в озимый фенотип и из последнего вновь в яровой фенотип.

Предполагается возможное переключение генетических подпрограмм развития осуществляется за счёт комбинаторного принципа протеомных ансамблей, потенциальных эпигенетических сетей «гистонового кода», где одна из позиционных функций принадлежит аргининбогатому белковому кору, в условиях экосистемы окружающей среды.

Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России № 075-00326-19-00 по теме № НИОКТР АААА-А18-118022190104-7 В работе использована приборная база Центра коллективного пользования «Агидель» УФИЦ РАН.

1. Патури Ф. Растения – гениальные инженеры природы (перевод с немецкого Ю.И. Куколёва). Москва: Издательство «Прогресс». 1982, 271 с.

2. Волькенштейн М.В. Горизонты теоретической биофизики. М.: «Знание», 1980, с. 118-134.

3. Лен Ж.М. Супрамолекулярная химия. Новосибирск: «Наука», 1998, 334 с.

ВЛИЯНИЕ КРАТКОСРОЧНОГО ИЗМЕНЕНИЯ СОЛЕННОСТИ НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ГЕОМЦИТОВ СРЕДИЗЕМНОМОРСКОЙ МИДИИ

The Effect of Short-term Salinity Changes on the Functional Features of Mediterranean Mussel Hemocytes

Лавриченко Д.С., Ткачук А.А., Андреева А.Ю., Кладченко Е.С.

Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь, РФ, dlavrichenko01@gmail.com

Морские двустворчатые моллюски составляют около 14 % объемов мировой добычи морских ресурсов. При этом только 11 % мирового производства моллюсков добывается в диких экосистемах, а львиная доля получается путем аквакультурного выращивания [1]. Вместе с тем, эффективность аквакультуры моллюсков во многом определяется состоянием водной среды, и дальнейшее развитие отрасли возможно только с учетом глобальных проблем Мирового океана, таких как колебание солености [2]. Оценка перспектив расширения аквакультуры в контексте глобального изменения климата нуждается в фундаментальной базе, позволяющей выделить наиболее адаптивные объекты выращивания. В настоящем исследовании мы оценили ряд параметров, связанных с иммунитетом, после воздействия гипо- и гиперсоленосных стрессовых условий окружающей среды на двустворчатого моллюска *Mytilus galloprovincialis Lamarck, 1819*.

Двустворчатые моллюски размещались в пластиковых аквариумах емкостью 50-70 л, оборудованных системой аэрации и фильтрации воды (концентрация кислорода 7-8 мг л⁻¹, рН = 8,2, температура 18-20 °С) на период адаптации не менее 1 недели. Мидии были разделены на 6 групп: контроль (18 ‰), опытные гипосоленые (6 ‰, 10 ‰, 14 ‰), опытные гиперсоленые (24 ‰, 30 ‰, 40 ‰). Снижение солености в экспериментальных аквариумах достигалось путем постепенного разбавления воды в аквариумах дистиллированной водой со

скоростью 2 ‰ в сутки. Повышение солености осуществляли путем ежедневного добавления морской соли в аквариумы со скоростью 2 ‰ в сутки. После достижения желаемого уровня солености (6 ‰, 10 ‰, 14 ‰, 24 ‰, 30 ‰, 40 ‰) моллюски содержались в данных условиях в течение 2 дней, а затем производился сбор проб и анализ показателей. Гемолимфа отбиралась по стандартным протоколам. Непосредственно сразу после отбора анализировали функциональные показатели и маркеры клеточного иммунитета гемоцитов при помощи метода проточной цитометрии.

У мидий контрольной группы в гемолимфе агранулоциты и гранулоциты составляли около 50 %. В условиях гиперосмотической нагрузки (группа 24 ‰) доля гранулоцитов снижалась до 37 ‰ ($p < 0.05$), однако у мидий, акклиматизированных к солености 30 ‰, клеточный состав гемолимфы не отличался от контроля (18 ‰). В условиях гипосмотической нагрузки у мидий, подвергшихся воздействию солености 14 ‰ и 10 ‰, не зафиксировано статистически значимых изменений в клеточном составе гемолимфы, однако, при наименьшей экспериментальной солености (6 ‰) у моллюсков отмечалось достоверное снижение доли гранулоцитов более чем в 1,8 раза относительно контроля ($p < 0,05$).

Эффективность клеточного иммунного ответа гемоцитов мидий в условиях моделирования колебаний солености определялась по уровню продукции активных форм кислорода (АФК) в гемоцитах методом проточной цитометрии на основании анализа интенсивности флуоресценции гемоцитов, окрашенных красителем DCF-DA, свечение которого напрямую зависит от присутствия в клетках АФК.

В гемоцитах мидий всех опытных групп отмечалось достоверное увеличение спонтанной продукции АФК ($p < 0,05$). Интересно, что чем больше отличалась соленость в опытной группе от контроля, тем выше были показатели флуоресценции красителя DCF-DA, что свидетельствовало о высокой концентрации АФК в цитоплазме гемоцитов. Наибольший рост продукции АФК отмечался при экспериментальном снижении солености (в особенности в группе 6 ‰) ($p < 0,05$). Рост уровня внутриклеточного содержания АФК при изменении солености среды был характерен и для агранулоцитов, и для гранулоцитов мидий.

Исходя из полученных данных, выявлено, что колебания солености оказывают существенное воздействие на показатели клеточного иммунного ответа гемоцитов мидий. Внутриклеточное содержание АФК в гемоцитах может быть связано не только с иммунной системой моллюсков, но и с развитием в них окислительного стресса.

Доля мертвых гемоцитов в суспензиях определялась на основании цитометрического анализа флуоресценции клеток, окрашенных красителем йодистый пропидий (propidium iodide, PI). Уровень смертности гемоцитов в контрольной (18 ‰) и опытных группах (засоление и распреснение среды) не превышал 4 % и достоверно не различался.

Таким образом, хотя колебания солености среды были ассоциированы с достоверными изменениями клеточного состава гемолимфы в различных опытных группах, сравнительный анализ не выявил единого тренда в наблюдаемых различиях – ни в отношении направлении сдвига клеточного состава (преобладание определенного типа клеток), ни во взаимосвязи с направлением изменений солености (распреснение, или засоление). Вероятно, наблюдаемые изменения клеточного состава гемолимфы мидий являлись следствием сторонних процессов, и не зависели напрямую от колебаний солености среды. Хотя снижение солености до 6 ‰ не было связано с гибелью моллюсков в эксперименте, многочисленные нарушения функционального клеток гемолимфы, свидетельствует о неспособности мидий компенсировать негативное воздействие распреснения. Наименьшие изменения отмечались в экспериментальном диапазоне солености 14–24 ‰, что, вероятно, является неким допустимым пределом кратковременных изменений солености для данного вида моллюсков.

Работа выполнена в рамках гранта РНФ № 22-26-00165 «Функциональный и иммунный статус двустворчатых моллюсков-объектов марикультуры в условиях действия факторов глобальных изменений климата».

1. Wijsman J.W.M. et al. Global production of marine bivalves. Trends and challenges // Goods and services of marine bivalves, 2019, pp. 7-26.

2. Ahmed N., Thompson S., Glaser M. Global aquaculture productivity, environmental sustainability, and climate change adaptability // Environmental management, 2019, vol. 63, pp. 159-172.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ СООТНОШЕНИЯ БИОМАССЫ ЖЕЛЕТЕЛОГО И КОРМОВОГО ЗООПЛАНКТОНА В МИРОВОМ ОКЕАНЕ

Distribution of the Gelatinous-to-forage Zooplankton Biomass Ratio in the World Ocean

Минский И.А., Пионтковский С.А., Мегер Я.В.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, spiontkovski@mail.ru

Пространственно-временная изменчивость ряда биофизических характеристик океана (интенсивности биолюминесценции, звукорассеивающих слоев и др.) во многом зависит от распределения биомассы зоопланктона в нем. В трофической структуре морских экосистем зоопланктон является важным промежуточным звеном, регулирующим экологическую эффективность трансформации вещества и энергии от продуцентов (фитопланктона) к консументам высоких порядков. Зоопланктон неоднороден по таксономическому составу,

размерам организмов и занимаемым ими экологическим нишам. Эти различия наиболее заметны при сопоставлении кормового зоопланктона, составляющего рацион мелких пелагических рыб и желетелого зоопланктона, представленного гребневиками, медузами и другими организмами, с характерной желеобразной консистенцией. Пространственное распределение соотношения биомасс желетелого и кормового зоопланктона в Мировом океане мало изучено. На основе анализа международных баз данных (JeDI и COPEPOD) и опубликованных исследований (с осреднением данных за 1951-2004 гг.) мы рассчитали это соотношение для 43 регионов (рис. 1).

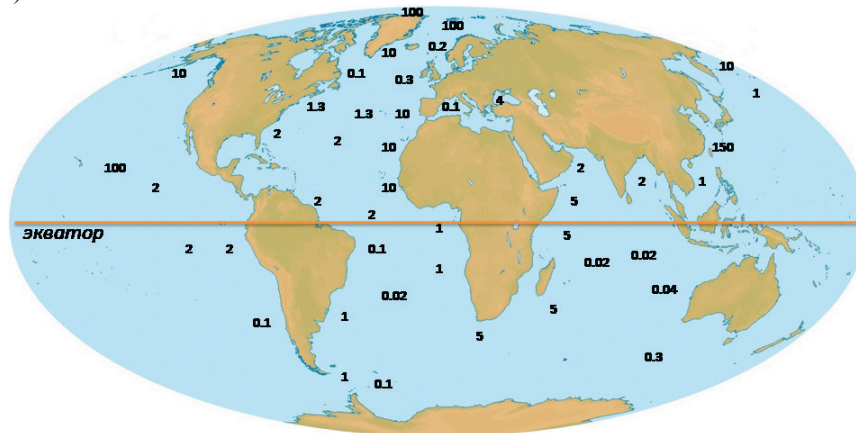


Рисунок 1. Распределение соотношения биомассы желетелого (мг С м^{-3}) и кормового зоопланктона в верхнем 200-метровом слое Мирового океана

Распределение в выборке отличалось от нормального, поэтому в качестве осредненной оценки использовали медиану, которая показала 2х-кратное доминирование биомассы желетелых над кормовым зоопланктоном. Величины соотношения варьируют в широком диапазоне: 0,02–150. При этом, малые величины (0,02–10) наиболее часто встречаемы. Доминирование биомассы желетелого зоопланктона косвенно указывает на прохождение основного потока углерода в пелагической экосистеме не через пастбищную пищевую цепь, а через детритную. Это должно отрицательно сказываться на возобновлении промыслового запаса пелагиали в связи с тем, что желетельные организмы изымают часть потока углерода из пастбищной трофической цепи.

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ИНТЕНСИВНОСТИ И ВЕРТИКАЛЬНОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ПОЛЯ БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ НА ГЛУБОКОВОДНОМ РАЗРЕЗЕ В СЕВЕРНОЙ ЧАСТИ ЧЕРНОГО МОРЯ

Intensity and Vertical Distribution Variability of Bioluminescent Field in Deep Part of the Northern Black Sea

Минский И.А.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, *ivan.simfer@gmail.com*

Создаваемый совокупностью морских биолюминесцентных суммарный световой эффект называется полем биолюминесценции (ПБ). При этом основной вклад в его создание в Черном море (как и в большинстве регионов Мирового океана) вносят планктонные водоросли отдела *Dynophyta*. Интенсивность и длительность вспышек светозлучателей зависит от их видового состава, концентрации и физиологического состояния. Пространственное распределение планктона в значительной степени определяется гидрологическим режимом и гидродинамическими характеристиками водных масс. Таким образом, биолюминесценция является уникальным маркером структурно-функционального состояния планктонного сообщества.

В рамках 128 рейса НИС «Профессор Водяницкий» (03.08–26.08.2023) были выполнены серии ночных вертикальных зондирований ГПК «Сальпа» на 8 станциях (по 10 зондирований на каждой), образующих вдоль шельфа Южного берега Крыма глубоководный разрез, берущий начало на траверзе пгт Береговое и заканчивающийся напротив села Малореченское. В результате получены профили биолюминесцентного потенциала, температуры и солености, которые усреднялись по 1 метру глубины. Биолюминесцентный потенциал (БП) – это усредненный по времени измерения и отнесенный к единице просмотренного объема лучистый поток, излучаемый планктонными организмами, попадающими в темновую камеру батифотометра «Сальпа». Пространственное распределение и интенсивность ПБ оценивались в условиях частично сформированной вертикальной термогалинной стратификации вод, характерной для вод в районе шельфа Крыма в летний период. На первых двух-трех станциях отмечалось отсутствие выраженного верхнего перемешанного слоя (ВПС). Здесь же наблюдались двухмаксимумные вертикальные структуры ПБ, глубины залегания которых варьировали от 9 до 17 метров. Далее по разрезу на восток ВПС занимал глубины от 4 до 12 м, а ПБ было сформировано в устойчивые одномаксимумные структуры. Наибольшая глубина залегания максимумов

интенсивности свечения отмечалась в районе станции с наиболее развитым ВПС – 17 м. Основная масса биолюминесцентных слоев глубиной до 27-35 м, где в месте окончания сезонного термоклина БП достигал минимальных значений.

Средние значения БП в зоне ВКС и сезонного термоклина, посчитанные для каждой станции, находились в диапазоне $226-943 \cdot 10^{-12} \text{ Вт} \cdot \text{см}^{-2} \cdot \text{л}^{-1}$. Были выявлены достоверные отличия в средней интенсивности свечения между станциями, однако тренда на снижение БП в восточном направлении выявлено не было — после снижения на протяжении 2-3 станций показатель вновь демонстрировал рост до предыдущих высоких значений, что свидетельствует о волнообразном зональном распределении биомассы светящегося планктона при общей мезомасштабной однородности. Интересно отметить, что интегральный биолюминесцентный потенциал (ИБП), т.е. БП просуммированный для некоторого интервала глубин, отличался неодинаковым разбросом значений на разных станциях. Например, на 2, 3 и 4 станциях он изменялся в интервале $2-3 \cdot 10^{-9} \text{ Вт} \cdot \text{см}^{-2} \cdot \text{л}^{-1}$. При этом на первой станции разреза ИБП, посчитанный для слоя 0-33 м, составил $31129,91 \pm 9903,95 \cdot 10^{-12} \text{ Вт} \cdot \text{см}^{-2} \cdot \text{л}^{-1}$. Причиной этому могло быть попадание в камеру батифотометра мелких светящихся желетелых.

Работа выполнена при поддержке ФГАОУ ВО «СевГУ» за счет накладных от госзадания.

СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ИЗМЕНЕНИЯ АНТИОБРАСТАЮЩИХ ПОКРЫТИЙ ВО ВРЕМЯ ИХ ЭКСПОНИРОВАНИЯ В МОРСКОЙ СРЕДЕ

Spectroscopic Studies of Changes in Antifouling Coatings during their Exposure in the Marine Environment

Мутовкин П.А., Мосунов А.А.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, aamosunov@sevsu.ru

В процессе эксплуатации гидротехнических сооружений, кораблей и судов они подвергаются воздействию различных факторов окружающей среды: механическому и химическому воздействию воды, ветра, взаимодействию между собой при стоянке и швартовке. В этой связи к свойствам покрытия предъявляется ряд требований по части его адгезии к окрашенной поверхности, упругости, прочности к внешнему воздействию, износостойкости, эффективности против процессов обрастания [1].

Одним из способов исследования процессов, происходящих в покрытии, является метод спектроскопических исследований (инфракрасная и спектроскопия комбинационного рассеяния). Для изучения изменения структурного состава органических соединений, входящих в состав матрицы противообрастающих покрытий, подготавливались соскобы с исследуемых поверхностей после различных сроков экспозиции в море. С помощью скальпеля снимали биопленку микрообрастания, а затем делали соскобы с поверхностного слоя покрытия на глубину выщелоченного слоя (до 1–5 мм). Дифференцированное изучение рабочего слоя (отличающийся по цвету от исходного покрытия) на границе раздела «морская вода-противообрастающее покрытие» позволяет определить особенности разрушения органической матрицы исследуемого покрытия и природу соединений, накапливающихся в биопленке микрообрастания [2].

Исследовались покрытия, экспонированные в прибрежной акватории г. Севастополь (Чёрное море) в течение разного промежутка времени, начиная с 2021 года. При этом необходимо отметить, что в качестве органической матрицы использовались различные составы, изготовленные на основе акрилатной и эпоксидной смол, канифоли, полиуретановых связующих и др. Такой широкий ассортимент органических связующих создал определенные сложности при проведении экспериментов и анализе полученных результатов. В качестве противообрастающих агентов использовались следующие наночастицы (НЧ): ZnO-FeZnO, CuO-FeCuO, ZnTi₂O₄-ZnO, ZnTi₂O₄-TiO₂ и Ag-TiO₂. Процентное содержание антиобрастающего агента составляло 15-20%. Синтез наночастиц проводился нашими коллегами из г. Томск, Института физики прочности и материаловедения СО РАН, в рамках гранта РФФИ 21-13-00498. Покрытия были нанесены кистью в два слоя на пластины из полиметилакрилата. Для сравнения противообрастающих свойств составов с НЧ параллельно были экспонировали пластины с противообрастающей эмалью Биопласт-52 (БП) (Эмаль «Биопласт-52». 2017. Технические условия. ТУ 20.30.12.130-002-03218320-2017. Дата введения 05.09.2017 г.). Размер пластин 10,0x15,0x0,3 см. Пластины закрепляли в металлических рамах на расстоянии 3 см друг от друга, конструкцию помещали на глубину от 2 м перпендикулярно поверхности воды. В течение эксперимента проводили замеры параметров морской воды (температура, pH, соленость, проводимость).

Сравнение спектров, полученных при анализе покрытий, экспонированных в воде в течение разных периодов времени и имеющих в качестве органического связующего разные материалы позволяет сделать определенные выводы о процессах деструкции составов под действием физико-химических условий окружающей среды и биологического воздействия комплекса обрастателей.

Работа выполнена за счет гранта РФФИ 21-13-00498, <https://rscf.ru/project/21-13-00498>.

1. Maan A.M.C., Hofman A.H., de Vos W.M., Kamperman M. Recent Developments and Practical Feasibility of Polymer-Based Antifouling Coatings // *Adv. Funct. Mater.*, 2020, vol. 30, 2000936, doi: 10.1002/adfm.202000936.

2. Методология изучения обрастания в прибрежных акваториях Черного моря и экспедиционных исследованиях в Индийском и Атлантическом океанах / Л.Л. Смирнова. Севастополь: ИПТС, 2021, 155 с.

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ТИХООКЕАНСКОЙ УСТРИЦЫ *MAGALLANA GIGAS* ПРИ ЗАРАЖЕНИИ СВЕРЛЯЩЕЙ ГУБКОЙ *PIONE VASTIFICA*
Functional State of the Pacific Oyster *Magallana Gigas* when Infected with the Drilling Sponge *Pione Vastifica*

Подольская М.С., Челебиева Э.С., Кладченко Е.С., Гостюхина О.Л., Лавриченко Д.С.

Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь, РФ, podolskaya_m99@bk.ru

Двустворчатые моллюски являются объектом активного марикультурного промысла во всем мире. Патогенные бактерии и простейшие паразиты наиболее часто упоминаются в литературе как факторы, ограничивающие культивирование двустворок в связи с высоким уровнем смертности зараженных организмов. Однако не меньший ущерб марикультурным хозяйствам могут нанести представители типа губок (Porifera). Устриц *Magallana gigas* (Thunberg, 1793), культивируемых в Черноморском регионе, поражают сверлящие губки семейства *Clionidae*, в частности *Pione vastifica* (Hancock, 1849). Губка поселяется на раковине моллюска, прорывая в ней отверстия путем химического и механического травления, в результате чего наблюдается увеличение толщины раковины и снижение темпов роста устриц. Защита от различных возможных вредителей обеспечивается гемоцитами, клетками гемолимфы, которые в ответ на действие патогена реагируют рядом цитотоксических реакций [1]. Гемоциты отвечают за переваривание, транспортировку и распределение питательных веществ, восстановление раковины и тканей моллюсков [2]. Восстановление раковины является энергозатратным процессом [3]. Большую часть клеточного запаса энергии генерируют митохондрии во время клеточного дыхания [4]. Кроме того, митохондрии являются основным источником клеточных активных форм кислорода (АФК) [5]. Однако, избыточное производство АФК может привести к повреждению внутриклеточных структур организма [6]. В ответ на гиперпродукцию АФК в организме активизируется антиоксидантная система защиты, которая инактивирует свободные радикалы. Одним из основных ферментов, участвующих в каскаде антиоксидантных реакций, является каталаза (КАТ) [7]. КАТ участвует в разложении перекиси водорода, предотвращая образование гидроксильных радикалов [8]. Комплексные исследования физиологических и иммунологических изменений в организме моллюсков, индуцированных инвазией паразитов, патогенов и различных аменсалов, дают представление о значении этих стрессоров как в биологии популяции, так и в производстве коммерчески важных двустворчатых моллюсков.

В связи с вышесказанным, целью настоящей работы была оценка влияния сверлящей губки *Pione vastifica* на функциональный статус тихоокеанской устрицы *Magallana gigas*, а именно на мембранный потенциал митохондрий клеток, продукцию АФК и активность КАТ в мантии моллюска.

Моллюсков собирали в прибрежной акватории Севастопольской бухты ($n=60$, масса $77,7 \pm 8,2$ г, длина раковины $11,4 \pm 2,6$ см) при температуре воды 20 °С, солености $17-18$ ‰, содержании кислорода $7,2-8,5$ мг/л. Для оценки воздействия сверлящей губки на организм устриц отбирали и делили на 2 группы: контрольную (без видимого повреждения раковины, “здоровые”) и опытную (моллюски, имеющие красные вкрапления на раковине или видимые внешние повреждения, “зараженные”). Группы моллюсков акклиматизировали к лабораторным условиям в раздельных аквариумах в течение 7 дней. По окончании периода акклиматизации у каждой группы моллюсков отбирали гемолимфу и ткани мантии. Способность гемоцитов к спонтанной продукции АФК оценивалась с помощью метода проточной цитометрии по флуоресценции красителя 2-7-дихлорфлуоресцеин-диацетата (DCF-DA, Sigma Aldrich) Мембранный потенциал митохондрий клеток гемолимфы оценивали по изменению интенсивности флуоресценции гемоцитов, окрашенных красителем родамин 123 (Rh123, Sigma Aldrich). Активность каталазы измеряли по реакции взаимодействия остаточного количества перекиси водорода с молибдатом аммония (Goth, 1991). Оценка достоверности полученных данных проводилась с помощью U-критерия Манна–Уитни. Нормальность распределения проверялась с помощью критерия Колмогорова–Смирнова.

Результаты исследования показали, что инвазия сверлящей губки значительно стимулировала продукцию АФК в гемоцитах тихоокеанской устрицы *M.gigas* ($P < 0.05$), что может указывать на развитие окислительного стресса и активацию внутриклеточной защиты моллюсков. Уровень внутриклеточных АФК был примерно в 1,6 раза выше в опытной группе в сравнении с контролем.

При этом, интенсивность флуоресценции родамина, характеризующая мембранный потенциал митохондрий, у пораженных губкой устриц была существенно ниже (в 8,8 раз), чем в контрольной группе ($p < 0,01$). Столь значительное снижение свидетельствует об угнетении анаэробного дыхания внутри клетки, снижении работы дыхательной цепи, что может привести к нарушениям в функционировании гемоцитов в гемолимфе.

Уровень активности КАТ оценивали в мантии, как барьерной ткани в организме моллюсков. Содержание фермента в контрольной и опытной группах статистически не отличалось и составило $84,36 \pm 5,1$ мМоль H_2O_2 /мин-мг белка у “здоровых” и $95,9 \pm 23$ мМоль H_2O_2 /мин-мг белка у “зараженных” устриц. Признаков нарушения окислительно-восстановительного баланса в мантии не наблюдается, что может свидетельствовать об устойчивости антиоксидантной системы.

Таким образом, результаты работы демонстрируют, что инвазия *P. vastifica* не оказывает значимого влияния на активность КАТ, являющейся одним из основных ферментов антиоксидантного комплекса. Однако клетки

гемолимфы гораздо более чувствительны к поражению сверлящей губки, на что указывает увеличение продукции АФК и снижение мембранного потенциала митохондрий.

Работа выполнена в рамках гранта РФ № 23-26-00019 «Сверлящая губка Черного моря: влияние на иммунную систему устриц и оценка эффективности метода гипоосмотического шока для борьбы с ее распространением на марикультурной ферме».

1. Fisher W.S. Structure and functions of oyster hemocytes // Immunity in Invertebrates: Cells, Molecules, and Defense Reactions, Springer Berlin Heidelberg, 1986, pp. 25-35.

2. Donaghy L. et al. Reactive oxygen species in unstimulated hemocytes of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*: a mitochondrial involvement, 2012.

3. Palmer A.R. Calcification in marine molluscs: how costly is it? // Proceedings of the National Academy of Sciences, 1992, vol. 89, no. 4, pp. 1379-1382.

4. Solaini G. et al. Evaluating mitochondrial membrane potential in cells // Bioscience reports, 2007, vol. 27, no. 1-3, pp. 11-21.

5. Samain J.F. Review and perspectives of physiological mechanisms underlying genetically-based resistance of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* to summer mortality // Aquatic Living Resources, 2011, vol. 24, no. 3, pp. 227-236.

6. Кладченко Е.С., Андреева А.Ю., Кухарева Т.А. Влияние краткосрочной ранжированной гипоксии на функциональные и морфологические показатели гемоцитов тихоокеанской устрицы *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) // Журнал эволюционной биохимии и физиологии, 2022, т. 58, № 1, с. 43-50.

7. Ighodaro O.M., Akinloye O.A. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid // Alexandria journal of medicine, 2018, vol. 54, no. 4, pp. 287-293.

8. Ho Y.S. et al. Mice lacking catalase develop normally but show differential sensitivity to oxidant tissue injury // Journal of Biological Chemistry, 2004, vol. 279, no. 31, pp. 32804-32812.

ЦИФРОВОЙ ДВОЙНИК ГЕОСИСТЕМЫ ПРИМОРСКОЙ ТЕРРИТОРИИ В РЕШЕНИИ ЗАДАЧ ЦИФРОВИЗАЦИИ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА И КОНТРОЛЯ НЕГАТИВНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ОКРУЖАЮЩУЮ СРЕДУ И ТРАНСФОРМАЦИИ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ

Digital Twin of the Coastal Zone Geosystem in Solving the Problems of Digitalization of Environmental Monitoring and Control of Negative Environmental Impact and Transformation of Environmental Education

Рубцова С.И.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, rsi1976@mail.ru

Вопросам экологического образования и благополучия уделяется пристальное внимание на государственном и региональном уровнях, о чем свидетельствуют принимаемые в данной сфере правовые акты [1-3]. Современная цифровая реальность экологического образования – объективный фактор, который определяет формы взаимодействия практически всех участников общественного развития. Основные цифровые технологии перечислены в Распоряжении Правительства РФ от 8 декабря 2021 г. № 3496-р «Об утверждении стратегического направления в области цифровой трансформации отрасли экологии и природопользования» [1]: дистанционное зондирование Земли и беспилотные летательные аппараты; большие данные; искусственный интеллект; цифровой двойник; технология интернет вещей.

Стратегический проект «Цифровой двойник геосистемы приморской территории», реализуемый Севастопольским государственным университетом с 2022 года в рамках госпрограммы академического лидерства «ПРИОРИТЕТ-2030», учитывает все многообразие взаимосвязей и взаимодействий биотических и абиотических компонент и человека, как комплексной системы поддержки принятия решений при управлении погодноклиматическими, экологическими и техногенными рисками, а также при перспективном стратегическом планировании развития приморских территорий в различных социально-экономических разрезах: градостроительная политика; охрана окружающей среды; сохранение биоразнообразия; рациональное использование природных ресурсов побережья и морских вод (водные, почвенные, агроклиматические, энергетические, лесные, биологические и рекреационные); сохранение культурно-исторического наследия. Работа над проектом проходит на четырех уровнях. Первый – это создание мониторинговой сети, которая включает разнообразные датчики состояния окружающей среды наземного, морского и воздушного базирования. На втором уровне на основе этих данных формируется так называемая цифровая тень каждого из компонентов геоинформационной системы приморской территории: атмосферы, моря, биоценоза почвы и др. Важнейший элементом этой системы является человек, который оказывает на нее активное воздействие. Следующий уровень – это набор моделей динамики взаимодействия компонентов и взаимодействия между ними в разных временных масштабах от часа до десятилетия. На четвертом уровне будут созданы системы поддержки принятия решений.

В настоящее время создана мониторинговая сеть, состоящая из автоматизированных метеорологических комплексов «Сокол-М», размещенных по локациям г. Севастополь с дистанционной передачей оперативных

данных на сервер СевГУ; создана сеть автономных буев-измерителей параметров морской среды в акватории г. Севастополя; организованы регулярные гидрометеорологические наблюдения в разных районах Севастопольского региона, создана сеть оперативного контроля пресноводных ресурсов Севастополя с использованием буев для измерения уровня воды, ресурсно-послойных моделей водоемов и метеостанции, сеть стационарных постов мониторинга качества воды и воздуха. Для обеспечения учебного процесса по направлению подготовки 05.04.06 Экология и природопользование создана базовая кафедра «Цифровая геоэкология» Департамента экологии и природных ресурсов города Севастополя, которая будет готовить высококвалифицированных экологов с использованием новых цифровых технологий по управлению экологическими рисками приморских территорий на базе цифрового двойника. Внедрение цифровых технологий в экологическую сферу должно снизить техногенную нагрузку на окружающую среду, повысить эффективность рационального использования природных ресурсов и улучшить экологическое состояние нашего региона.

1. Распоряжение Правительства РФ от 8 декабря 2021 г. № 3496-р «Об утверждении стратегического направления в области цифровой трансформации отрасли экологии и природопользования» / Гарант.ру: информационно-правовой портал. URL: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/403109030/>.

2. Постановление Правительства Российской Федерации от 08.02.2022 № 133 "Об утверждении Федеральной научно-технической программы в области экологического развития Российской Федерации и климатических изменений на 2021–2030 годы" / Официальное опубликование правовых актов. URL: <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202202140015>

3. Закон города Севастополя от 21 июля 2017 года №357-ЗС «Об утверждении Стратегии социально-экономического развития города Севастополя до 2030 года» / Официальное опубликование правовых актов. URL: <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/9200201707240001?rangeSize=50>

ВЛИЯНИЕ РАСТВОРОВ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА РАЗНЫХ СОСТАВОВ НА ПРОРАСТАНИЕ СЕМЯН

Effect of Hydrogen Peroxide Solutions of Different Compositions on Seed Germination

Сергейчев К.Ф.¹, Лукина Н.А.¹, Апашева Л.М.², Будник М.И.², Овчаренко Е.Н.²

¹ Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, г. Москва, РФ, k-sergeichev@yandex.ru

² Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семёнова РАН, г. Москва, РФ, ziraf@mail.ru

Было показано [1,2], что вода, обработанная струей аргоновой СВЧ-плазмы, оказывает стимулирующее действие на прорастание семян и рост растений, и по эффективности значительно превосходит влияние растворов промышленного пероксида водорода со стабилизирующими добавками. Особенность плазменно-активированной воды (ПАВ) в том, что кроме пероксида водорода (H_2O_2) она содержала оксиды азота (NO_x). Оба компонента могли оказывать специфическое влияние на прорастание семян. В ИОФ РАН была решена задача получения ПАВ чистого состава H_2O_2 без примеси NO_x путем замены газовой среды, стабилизирующей факельный СВЧ разряд, с азота на водяной пар [3].

Проведено сравнение влияния на активацию прорастания семян огурца сорт Конкурент, урожая 2021 года растворов ПАВ 17 мг/л и аптечного пероксида.

Использовали растворы с разведением 1, 10 и 100 раз. При использовании чистого раствор H_2O_2 с разведением ПАВ в 10 и 100 раз показано стимулирующее действие на прорастание семян. Полученные данные по запуску биологических механизмов роста подтверждают ранее представленные выводы [1] с близкими результатами. Аптечный пероксид при соответствующем разведении показал меньшую эффективность. Влияние оксидов азота на активацию прорастания семян требует отдельных исследований.

1. Сергейчев К.Ф., Лукина Н.А., Апашева Л.М. и др. Вода, активированная струей аргоновой СВЧ-плазмы, как фактор, стимулирующий прорастание семян растений // Химическая физика, 2022, т. 41, № 1, с. 60-65, doi: 10.31857/S0207401X22010137.

2. Сергейчев К.Ф., Апашева Л.М., Лукина Н.А. и др. Вода, активированная СВЧ-плазмой, как регулятор роста хвойных // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2022, т. 7, № 3, с. 369-373, doi: 10.29039/rusjbpс.2022.0528.

3. Сергейчев К.Ф., Хаваев В.Б., Лукина Н.А. Способ СВЧ-плазменной активации воды для синтеза пероксида водорода и устройство для его осуществления. Патент RU 2761437 C1, 2022.

МОНОЦИКЛИЧНОСТЬ В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКОЙ ТКАНИ МОРСКИХ РЫБ И ЕЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СЛЕДСТВИЯ

Monocyclicity in the Functioning of the Hemopoetic Tissue of Marine Fishes and its Functional Consequences

Солдатов А.А.^{1,2}, Рычкова В.Н.¹, Кухарева Т.А.¹, Рокотова А.Г.¹

¹ Институт биологии южных морей им. А.О Ковалевского РАН, г. Севастополь, РФ, alekssoldatov@yandex.ru

² Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ

Принципиальным отличием системы красной крови рыб от высших позвоночных является неспособность поддерживать баланс между продукционными и деструктивными процессами на значительном отрезке времени. Содержание эритроцитов в крови у них на протяжении годового цикла претерпевает периодические изменения. Ряд авторов связывает это с температурой воды. Однако это отмечается не во всех случаях. Установлено также, что выработка эритропоэтина в почках рыб коррелирует с уровнем тестостерона в крови и приурочена к нерестовому периоду. При этом продолжительность жизни клеток красной крови у костистых рыб, определенная при помощи ³H-тимидина и флуоресцентных зондов, составила 270-310 дней. Это позволяет допустить нерегулярность течения эритропоэтических процессов в гемопоэтической ткани на протяжении годового цикла. Проверке данного предположения и посвящена настоящая работа.

Цель исследования – при помощи методов автордиографии и светооптической микроскопии изучить интенсивность эритропоэтических процессов в кроветворной ткани тепло- и холодолюбивых рыб на протяжении годового цикла.

Исследовали состояние эритрона у камбалы-гlossы (*Platichthys flesus*, Linnaeus, 1758) и кефали-сингиля (*Chelon auratus* Risso, 1810) на протяжении годового цикла. Отлов и доставку рыбы в аквариальную проводили ежемесячно. Определяли число эритроцитов в крови и содержание незрелых эритроидных форм: эритробластов (Про), базофильных (БН) и полихроматофильных (ПН) нормобластов, в головной почке (пронефрос) и кровяном русле. О пролиферативной активности клеток судили по включению ³H-тимидина в незрелые эритроидные формы. Одновременно оценивали концентрацию метгемоглобина в крови и параметры кислотных эритрограмм циркулирующей эритроцитарной массы.

Установлено, что процессы эритропоэза в гемопоэтической ткани камбалы-гlossы протекают нерегулярно. Активная продукция эритроцитов приурочена в основном к постнерестовому периоду (2-3 месяца). Об этом свидетельствует увеличение содержания незрелых эритроидных форм в ткани пронефроса (Про, БН) и циркулирующей крови (БН, ПН), а также рост их пролиферативной активности (включение ³H-тимидина). Это совпадает с общим увеличением числа клеток красной крови в системе циркуляции и свидетельствует о смещении эритроцитарного баланса в пользу продукционных процессов. Между числом эритроцитов и концентрацией метгемоглобина (MtHb) в крови обоих видов обнаружена выраженная отрицательная связь (r менее -0,650). Рост концентрации MtHb в крови совпадал со старением эритроцитарной массы, что нашло отражение в параметрах кислотных эритрограмм.

Как известно, продукция эритроцитов гемопоэтической тканью в значительной степени определяется выработкой эритропоэтинов почками. Синтез данного соединения зависит от величины напряжения кислорода в данном органе. В условиях гипоксии повышается выработка HIF-1 α (hypoxia-inducible factor 1-alpha), который является субъединицей гетеродимерного фактора транскрипции эритропоэтина. Данное соединение выявлено и у рыб. Эритропоэтин тормозит апоптоз и усиливает пролиферативную активность колониеобразующих единиц (КОЕ-Э), в частности Про. Возникновение дефицита O₂ может быть следствием нескольких процессов.

- Старение циркулирующей эритроцитарной массы, которое к концу годового цикла (преднерестовый период) должно быть наиболее заметно. Это обычно сопровождается усилением окислительных процессов в клетках, ростом содержания метгемоглобина, что в целом понижает кислородную емкость крови и сопровождается развитием гипоксического состояния.
- В период нереста, который реорганизует большинство физиологических процессов в организме рыб, происходит перераспределение пластических ресурсов в пользу генеративной ткани. В значительной степени это затрагивает циркулирующую кровь и часто сопровождается развитием анемии, что ограничивает приток кислорода к почкам и также должно усиливать продукцию эритропоэтина.
- Стимулировать продукцию эритропоэтина могут и половые гормоны, а точнее их производные – 5- β -H-метаболиты. Подобная корреляция отмечена и у рыб.

Сравнительная оценка состояния эритрона камбалы-гlossы с кефалью-сингилем позволяет говорить об общих принципах организации системы красной крови у костистых рыб. В отличие от высших позвоночных система в целом является неравновесной. В ней периодически преобладают то продукционные, то деструктивные процессы, оказывающие влияние на кислородную емкость крови. Выработка эритропоэтина, по-видимому, происходит разово в преднерестовый период и связана с развитием анемичного состояния вследствие разрушения части циркулирующей эритроцитарной массы.

Работа выполнена при поддержке проекта РНФ 23-24-00061.

СОЧЕТАНИЕ МЕТОДОВ МОЛЕКУЛЯРНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ И ЭКСТРАКЦИОННОГО РАЗДЕЛЕНИЯ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ УДМУРТСКОЙ РЕСПУБЛИКИ

Combination of Molecular Spectroscopy and Extraction Methods for Investigation of Udmurt Republic Plant Raw Material

Черепанов И.С., Фефилова Д.С., Нурева Р.Н.

Удмуртский государственный университет, г. Ижевск, РФ, cherchem@mail.ru

В настоящее время экстракты из растительного сырья являются одними из наиболее перспективных биопрепаратов, которые обладают широким спектром фармакологического действия, определяющемся, в свою очередь, их компонентным составом [1,2]. Последнее предполагает разработку альтернативных имеющимся (спектрофотометрия, хроматография) аналитических подходов, позволяющих реализовать определение группового/компонентного состава, сочетающих при этом высокую экспрессность анализа с достаточной для оценки природы и свойств экстрактов информативностью.

Исходные CO₂-экстракты листьев Мята длиннолистной (*Mentha longifolia* L.) и Золотарника канадского (*Solidago canadensis* L.), а также соцветий последнего получены в режиме докритической экстракции (CO₂-экстрактор РАЭ-01-05, p = 10 МПа, при 50°C) на кафедре Физиологии, клеточной биологии и биотехнологии Удмуртского государственного университета.

Колебательные спектры исходных CO₂-экстрактов и их этанольных (96% этанол) вытяжек в виде масел регистрировались в форме тонких пленок между KBr-окнами (ИК-Фурье спектрометр ФСМ-2201, интервал волновых чисел 4000-400 см⁻¹, разрешение по волновому числу 4 см⁻¹, количество сканов – 60). Дополнительно изучались водно-щелочные вытяжки CO₂-экстрактов и вытяжки 47%-ным этанолом, которые также исследовались спектроскопически в виде твердых фаз после полного удаления растворителя в форме таблеток в KBr (1:200) при аналогичных параметрах регистрации спектров.

Маркерные полосы в колебательных спектрах, относимые к отдельным компонентам экстрактов либо группам БАВ, определялись на основании литературных данных и сопоставления со спектрами модельных веществ. Последовательное разделение CO₂-экстрактов растворителями различной полярности позволило идентифицировать терпеновые компоненты, сапонины и ВЖК липидных фракций. Сопоставление спектров в областях, характеризующих колебания структурных фрагментов веществ, позволило фиксировать различия спектральных профилей и сделать выводы относительно наличия/извлечения компонентов [2]. В качестве примера приведено сопоставление (Рис.) спектров исходных экстрактов и их этанольных (96% этанол) вытяжек.

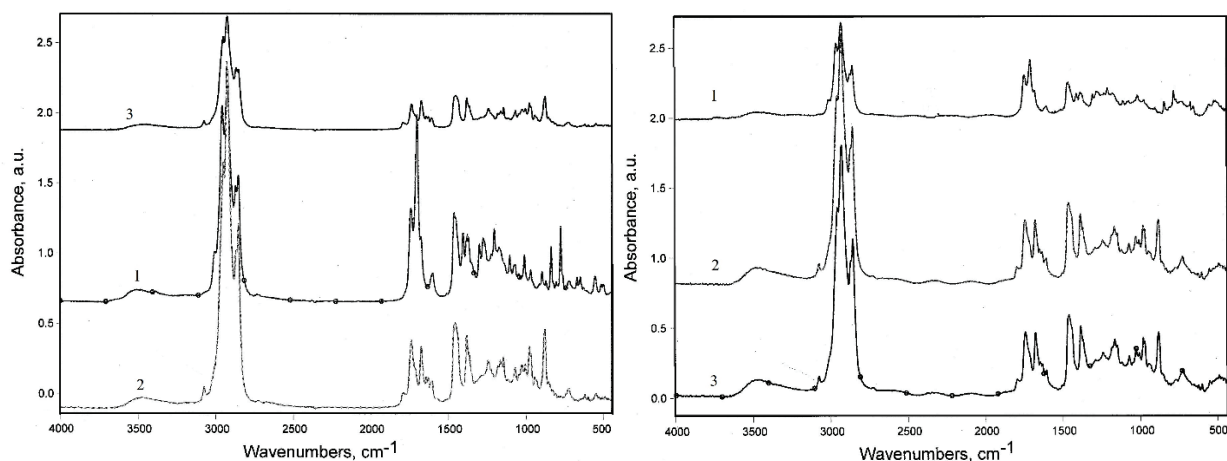


Рисунок 1. ИК-Фурье спектры исходных CO₂-экстрактов (слева) и их этанольных (96%) вытяжек (справа): 1 – Мята длиннолистной (листья); 2 – Золотарника канадского (соцветия); 3 – Золотарника канадского (листья)

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности разработки на основе сочетания методов колебательной спектроскопии [1] и экстракционного разделения [2] экспертной системы [3], позволяющей выполнять экспресс-идентификацию отдельных компонентов растительных экстрактов.

1. Черепанов И.С., Фефилова Д.С., Нурева Р.Н. Исследование гексановых экстрактов тест-растений *Cucumis sativus* L., пророшенных в растворах препарата на основе синтетических гуминовых веществ // Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов, 2022, т. 76, № 5, pp. 3-7.

2. Moggio M., Errico S., Diano N., Lepore M. FTIR spectroscopy for evaluation and monitoring of lipid extraction efficiency for murine liver tissues analysis // Engineering Proceedings, 2021, vol. 10, no. 9, doi: 10.3390/esca-8-11321.

3. Деркачева О.Ю., Сухов Д.А., Хейфец Д.М. Молекулярная спектроскопия как основа экспертной системы различных видов бумаги // *Фотографии. Изображения. Документ*, 2011, № 2, с. 66-71.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ МИКРОВОДОРОСЛИ РОДА *DUNALIELLA* ИЗ ГИПЕРСОЛЕНОГО ОЗЕРА САСЫК-СИВАШ

Identification of the Microalgae of the Genus *Dunaliella* from the Hypersalt Lake Sasyk-Sivash

Шаповалова В.Е., Гаджи А.В., Лантушенко А.О.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, veshapovalova@sevsu.ru

Микроводоросли являются одними из важных объектов биотехнологии в связи с способностью продуцировать метаболиты с ценными для человека свойствами.

Одной из наиболее актуальных задач биотехнологии является управляемый биосинтез пигментов микроводорослей, таких как хлорофиллы, каротины, ксантофиллы, фикобилипротеины [1]. Важно отметить, что пигменты, получаемые из растительных компонентов, не токсичны.

Так, наиболее перспективным источником каротина для биотехнологической промышленности признана зеленая водоросль *D. salina*, которая обитает в гиперсоленых озерах Крыма [2]. В ряде работ было показано, что содержание каротиноидов существенным образом зависит от используемого штамма и условий его культивирования.

Генотипирование в настоящее время считается обязательным для классификации видов рода *Dunaliella* и определения перспективных штаммов, которые продуцируют большее количество, например, 9-цис- β -каротина, который является более ценным, чем его изомер транс- β -каротин [3]. В данной работе проводились генетические исследования микроводоросли рода *Dunaliella*, отобранной из озера Сасык-Сиваш. Предварительный микроскопический анализ проводился на световом микроскопе Leica DM4B, использовалось увеличение $\times 1000$. В полевых пробах преобладали клетки насыщенного бордового цвета, что позволяет, используя классификацию из работы [4], предположить их принадлежность к виду *D. Salina*.

Для выращивания микроводорослей в лаборатории использовалась среда Ven-Amotz с соленостью 120 г/л.

Выделение ДНК производилось с помощью набора ДНК-экстракт-2 (Синтол, Россия). Оценка чистоты и количественное определение полученной геномной ДНК проводилась на нанофотометре Implen (Германия). Для филогенетического анализа использовались нуклеотидные последовательности генов 18S рДНК с праймерами MA1 и MA2, рибосомальные маркеры *ITS* с праймерами ITS1 и ITS2, и хлоропластные маркеры *rbcL* для видов *Dunaliella*. ПЦР амплификация маркерных генов осуществлялась с помощью набора Screen MixHS (Евроген, Россия). Капиллярный электрофорез производился на устройстве секвенирования НАНОФОР-05.

Выравнивание нуклеотидных последовательностей, полученных в эксперименте, и последовательностей данного вида, взятых из базы NCBI, осуществлялось в программе MEGA X.

Анализа длин продуктов ПЦР 18S рДНК с использованием праймеров MA1 и MA2 показал, что длина данного участка характерна для вида *D. Salina*.

Было показано, что наиболее вариабельными для данного объекта являются последовательности *ITS* участков, которые были использованы для дальнейшего филогенетического анализа.

Исследованная в данной работе нуклеотидная последовательность *ITS* водоросли из озера Сасык-Сиваш образует кладу с группой, в которой находятся несколько разных штаммов вида *Dunaliella salina*, что позволяет рассматривать данный изолят как биотехнологически перспективный.

1. Береговая Н.М., Гудвилович И.Н. Сравнение различных способов хранения водного экстракта с-фикоцианина микроводоросли *Spirulina platensis* // *Экология моря*, 2006, с. 5-8.

2. Боровков А.Б. Зеленая микроводоросль *Dunaliella salina* Teod. (обзор) // *Экология моря*, 2005, т. 67, с. 5-17.

3. Highfield A., Ward A., Pipe R., Schroeder D. Molecular and phylogenetic analysis reveals new diversity of *Dunaliella salina* from hypersaline environments // *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 2021, vol. 101, no. 1, pp. 27-37.

4, Borowitzka M.A., Siva C.J., The taxonomy of the genus *Dunaliella* (Chlorophyta, Dunaliellales) with emphasis on the marine and halophilic species // *J. Appl. Phycol.*, 2007, vol. 19, pp. 567-590.

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРИРОДНЫХ ФОСФОЛИПИДОВ

Effect Ions of the Heavy Metals on the Physicochemical Properties of the Natural Phospholipids

Шишкина Л.Н., Белецкая П.Д., Дубовик А.С., Машукова А.В., Швыдкий В.О.

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, г. Москва, РФ, *shishkina@sky.chph.ras.ru*

Высокая диэлектрическая проницаемость воды и ее выраженная способность к самоорганизации вследствие образования водородных связей являются основными факторами, обуславливающими воздействие различных биологически активных веществ даже в малых дозах на физико-химические свойства мембран присутствующих в ней биологических объектов [1,2]. Поскольку фосфолипиды являются одними из основных компонентов биологических мембран, а среди компонентов природной воды, как правило, присутствуют ионы тяжелых металлов, то возникает необходимость более детального анализа природы иона на физико-химические свойства фосфолипидов. Ранее нами было показано, что водные растворы соевого лецитина представляют собой адекватную модель биологических мембран и могут быть использованы для первичной оценки качества природной воды и прогнозирования последствий ее влияния на организм [3-5].

Целью работы являлся сравнительный анализ влияния двухвалентных ионов меди и железа на способность образовывать комплексы с фосфолипидами и воздействовать на спонтанную агрегацию лецитина в водной среде.

Соевый лецитин представляет собой смесь природных липидов, их состав определяли методом ТСХ. Для выявления образования комплексов ионов Cu^{2+} и Fe^{2+} с фосфолипидами использовали математическую обработку УФ-спектров водных растворов отдельных компонентов и их смесей по методу Гаусса. Влияние ионов металлов на спонтанную агрегацию водных растворов лецитина исследовали методом динамического рассеяния света, анализируя средний динамический диаметр сформированных лецитином частиц и их дзета-потенциал. Концентрация лецитина во всех экспериментах 30 мкг/мл (4.3×10^{-5} М), концентрации ионов металлов варьировали в диапазоне от 10^{-6} М до 10^{-4} М.

На основании анализа УФ-спектров показано, что двухвалентные ионы меди и железа не только образуют комплексы с фосфолипидами, но и оказывают влияние на содержание продуктов окисления лецитина. Однако масштаб эффекта зависит от концентрации иона и его природы, а также степени окисленности лецитина. Обнаружено, что ионы Cu^{2+} и Fe^{2+} оказывают разное воздействие на размер сформированных лецитином агрегатов и величины их дзета-потенциала в зависимости от концентрации ионов и состава фосфолипидов лецитина. При этом в соответствии с ранее полученными результатами [4,5], диаметр основной фракции использованных в данной работе партий лецитина в водной среде варьирован от 910 нм до 985 нм. В присутствии Cu^{2+} размер частиц лецитина уменьшался в среднем в 1,5 раза практически независимо от их концентрации. Однако присутствие Fe^{2+} вызывает стадийные изменения размера основной фракции частиц лецитина, минимум которых 690 ± 35 нм обнаружен при $[\text{Fe}^{2+}] = 5 \times 10^{-6}$ М, а максимум 1425 ± 155 нм при $[\text{Fe}^{2+}] = 10^{-4}$ М.

Обнаружены и отсутствие линейной зависимости величины дзета-потенциала частиц лецитина от концентрации ионов меди и железа в среде и существенные различия их способности влиять на электрофоретические свойства сформированных лецитином агрегатов. Так, в присутствии Cu^{2+} дзета-потенциал достоверно увеличивается от -32.9 ± 0.9 мВ до -19.2 ± 0.3 мВ и -16.8 ± 0.25 мВ при концентрациях Cu^{2+} 10^{-5} М и 5×10^{-5} М соответственно. В присутствии Fe^{2+} в диапазоне концентраций от 10^{-6} М до 5×10^{-5} М дзета потенциал агрегатов лецитина колеблется от -24 мВ до -35 мВ, резко возрастая до 11.7 ± 1.6 мВ при $[\text{Fe}^{2+}] = 5 \times 10^{-5}$ М.

Следовательно, качество природной воды обуславливают не только концентрация ионов тяжелых металлов, но и их способность влиять на физико-химические свойства фосфолипидов – основных компонентов биологических мембран – в зависимости от состава фосфолипидов биообъекта.

1. Коновалов А.И., Рыжкина И.С. Образование наноассоциатов – ключ к пониманию физико-химических и биологических свойств высокоразбавленных водных растворов // Известия АН. Серия химическая, 2014, № 1, с. 1-14.

2. Пальмина Н.П., Мальцева Е.Л., Часовская Т.Е. Действие разбавленных растворов биологически активных веществ на клеточные мембраны // Биофизика, 2014, т. 59, № 4, с. 704-716.

3. Шишкина Л.Н., Козлов М.В., Повх А.Ю., Швыдкий В.Ю. Роль перекисного окисления липидов в оценке последствий воздействия химических токсикантов на биообъекты // Химическая физика, 2021, т. 40, № 8, с. 57-63.

4. Shvydkiy V., Dolgov S., Dubovik A. et al. New Aspects for the Estimation of the State of the Natural Water // Chemistry Journal of Moldova, 2022, vol. 17, no. 2, pp. 35-42.

5. Шишкина Л.Н., Дубовик А.С., Козлов М.В. и др. Модельные системы для оценки воздействия компонентов водной среды на биологические объекты // Актуальные вопросы биологической физики и химии. 2022, т. 7, № 1, с. 160-165.

Научное издание

**Актуальные вопросы биологической физики и химии
БФФХ – 2023**

Материалы XVIII международной научной конференции
(г. Севастополь, 11-15 сентября 2023 г.)

Ответственный за выпуск
Евстигнеев М.П., проф., д-р физ.-мат. наук

Компьютерная верстка: Д.П. Воронин

Подписано в печать 25.08.2023
Формат 60x84/8. Бумага офсетная. Гарнитура Times New Roman
Усл. печ. л. 17,1. Тираж 50 экз.

Изготовлено с готового оригинал-макета на полиграфической базе
ИП Крыховецкий-Кощеев Александр Андреевич
ОГРНИП 318920400019241
COLOR CITY Цифровая типография
г. Севастополь, ул. Борисова, 4