

ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»
Кафедра биохимии



Сборник трудов
международного симпозиума
«Биохимия – основа наук о жизни»,
посвященного 150-летию образования
кафедры биохимии Казанского университета
(21-23 ноября 2013 г., Казань)

Казань
2013

УДК 577/579(082)
ББК 28.4:28.72:28.707.2(2)
С 23

С 23 **БИОХИМИЯ – ОСНОВА НАУК О ЖИЗНИ:** Международный симпозиум, посвященный 150-летию образования кафедры биохимии Казанского университета: сборник трудов (Казань, 21-23 ноября 2013 г.) / ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», кафедра биохимии; сост. Акберова Н.И. – Казань, 2013. – 151 с. – ISBN 978-5-9905051-1-7.

ISBN 978-5-9905051-1-7

Сборник составлен по материалам, представленным участниками международного симпозиума «Биохимия – основа наук о жизни», посвященного 150-летию образования кафедры биохимии Казанского университета (21-23 ноября 2013 г., Казань). Издание освещает фундаментальные и прикладные проблемы биохимии, вопросы медицинской биохимии, биоинформационные и омиксные подходы в биохимических исследованиях.

Сборник предназначен для преподавателей, научных работников, аспирантов, магистрантов, студентов соответствующих специальностей.

УДК 577/579(082)
ББК 28.4:28.72:28.707.2(2)

ISBN 978-5-9905051-1-7 © ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», кафедра биохимии, 2013
© Акберова Н.И., составление, 2013
© Авторы, указанные в содержании, 2013

Программа

ОРГАНИЗАТОРЫ СИМПОЗИУМА

Казанский (Приволжский) федеральный университет
Казанский государственный медицинский университет

СИМПОЗИУМ ПРОХОДИТ ПРИ ПОДДЕРЖКЕ

Министерства образования и науки Республики Татарстан
Кабинета Министров Республики Татарстан
Академии наук Республики Татарстан
Российского Фонда Фундаментальных Исследований

ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ

Почетный оргкомитет

Гафуров Ильшат Рафкатович, ректор Казанского (Приволжского) федерального университета;

Созинов Алексей Станиславович, ректор Казанского государственного медицинского университета, профессор;

Киясов Андрей Павлович, директор Института фундаментальной медицины и биологии КФУ

Сопредседатели оргкомитета

Алимова Фарида Кашифовна, профессор, заведующая кафедрой биохимии КФУ;

Мустафин Ильшат Ганиевич, профессор, заведующий кафедрой биохимии КГМУ

Заместитель председателя

Жданов Ренад Ибрагимович, профессор кафедры биохимии КФУ

ЧЛЕНЫ ОРГКОМИТЕТА

Абрамова Зинаида Ивановна, профессор (Казань)
Арчаков Александр Иванович, профессор (Москва)
Габитов Александр Габитович, профессор (Москва)
Гречкин Александр Николаевич, профессор (Казань)
Зайцев Сергей Юрьевич, профессор (Москва)
Коновалов Александр Иванович, профессор (Казань)
Маевский Евгений Ильич, профессор (Москва)
Мазгаров Ахмет Мазгарович, профессор (Казань)
Офицеров Евгений Николаевич, профессор (Москва)
Северин Евгений Сергеевич, профессор (Москва)
Синяшин Олег Герольдович, профессор (Казань)
Скулачев Владимир Петрович, профессор (Москва)
Тарчевский Игорь Анатольевич, профессор (Казань)
Kornberg Roger (Stanford)

ЛОКАЛЬНЫЙ ОРГКОМИТЕТ

Майкова Евгения Владимировна
Тухбатова Резеда Ильгизовна
Акберова Наталья Ивановна
Морозова Юлия Анатольевна
Зайнуллин Ленар Ильгизарович
Тазетдинова Диана Ирековна

СПИСОК ПРИГЛАШЕННЫХ ДОКЛАДЧИКОВ

- 1 **Jean-Marie Lehn** Франция, Университет г. Страсбург, лауреат Нобелевской премии по химии, Ph.D.
- 2 **Marvin H. Caruthers** Colorado, University of Colorado Boulder
- 3 **Roland Stote** Франция, Structural Biology and Genomics Department, IGBMC
- 4 **Yoshihide Hayashizaki** Yokohama, JAPAN, Preventive Medicine and Diagnosis Innovation Program, RIKEN, Program Director
- 5 **Абаленихина Юлия Владимировна** Рязань, ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России, ассистент кафедры биологической химии с курсом КЛД ФДПО
- 6 **Абрамова Зинаида Ивановна** Казань, Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, профессор, д.б.н.
- 7 **Абдрахимова Йолдыз Раисовна** Москва, Институт физиологии растений РАН; Казань, Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, кафедра биотехнологии, доцент, к.б.н.
- 8 **Аграновский Игорь Евгеньевич** Australia, Brisbane, Griffith University, Professor, Ph.D
- 9 **Алимов Азат Миргасимович** Казань, ФГБОУ ВПО "Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана, проректор по науке, зав. кафедрой биологической и неорганической химии, д.в.н.
- 10 **Алимова Фарида Кашифовна** Казань, Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, зав. кафедрой биохимии, профессор, д.б.н.
- 11 **Атауллаханов Фазиол Иноятович** Москва, Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, профессор, д.б.н.
- 12 **Арлеевская Марина Игоревна** Казань, ГБОУДПО «Казанская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ, ЦНИЛ, с.н.с.
- 13 **Барсуков Алексей Константинович** Ижевск, Удмуртский государственный университет, декан факультета медицинской биотехнологии, к.б.н.
- 14 **Богданов Михаил Васильевич** USA, Health Science Center at Houston, University of Texas-Houston, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Associate Professor, Ph.D
- 15 **Бокша** Москва, Учреждение Российской Академии Медицинских Наук "Научный центр психического

	Ирина Сергеевна	здоровья” РАМН, главный научный сотрудник, д.б.н.
16	Воробьев Юрий Николаевич	Казань, Казанский (Приволжский) федеральный университет, начальник отдела трансфера и коммерциализации технологий
17	Гельфанд Михаил Сергеевич	Москва, Институт проблем передачи информации РАН, зам. директора, профессор, д.б.н.
18	Гоголев Юрий Викторович	Казань, Казанский институт биохимии и биофизики КНЦ РАН, зав. лабораторией молекулярной биологии, к.б.н.
19	Гречкин Александр Николаевич	Казань, Казанский институт биохимии и биофизики КНЦ РАН, директор, академик РАН, д.б.н.
20	Гусев Олег Александрович	Казань, Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, к.б.н.; Японское космическое агентство JAXA
21	Жданов Ренад Ибрагимович	Казань, Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, профессор, д.б.н.
22	Зайцев Сергей Юрьевич	Москва, Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К. И. Скрябина, заведующий кафедрой органической и биологической химии, профессор, д.х.н.
23	Зуев Юрий Федорович	Казань, Казанский институт биохимии и биофизики КНЦ РАН, зав. лабораторией биофизической химии наносистем, профессор, д.х.н.
24	Ибрагимова Миляуша Якубовна	Казань, Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, доцент, к.б.н.
25	Иванов Андрей Михайлович	Санкт Петербург, Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова МО РФ, главный лаборант МО РФ, д.м.н. профессор полковник медицинской службы
26	Иванов Аркадий Васильевич	Казань, Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности, директор, член – корреспондент РАСХН, профессор, д.б.н.
27	Иванова Вилена Витальевна	Казань, Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, кафедра биохимии
28	Камилов Феликс Хусинович	Уфа, ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава РФ, зав. Кафедрой биологической химии, д.м.н.
29	Каримова	Казань, Казанский институт биохимии и биофизики КНЦ РАН, зав. лабораторией сигнальных систем, профессор,

	Фатима Габдуллазяновна	д.б.н.
30	Клочков Владимир Васильевич	Казань, Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт физики, профессор, д.х.н.
31	Коннова Светлана Анатольевна	Саратов, Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, зав.кафедрой биохимии и биофизики, д.б.н.
32	Коновалов Александр Иванович	Казань, Казанский научный центр РАН, академик РАН и АН РТ, профессор, д.х.н.
33	Кравцова Ольга Александровна	Казань, Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, доцент, к.б.н.
34	Куликов Александр Владимирович	Пушино, Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, д.б.н., проф., ученый секретарь ИТЭБ РАН
35	Литвинов Рустем Игоревич	Филадельфия, Пенсильвания, США, Пенсильванский университет, профессор
36	Медведев Дмитрий Валериевич	Рязань, ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России, кафедра биологической химии с курсом КДЛ, ассистент
37	Мустафин Ильшат Ганиевич	Казань, Казанский государственный медицинский университет, зав. кафедрой биохимии, профессор, д.м.н.
38	Нурбеков Малик Кубанычбекович	Москва, МГГУ им. М.А. Шолохова, заведующий лабораторией экологического биомониторинга, доцент, к.б.н.
39	Офицеров Евгений Николаевич	Москва, Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, профессор, д.х.н.
40	Пантелеев Михаил Александрович	Москва, Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, зав.лабораторией молекулярных механизмов гемостаза, д.ф-м.н
41	Поляновский Олег Леонидович	Москва, Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, профессор, д.б.н.
42	Ризванов Альберт Анатольевич	Казань, Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, зав. кафедрой генетики, д.б.н.
43	Северин Евгений Сергеевич	Москва, Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, биологический факультет, профессор кафедры биоорганической химии, д.б.н.

- 44 **Серебрянский
Илья Генрихович** Philadelphia, USA, Fox Chase Cancer Center, Assistant Professor
- 45 **Стефанов
Василий Евгеньевич** Санкт Петербург, Санкт-Петербургский государственный университет, зав. кафедрой биохимии, к.б.н.
- 46 **Тарчевский
Игорь Анатольевич** Казань, Казанский научный центр РАН, академик РАН, профессор, д.б.н.
- 47 **Фаттахова
Альфия Нурлимановна** Казань, Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, доцент, к.б.н.
- 48 **Хайрутдинов
Булат Имамутдинович** Казань, Казанский институт биохимии и биофизики КНЦ РАН, с.н.с., д.х-м.н
- 49 **Цибулькин
Андрей Павлович** Казань, ГБОУДПО «Казанская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ, зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики, профессор, д.м.н
- 50 **Цибулькина
Вера Николаевна** Казань, Казанский государственный медицинский университет, зав. кафедрой клинической иммунологии и аллергологии, профессор, д.м.н.
- 51 **Чайка
Алексей Максимович** Санкт Петербург, Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова МО РФ, полковник медицинской службы, доцент, к.м.н.
- 52 **Чернов
Альберт Николаевич** Казань, Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности, заведующий отделом, заместитель директора, к.в.н.
- 53 **Шакиров
Шамиль Касымович** Казань, ГНУ ТатНИИ сельского хозяйства РАСН, Руководитель НТЦ животноводства, д. с.-х. н.
- 54 **Юльметьева
Юлиана Рустэмовна** Казань, ГНУ ТатНИИ сельского хозяйства РАСН, зав. лабораторией молекулярно-генетических и биохимических исследований, к.б.н.
- 55 **Яковлев
Михаил Юрьевич** Москва, Институт общей и клинической патологии КДО РАЕН, директор, академик РАЕН, профессор, д.м.н.

20 НОЯБРЯ (СРЕДА)

10.30 – 13.00 – Сателлитное мероприятие по программе ТОП-100

(Зал заседаний Попечительского Совета КФУ, ул. Кремлевская, 35)

«Траектория развития биомедицины и фармацевтики»

Приглашенные участники:

Dr. Yoshihide Hayashizaki (Program Director, Preventive Medicine and Diagnosis Innovation Program (PMI), RIKEN, Yokohama, JAPAN)

Dr. Manabu Sugimoto (Associated Professor Institute of Plant Sciences and Resources Okayama University, JAPAN)

Dr. Alexander Mikheyev (Assistant Professor Okinawa Graduate University of Science and Technology Okinawa, JAPAN)

Dr. Igor Adameyko (Assistant Professor Karolinska Institutet: Startsidea Stockholm, SWEDEN)

Svetlana F. Khaiboullina (University of Nevada, Reno, Whittemore Peterson Institute, Reno, United States)

Vincent Lombardi (University of Nevada, Reno, Whittemore Peterson Institute, Reno, United States)

Valente, André Xavier C N (University of Coimbra, Center of Neurosciences and Cell Biology, Coimbra, Portugal)

Dr. Ilya G. Serebriiskii (Assistant Professor, Fox Chase Cancer Center, Philadelphia, USA)

21 НОЯБРЯ (ЧЕТВЕРГ)

8.00 – 19.00 РЕГИСТРАЦИЯ УЧАСТНИКОВ (КСК УНИКС, ул. Профессора Нужина, д. 2)

9.00 ТОРЖЕСТВЕННОЕ ОТКРЫТИЕ СИМПОЗИУМА

(Малый концертный зал КСК КФУ УНИКС, ул. Профессора Нужина, д. 2)

Приветствия: ректор КФУ проф. **И.Р. Гафуров**, ректор КГМУ проф. **А.С.Созинов**, проректор по инновационной деятельности **Н.Ф. Кашапов**, зам. министра образования и науки РТ **А.И. Поминов**, директора ИФМиБ, проф. **А.П. Киясов**, представители *Agilent Technologies, ООО «Агентство Химэксперт», ООО «ДиаЭм», ООО «ОПТЭК»*

9.30 – 12.00 ПЛЕНАРНОЕ ЗАСЕДАНИЕ «ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ БИОХИМИИ»

(Малый концертный зал КСК УНИКС, ул. Профессора Нужина, д. 2)

Председатели: д.б.н., проф. **Алимова Ф.К.**,
д.м.н., проф. **Мустафин И.Г.**

9.30 ДАНИЛЕВСКИЙ А.Я. И ЕГО ШКОЛА

Иванов А.М., Чайка А.М. (г. Санкт Петербург)

9.50 КАФЕДРА БИОХИМИИ В КАЗАНСКОМ УНИВЕРСИТЕТЕ В ПЕРИОД 1863-1930 И 1965- 2013 гг.

Тарчевский И.А., Алимова Ф.К. (г. Казань)

10.05 СОВЕТСКИЙ ПЕРИОД РАЗВИТИЯ КАФЕДРЫ БИОХИМИИ В СТЕНАХ КАЗАНСКОГО МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА

Мустафин И.Г. (г. Казань)

10.20 НАУКА И ЖИЗНЬ. НАУЧНЫЕ ШКОЛЫ. УЧИТЕЛЯ И УЧЕНИКИ

Поляновский О.Л. (г. Москва)

10.40 КОФЕ-БРЕЙК

- 11.00 **ВКЛАД КАЗАНСКОЙ ШКОЛЫ БИОХИМИИ ВЕТЕРИНАРНОЙ
МЕДИЦИНЫ В ЖИВОТНОВОДСТВО**
Алимов А.М. (г. Казань)
- 11.20 **ОТ БИОХИМИИ К ТЕХНОЛОГИЯМ: ОПЫТ RIKEN В ОБЛАСТИ
ТРАНСЛЯЦИОННОЙ МЕДИЦИНЫ**
Dr. Yoshihide Hayashizaki (Япония)
- 12.00-13.00 **ОБЕД**
(столовая физического факультета КФУ, ул. Кремлевская, 16а)
- 13.00 – 15.30 ПЛЕНАРНОЕ ЗАСЕДАНИЕ**
(Малый концертный зал КСК УНИКС, ул. Профессора Нужина, д. 2)
- 13.00 **СУПРАМОЛЕКУЛЯРНАЯ ХИМИЯ И БИОХИМИЯ**
Jean-Marie Lehn (Франция)
- 13.40 **ОКСИЛИПИНЫ И ИХ БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ**
Гречкин А.Н. (г. Казань)
- 14.00 **ПРОБЛЕМЫ РАЗВИТИЯ МЕДИЦИНСКОЙ БИОХИМИИ В РОССИИ**
Северин Е.С. (г. Москва)
- 14.30 **РОЛЬ МИКОТОКСИНОВ В ЖИВЫХ СИСТЕМАХ**
Иванов А.В., Чернов А.Н. (г. Казань)
- 15.00 **ЕДИНИЧНЫЕ МЕЖБЕЛКОВЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ**
Литвинов Р.И. (США)
- 16.00-18.00 **СТЕНДОВАЯ СЕССИЯ**
(КСК УНИКС, холл, ул. Профессора Нужина, д. 2)

15.45 – 19.00 СЕКЦИЯ 1 «ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ БИОХИМИИ»

(Научная библиотека им. Н.И. Лобачевского, 210 аудитория, ул.Кремлевская, д.35)

*Председатели: д.б.н., проф. Абрамова З.И.,
д.б.н., проф. Коннова С.А.*

- 15.45 **МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ АУТОИММУНИТЕТА**
Абрамова З.И. (г. Казань)
- 16.00 **РЕДОКС-РЕГУЛЯЦИЯ ФОСФОРИЛИРОВАННЫХ БЕЛКОВ**
Каримова Ф.Г. (г. Казань)
- 16.20 **ГЛИКОПОЛИМЕРЫ ПОВЕРХНОСТИ БАКТЕРИЙ РОДА AZOSPIRILLUM,
СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ И РОЛЬ ИХ В КОММУНИКАЦИИ
ОРГАНИЗМОВ**
Коннова С.А. (г. Саратов)
- 16.40 **МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ ФЕРМЕНТОВ ЛИПОКСИГЕНАЗНОГО
КАСКАДА**
Гоголев Ю.В. (г. Казань)
- 17.00 **КОФЕ-БРЕЙК**
- 17.15 **НАНОАССОЦИАТЫ – НОСИТЕЛИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ,
ПРОЯВЛЯЕМЫХ ВЫСОКОРАЗБАВЛЕННЫМИ ВОДНЫМИ РАСТВОРАМИ**
Коновалов А.И. (г. Казань)
- 17.45 **ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ АЛЬФА-ЭФФЕКТ В ХИМИИ, БИОХИМИИ,
ТОКСИКОЛОГИИ**
Офицеров Е.Н., Миронов В.Ф. (г. Москва)
- 18.05 **НЕОПРЕДЕЛЁННОСТИ ТЕОРЕТИЧЕСКИХ ВОЗЗРЕНИЙ СОВРЕМЕННОЙ
БИОХИМИИ, ГЕНЕРИРУЕМЫЕ ЧАСТНЫМИ ДОСТИЖЕНИЯМИ
ГЕНОМНЫХ И ПОСТГЕНОМНЫХ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ**
Барсуков А.К. (г. Ижевск)
- 18.25 **CHEMICAL SYNTHESIS/BIOLOGICAL STUDIES ON THE NUCLEIC ACIDS AND
THEIR DERIVATIVES**
Marvin H. Caruthers (США)

15.45 – 19.00 СЕКЦИЯ 3 «МЕДИЦИНСКАЯ БИОХИМИЯ»

(Научная библиотека им. Н.И. Лобачевского, 211 аудитория, ул. Кремлевская, д.35)

*Председатели: д.м.н., проф. Цибулькин А.П.,
к.б.н., доц. Фаттахова А.Н.*

- 15.45 **СИСТЕМА СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ И ЕЕ РЕГУЛЯЦИЯ**
Атауллаханов Ф.И. (г. Москва)
- 16.15 **МЕХАНИЗМЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ БЕЛКОВ СИСТЕМЫ СВЕРТЫВАНИЯ
КРОВИ С ТРОМБОЦИТАМИ**
Пантелеев М.А. (г. Москва)
- 16.40 **ГЕННЫЕ И КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ**
Ризванов А.А. (г. Казань)
- 17.00 **КОФЕ-БРЕЙК**
- 17.15 **РАДИОФИЗИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ДЛЯ РЕШЕНИЙ ЗАДАЧ
В ОБЛАСТЯХ ХИМИИ, МЕДИЦИНЫ, ФАРМАКОЛОГИИ,
МИКРОБИОЛОГИИ**
Крылов А., представитель *Agilent Technologies*
- 17.45 **ТРИПТОФАН Т-РНК-СИНТАЗА В ПЕРСониФИЦИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЕ**
Нурбеков М.Н. (г. Москва)
- 18.10 **ОСОБЕННОСТИ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА В ИММУНОЦИТАХ КАК ФАКТОР
РИСКА РАЗВИТИЯ АУТОИММУННОЙ ПАТОЛОГИИ**
Цибулькин А.П., Арлеевская М.И. (г. Казань)
- 18.35 **ТРОМБОДИНАМИКА – НОВЫЙ МЕТОД ИЗУЧЕНИЯ
КОАГУЛЯЦИОННОГО СОСТОЯНИЯ КРОВИ И РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА
СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**
Жданов Р.И. (г. Казань)
- 18.55 **БИОХИМИЧЕСКАЯ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ФЕРМЕНТОВ
ОКИСЛЕНИЯ КАТЕХОЛАМИНОВ В НОРМЕ И ПРИ НАРУШЕНИЯХ
ГОМЕОСТАЗА**
Фаттахова А.Н. (г. Казань)
- 19.10 **КИШЕЧНЫЙ ЭНДОТОКСИН: РОЛЬ В БИОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА И
ЖИВОТНЫХ**
Яковлев М.Ю. (г. Москва)

19.30 – 22.00 ТОРЖЕСТВЕННЫЙ УЖИН

(Банкетный зал, столовая физического факультета КФУ, ул. Кремлевская, 16а)

22 НОЯБРЯ (ПЯТНИЦА)

10.00 – 13. 00 СЕКЦИЯ 4 «БИОИНФОРМАТИКА И ОМИКСНЫЕ ПОДХОДЫ В БИОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ»

(Научная библиотека им. Н.И. Лобачевского, 210 аудитория, ул. Кремлевская, д.35)

*Председатели: д.б.н., проф. Гельфанд М.С.,
к.б.н., доц. Акберова Н.И.*

- 10.00 **ЭВОЛЮЦИЯ СИСТЕМ РЕГУЛЯЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ У ПРОКАРИОТ**
Гельфанд М.С. (г. Москва)
- 10.40 **СИСТЕМНАЯ БИОЛОГИЯ - ПЕРСПЕКТИВЫ И ПРОБЛЕМЫ**
Серебрянский И.Г. (США)
- 11.20 **БИОХИМИЯ ВЫЖИВАНИЯ: МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ АДАПТАЦИИ ЛИЧИНОК**
КРИПТОБИОТИЧЕСКОГО НАСЕКОМОГО К ПОЛНОМУ
ОБЕЗВОЖИВАНИЮ
Гусев О.А. (г. Казань)
- 11.50 **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ МОДЕЛИРОВАНИЯ И ВЫЧИСЛИТЕЛЬНОЙ**
ХИМИИ - КАК ВЕКТОР В РАЗВИТИИ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И
МОДЕРНИЗАЦИИ УЧЕБНОГО ПРОЦЕССА НА КАФЕДРЕ БИОХИМИИ
СПБГУ
Стефанов В.Е. (г. Санкт Петербург)
- 12.20 **MECHANISMS OF ALLOSTERIC REGULATION IN NUCLEAR RECEPTOR**
PROTEINS ELUCIDATEDBY MOLECULAR DYNAMICS SIMULATIONS
Roland Stote (Франция)
- 13.00-14.00 **ОБЕД**
(столовая физического факультета КФУ, ул. Кремлевская, 16а)

14.00 – 17.50 СЕКЦИЯ 3 «МЕДИЦИНСКАЯ БИОХИМИЯ»

(Научная библиотека им. Н.И. Лобачевского, 210 аудитория, ул. Кремлевская, д.35)

*Председатели: д.б.н., д.х.н., проф. Зайцев С.Ю.,
к.б.н., доц. Ибрагимова М.Я.*

- 14.00 **ТЕХНОЛОГИЯ И ПРИЛОЖЕНИЯ ПОЛУПРОВОДНИКОВОГО
СЕКВЕНИРОВАНИЯ**
Волков И.А., представитель ЗАО «Химэксперт»
- 14.30 **МИКРОФЛЮИДИКА DOLOMITE ДЛЯ РЕШЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ
ЗАДАЧ** Дмитриенко Д.В., представитель ООО ДиаЭм
- 14.45 **БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ РАЗВИТИЯ БРОНХОЛЕГОЧНЫХ
ЗАБОЛЕВАНИЙ** Цибулькина В.Н. (г. Казань)
- 15.15 **ЛИПИД-НУКЛЕИНОВЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ И КОМПЛЕКСЫ:
ЛИПИДНЫЙ КОД ГЕНОМНОЙ ДНК**
Ибрагимова М.Я. (г. Казань)
- 15.30 **ПРИМЕНЕНИЕ ДАННЫХ ОБ АКТИВНОСТИ ТРОМБОЦИТАРНЫХ
ФЕРМЕНТОВ В ЦЕЛЯХ ПРЕДИКЦИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ
АНТИПСИХОТИЧЕСКОЙ ФАРМАКОТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ
ШИЗОФРЕНИЕЙ**
Бокша И.С. (г. Москва)
- 16.00 **КОФЕ-БРЕЙК**
- 16.15 **БИОИМИДЖИНГ И ЭКСПЕРИМЕНТЫ С ЖИВЫМИ КЛЕТКАМИ**
Акимов Н.Б., Ячменев С.В., Торчинский Л.Г.,
представители Приволжского филиала ООО «ОПТЭК»
- 16.45 **ПОПУЛЯЦИОННЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ
АССОЦИАТИВНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**
Кравцова О.А. (г. Казань)
- 17.00 **СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ В БИОЛОГИИ,
БИОНАНОТЕХНОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ**
Зайцев С.Ю. (г. Москва)
- 17.25 **РАЗРАБОТКА НОВЫХ СПОСОБОВ КОМПЕНСАЦИИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ
СОСТОЯНИЙ. БИОХИМИЧЕСКИЙ, ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ И
МЕДИЦИНСКИЙ АСПЕКТЫ**
Куликов А.В. (г. Пущино)

14.00 – 17.50 СЕКЦИЯ 2 «ПРИКЛАДНАЯ БИОХИМИЯ»

(Научная библиотека им. Н.И. Лобачевского, 211 аудитория, ул. Кремлевская, д.35)

*Председатели: д.в.н., проф. Хазипов Н.З.,
д.б.н., проф. Алимова Ф.К.*

- 14.00 **МИКРОФЛЮИДИКА DOLOMITE ДЛЯ РЕШЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ ЗАДАЧ**
Дмитриенко Д.В., представитель ООО ДиаЭм
- 14.15 **СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ СПЕКТРОСКОПИИ ЯМР В ИЗУЧЕНИИ ПРОСТРАНСТВЕННОГО СТРОЕНИЯ БЕЛКОВ**
Хайрутдинов Б.И., Зуев Ю.Ф. (г. Казань)
- 14.30 **ВЛИЯНИЕ НАНОДИСПЕРСНОЙ ФОРМЫ ГЛЮКОНАТА КАЛЬЦИЯ НА МЕТАБОЛИЗМ КОСТНОЙ ТКАНИ ЖИВОТНЫХ, ПОДВЕРГНУТЫХ ИНТОКСИКАЦИИ ХЛОРОРГАНИЧЕСКИМИ СОЕДИНЕНИЯМИ**
Камилов Ф.Х. (г. Уфа)
- 14.50 **ВЛИЯНИЕ ПОВЫШЕННОГО УРОВНЯ ГОМОЦИСТЕИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ НА МЕТАБОЛИЗМ МИТОХОНДРИЙ СЕРДЦА КРЫС**
Медведев Д.В. (г. Рязань)
- 15.05 **ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОГО СТРОЕНИЯ ОЛИГОПЕПТИДОВ И ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ В РАСТВОРАХ И В КОМПЛЕКСАХ С МОДЕЛЬНЫМИ МЕМБРАНАМИ СОВРЕМЕННЫМИ МЕТОДАМИ ЯМР СПЕКТРОСКОПИИ**
Клочков В.В. (г. Казань)
- 15.25 **БЕЗОПАСНО-БЕСКОНФЛИКТНОЕ РАЗВИТИЕ ПРИКЛАДНОЙ НАПРАВЛЕННОСТИ НАУК, ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ НАДЛЕЖАЩЕГО КАЧЕСТВА BIOTEХНОЛОГИЧЕСКИХ НОВОВВЕДЕНИЙ**
Барсуков А.К. (г. Ижевск), Воробьев Ю.Н. (г. Казань)
- 15.50 **МЕТОД ПОВЕРХНОСТНОГО ПЛАЗМОННОГО РЕЗОНАНСА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕЖМОЛЕКУЛЯРНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ**
Назарова А.И. (г. Долгопрудный)
- 16.00 **КОФЕ-БРЕЙК**
- 16.15 **КАЧЕСТВЕННЫЙ ПРОРЫВ В КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ПЦР**
Терещенко Ф., представитель Bio-Rad Laboratories
- 16.30 **ВЛИЯНИЕ МОДУЛЯТОРОВ СИНТЕЗА ОКСИДА АЗОТА НА ОКИСЛИТЕЛЬНУЮ МОДИФИКАЦИЮ БЕЛКОВ СПЛЕНОЦИТОВ КРЫС**
Абаленихина Ю.В. (г. Рязань)
- 16.45 **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ ИНДИКАТОРОВ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ МИТОХОНДРИЙ РАСТЕНИЙ: ПОДХОДЫ И ОГРАНИЧЕНИЯ**
Абдрахимова Й.Р. (г. Москва)
- 17.00 **УЧАСТИЕ КАРДИОЛИПИНА В СТАБИЛИЗАЦИИ МЕМБРАННЫХ БЕЛКОВЫХ КОМПЛЕКСОВ E.COLI**
Богданов М.В. (США), Иванова В.В. (г. Казань)
- 17.15 **AIRBORNE INFLUENZA VIRUS SURVIVAL IN THE AIR ENVIRONMENT**
Аграновский И.Е. (Australia)

17.30 ДНК-ДИАГНОСТИКА МОЛОЧНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ И ГЕНЕТИЧЕСКИХ АНОМАЛИЙ: СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВА ЕЕ ПРИМЕНЕНИЯ В СЕЛЕКЦИИ
Шакиров Ш.К., Юльметьева Ю.Р. (г. Казань)

17.45 ТОПОГЕНЕЗ ПЕРМЕАЗЫ ЛАКТОЗЫ В МЕМБРАНЕ *ESCHERICHIA COLI*
Богданов М.В. (США), Рябичко С.С. (г. Казань)

18.00 – 18.30 ТОРЖЕСТВЕННОЕ ЗАКРЫТИЕ СИМПОЗИУМА

(Малый концертный зал КСК УНИКС, ул. Профессора Нужина, д. 2)

18.30 – 20.30 ЭКСКУРСИЯ ПО КАЗАНИ. ОТЪЕЗД УЧАСТНИКОВ

**Программа Школы молодых ученых
«СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ В БИОЛОГИИ»**

21 НОЯБРЯ (ЧЕТВЕРГ)

8.00 – 19.00 РЕГИСТРАЦИЯ УЧАСТНИКОВ (КСК УНИКС, ул. Профессора Нужина, д. 2)

Время	Занятие	Преподаватель	Аудитория
14.00 – 14.45	Применение метода динамического рассеяния света для характеристики биологических объектов	Абдуллин Тимур Илдарович К.б.н., доцент кафедры биохимии, с.н.с. Научно-образовательного центра Фармацевтики	115В, восточное крыло, главное здание КФУ

22 НОЯБРЯ (ПЯТНИЦА)

Время	Занятие	Преподаватель	Аудитория
9.00 – 13.00	Краткий курс по патоморфологии и хирургии лабораторных животных SPF-категории	Фаттахова Альфия Нурлимановна К.б.н., доцент кафедры биохимии	114В, восточное крыло, главное

	по стандартам GLP	Директор ООО «НПП Казан Университи Вивариум»	здание КФУ
13.00– 14.00	Обед		
14.00 – 16.00	ПЦР в анализе генома – SNP идентификация. Анализ экспрессии генов	Кравцова Ольга Александровна , к.б.н., доцент кафедры биохимии Сунгатуллина Лилия Масхутовна , ассистент кафедры биохимии	107В, 114В, восточное крыло, главное здание КФУ
17.00 – 18.45	ПЦР в анализе генома – SNP идентификация. Анализ экспрессии генов	Кравцова Ольга Александровна , к.б.н., доцент кафедры биохимии Сунгатуллина Лилия Масхутовна , ассистент кафедры биохимии	107В, 114В, восточное крыло, главное здание КФУ

23 НОЯБРЯ (СУББОТА)

Время	Занятие	Преподаватель	Аудитория
10.00 – 13.00	Биоинформатика и математические методы. Мастер-класс по молекулярному моделированию.	Акберова Наталья Ивановна к.б.н., доцент кафедры биохимии Roland Stote (Франция, Structural Biology and Genomics Department, IGBMC)	116В, восточное крыло, главное здание КФУ
13.00 – 14.00	Обед		
14.00 – 15.30	Хроматографические методы в биохимии	Невзорова Татьяна Александровна , к.б.н., доцент кафедры биохимии	111В, восточное крыло, главное здание КФУ
15.35 – 16.15	Метод нормирования по общему белку безокрасочной технологией V3 western workflow	Шахмаева Ирина Игоревна , к.б.н., специалист по продукции Biorad	117В, восточное крыло, главное здание КФУ

16.20 –17.00	Как обратить любопытство в пользу для других и для себя	Воробьев Юрий Николаевич , к.ф.-м.н., начальник отдела трансфера и коммерциализации технологий КФУ	013В, восточное крыло, главное здание КФУ
17.00-17.30	Отъезд участников		013В, восточное крыло, главное здание КФУ

СХЕМА УНИВЕРСИТЕТСКОГО ГОРОДКА КФУ



1. *Главный корпус университета*
2. *Культурно-спортивный комплекс УНИКС*
3. *Научная библиотека им. Н.И. Лобачевского*
4. *Физический корпус*

Материалы симпозиума

OLIGONUCLEOTIDE SYNTHESIS INTERFACED WITH MOLECULAR BIOLOGY AND NANOTECHNOLOGY

Marvin H. Caruthers^{1*}

¹University of Colorado, Department of Chemistry & Biochemistry, Boulder, CO 80309

* Correspondence to: marvin.caruthers@colorado.edu

ABSTRACT

DNAs having modified linkages (1-4) were synthesized and have unique biological and chemical properties. The rapid synthesis of DNA & RNA 300 nucleotides (nts) in length on glass slides will also be presented.

INTRODUCTION

We describe new DNA analogs (ODNs) that have unique biological and chemical properties. Methods are described for synthesis of DNA & RNA with 300 nucleotides (nts).

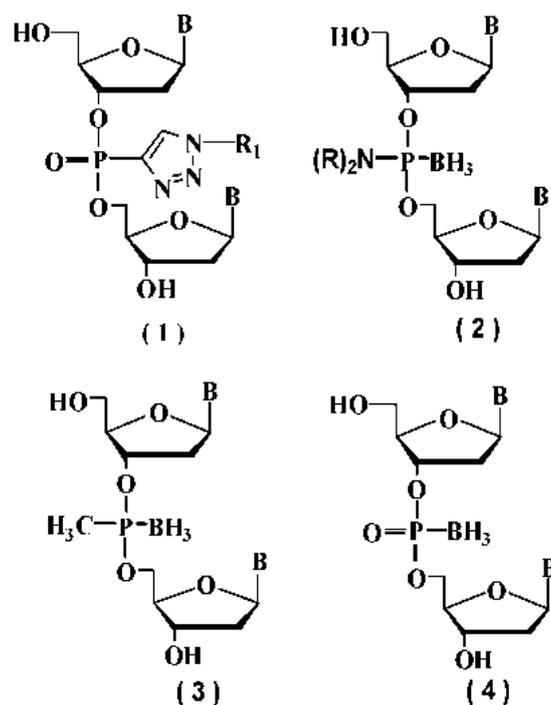
RESULTS AND DISCUSSION

Triazolylphosphonate (1, R₁=H, lysyl, peptidyl, CH₂CH₂N(CH₃)₃) ODNs were synthesized from 2'-deoxynucleoside-3'-O-(N,N-diisopropylamino)ethynylphosphine and standard phosphoramidites. Post synthesis, triazole or peptides were introduced using azides and CLICK chemistry. Of particular interest was 16 mers carrying triazolylphosphonate or various peptide internucleotide linkages were transfected without lipid into HeLa cells, WM-239, SK-N-F1, and shown to be biologically active Jurkat cells. These triazolylphosphonate ODNs were active as microRNA antagonists.

Boranephosphamidate ODNs(2) were prepared from 3'-O-bis(dialkylamino)phosphine-2'-deoxynucleosides or the 3'-O-bis(morpholino)phosphine 2'-deoxynucleosides. Condensation generates a PIII dimer which is boronated. Extension using either the bis amino phosphines or normal phosphoramidites generates ODNs having borane phosphamidate and phosphate linkages. These analogs are nuclease resistant, form stable duplexes with DNA, and have biological activity.

The synthesis of boranemethylphosphine DNA(3) has been reported¹. These ODNs are nuclease resistant, form duplexes with RNA and can be transfected without lipid into HeLa cells.

Boranephosphonate DNA has been synthesized using an approach having silyl protection on the nucleobases and 5'-dimethoxytrityl as the transient protecting



group. This method allows synthesis with standard phosphoramidites on supports, including acidic removal of trityl groups.

Borane containing ODNs reduce metal ions. For example (4) reduces Au^{3+} and PtCl_4^- at room temperature and Ag^+ at 55°C . The products of these reductions are the metals, boric acid, and intact, natural internucleotide linkages. Boranephosphonate DNA can be incorporated into arrays having double crossover junctions and reduced to generate silver nanoassemblies.

In collaboration with Agilent Technologies, we have developed procedures for the synthesis of DNA & RNA 300 nts. in length (~50% fidelity) on glass slides. Approximately 6 billion couplings on Agilent instruments are completed each 24 hrs.

CONCLUSION

We report the synthesis of three analogs (1, 2, 3) and a new method for preparing (4). These ODNs exhibit several unique biological and chemical properties. DNA metal reduction can be used for designing nanomaterials. DNA & RNA prepared on glass slides has proven to be a new, important technological development for research in biology and data storage.

REFERENCE

1. Krishna & Caruthers, J.Am.Chem Soc. 2011, 133, 9844.

MECHANISMS OF ALLOSTERIC REGULATION IN NUCLEAR RECEPTOR PROTEINS ELUCIDATED BY MOLECULAR DYNAMICS SIMULATIONS

Ismail Amal, Yasmine Chebaro, Annick Dejaegere, Roland H. Stote

Institute of Genetics and Molecular and Cellular Biology (IGBMC) - CNRS UMR 7104 - Inserm U 964 Integrated Structural Biology Department, Illkirch, France

Nuclear receptor proteins constitute a superfamily of proteins that function as ligand dependent transcription factors. They are implicated in the transcriptional cascades underlying many physiological phenomena, such as embryogenesis, cell growth and differentiation, and apoptosis, making them one of the major signal transduction paradigms in metazoans. Regulation of these receptors occurs through the binding of hormones, and in the case of the retinoic acid receptor (RAR) through the binding of retinoic acid (RA), and through phosphorylation by kinases that are themselves activated by RA. In the case of $\text{RAR}\alpha$, phosphorylation of Ser369 located in loop L9–10 of the ligand-binding domain leads to an increase in the affinity for the protein cyclin H, which is part of the Cdk-activating kinase complex of the general transcription factor TFIID. The cyclin H binding site in $\text{RAR}\alpha$ is situated more than 40 Å from the phosphorylated serine. In addition, a

second and related phosphorylation occurs on the N-terminal domain (NTD) of RAR γ . It has been shown experimentally that a decrease in affinity of the NTD for the co-repressor protein vinexin β occurs upon phosphorylation. To understand the consequences of phosphorylation in the RAR nuclear receptor proteins, we used molecular simulations studies in order to understand the changes in the RAR molecular conformations that occur upon phosphorylation and how these changes may affect the binding affinity. The high sequence and structure conservation in nuclear receptor proteins suggests that these signal transduction mechanisms could be more generally applied to other nuclear receptor proteins.

References

Phosphorylation of the retinoic acid receptor alpha induces a mechanical allosteric regulation and changes in internal dynamics. Chebaro Y, Amal I, Rochel N, Rochette-Egly C, Stote RH, Dejaegere A. PLoS Comput Biol. 2013 Apr;9(4):e1003012.

Evolution of nuclear retinoic acid receptor alpha (RAR α) phosphorylation sites. Serine gain provides fine-tuned regulation. Samarut E, Amal I, Markov GV, Stote R, Dejaegere A, Laudet V, Rochette-Egly C. Mol Biol Evol. 2011 Jul;28(7):2125-37.

Dynamic correlation networks in human peroxisome proliferator-activated receptor- γ nuclear receptor protein. Fidelak J, Ferrer S, Oberlin M, Moras D, Dejaegere A, Stote RH. Eur Biophys J. 2010 Oct;39(11):1503-12.

ДОСТИЖЕНИЯ КАЗАНСКОЙ ШКОЛЫ ВЕТЕРИНАРНЫХ БИОХИМИКОВ

А.М.Алимов – д.в.н., профессор, зав. кафедрой
ФГБОУ ВПО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины
имени Н.Э. Баумана»
тел.: (843) 273-97-05)

Самостоятельная кафедра биологической химии была организована в 1924 году. Заведующим был назначен профессор С.И. Афонский, который возглавлял кафедру до 1949, с 1949 по 1984 год - профессор Х.Ш. Казаков, с 1984 года по 2007 год - профессор Н.З. Хазипов, с 2008 года - профессор А.М. Алимов.

Основным направлением научных исследований под руководством С.И. Афонского являлось изучение белков и биологических комплексных соединений, в которых активное участие принимали И.Ф. Тяняшин, Х.Ш. Казаков, А.И. Яковчук и др. На основании таких исследований и литературных данных в 1948 г.

Продолжением изучения природы комплексных соединений белков являются исследования, проводимые сотрудниками кафедры биохимии и

лаборатории биохимии с 1961 г. по получению хелатных соединений биогенных элементов с биополимерами и определению их физико-химических и биологических свойств.

Глубокими и всесторонними исследованиями установлена эффективность применения хелатных форм биогенных металлов для профилактики и лечения животных при недостаточности их в кормах, для стимуляции обмена веществ.

С 60-х годов XX века сотрудники кафедры и аспиранты занимаются совершенствованием методов диагностики и идентификации возбудителей лейкоза крупного рогатого скота, листериоза, стрептококкозов и туберкулеза на основе иммунохимических и молекулярно-генетических тест-систем, впервые в РФ у крупного рогатого скота выявлен вирус иммунодефицита, А так же ДНК-генотипированием животных. В решении этих задач применяются гель-электрофорез, иммуноблотинг, полимеразная цепная реакция и ПЦР-ПДРФ.

Кроме того, продолжаются исследования по созданию и обоснованию применения по созданию и обоснованию применения в ветеринарии и животноводстве на основе нанобиотехнологии новых форм хелатных соединений.

За годы функционирования Казанского ветеринарного института сформировалась школа биохимиков. Подготовлено 11 докторов, 82 кандидата наук.

ВЛИЯНИЕ МОДУЛЯТОРОВ СИНТЕЗА ОКСИДА АЗОТА НА ОКИСЛИТЕЛЬНУЮ МОДИФИКАЦИЮ БЕЛКОВ СПЛЕНОЦИТОВ КРЫС

Абаленихина Ю.В.

Научный руководитель: Фомина М.А. к.м.н., доцент
ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России

Окислительная модификация белков, являющаяся ранним и надежным маркером окислительного стресса, представляет собой ковалентное изменение структуры белка, вызванное непосредственным воздействием активных форм кислорода и/или азота. При этом важно отметить, что оксид азота, продуцируемый из L-аргинина клетками селезенки крыс под действием индуцибельной NO-синтазы, участвует не только в формировании иммунного ответа, но и способен выступать в качестве антиоксиданта и прооксиданта. Именно поэтому особый интерес вызывает влияние субстрата синтеза оксида азота (L-аргинин) и неселективного ингибитора NO-синтазы (N-нитро-L-аргининметиловый эфир) на окислительную модификацию спленоцитов крыс.

Материалы и методы. Исследование проводили на конвенциональных крысах-самцах линии Wistar массой 280-320 граммов. После введения

животных в глубокий наркоз производили обескровливание и стерильно извлекали селезенки, далее выделяли спленоциты. Спленоциты инкубировали *in vitro* в полной питательной среде, содержащей 5 мМ L-NAME (n=8) и 5 мМ L-аргинин (n=8) 24 часа. Контрольная группа (n=8) представляла собой спленоциты, инкубированные в тех же условиях в полной питательной среде. Окислительную модификацию белков (ОМБ) оценивали по методу R. L. Levine в модификации Е. Е. Дубининой. Оценку ОМБ производили путем подсчета площади под кривой спектра.

Результаты и их обсуждение. В контрольной группе площадь под кривой окислительной модификации белков спленоцитов крыс составила 33,4 [25,7; 39,4], в группе L-аргинин - 18,4 [12,9; 81,1] ($p \geq 0,05$), в группе L-NAME - 80,9 [72,1; 129,8] ($p \leq 0,05$).

Из приведенных данных следует, что дополнительное введение аргинина способствует снижению карбонильных производных белков. Этот факт, возможно, связан не только с непрямой антиоксидантным эффектом субстрата, но и со снижением высвобождения супероксид-анион-радикала в эндотелии сосудов. Кроме этого известно, что NO способен связываться с Fe^{2+} , в результате чего образуются динитрозильные комплексы негемового железа. Именно поэтому в условиях моделирования дефицита синтеза оксида азота, Fe^{2+} , возможно, связывается с металл-связывающей поверхностью белка, что способствует модификации протеинов. Увеличение количества карбонильных производных белков может быть связано со способностью L-NAME оказывать ингибирующее воздействие на активность каталазы.

Вывод. Субстрат синтеза оксида азота L-аргинин обладает непрямой антиоксидантным эффектом, в свою очередь, L-NAME способствует угнетению цитопротекторных свойств оксида азота и как следствие к образованию карбонильных производных белков.

БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ АУТОФАГИИ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ (НА МОДЕЛИ Т-ЛИМФОЦИТОВ БОЛЬНЫХ АТОПИЧЕСКОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ)

Абрамова З.И., Скибо Ю.В.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт
фундаментальной медицины и биологии, кафедра биохимии

Основным принципом функционирования физиологических систем является поддержание целостности организма. На клеточном уровне данный процесс реализуется за счет постоянного равновесия между такими физиологическими процессами как: пролиферация, дифференцировка и программируемая клеточная гибель (ПКГ). Нарушение одного из них может стать причиной развития патологии.

Наиболее изученной формой гибели клеток является апоптоз, который отвечает за удаление старых и поврежденных клеток. Апоптоз может быть инициирован как физиологическими, так и патологическими стимулами. Основные характеристики апоптоза включают: Сжатие клетки. Клетка уменьшается в размерах; цитоплазма уплотняется; органеллы располагаются более компактно. Конденсация хроматина. Это наиболее характерное проявление апоптоза. Хроматин конденсируется по периферии, под мембраной ядра, при этом образуются четко очерченные плотные массы различной формы и размеров. Ядро же может разрываться на два или несколько фрагментов. Конденсация хроматина обусловлена расщеплением ядерной ДНК в местах, связывающих отдельные нуклеосомы, что приводит к развитию большого количества фрагментов, в которых число пар оснований делится на 180-200. При электрофорезе фрагменты дают характерную картину лестницы. Именно на выявлении фрагментации ДНК основаны биохимические тесты на апоптоз.

Формирование в цитоплазме полостей и апоптотических телец. В апоптотической клетке первоначально формируются глубокие впячивания поверхности с образованием полостей, что приводит к фрагментации клетки и формированию окруженных мембраной апоптотических телец, в которых могут быть фрагменты ядер, элементы аппарата Гольджи, митохондрии и т.д.

Аутофагия - это эволюционно консервативный катаболический процесс, который позволяет переваривать клеточные компоненты. Существует три типа аутофагии: макроаутофагия, микроаутофагия и шаперон-опосредованная аутофагия.

При шаперон-опосредованной аутофагии происходит направленный транспорт денатурированных белков из цитоплазмы в лизосомы, где они перевариваются. Этот тип аутофагии происходит при участии цитоплазматических белков-шаперонов семейства hsc-70 и вспомогательных белков LAMP-2, который служит мембранным рецептором комплекса шаперона и белка, подлежащего транспорту в лизосому.

При микроаутофагии образуются впячивания мембраны эндосомы или лизосомы, которые затем отделяются в виде внутренних пузырьков. Таким путем клетка может переваривать белки при нехватке энергии или при голодании.

Макроаутофагия (зачастую говоря об аутофагии, подразумевается именно макроаутофагия) связана с формированием *de novo* в клетках специализированных структур – аутофагосом, внутри которых происходит деградация органелл и цитоплазматического материала. Аутофагосомы это двухмембранные образования, внутри которых помещается клеточный материал, подлежащий разрушению. При слиянии аутофагосом с лизосомами образуются аутофаголизосомы, где и происходит расщепление подлежащих уничтожению компонентов клетки.

Стимулами к запуску процессов аутофагии в клетках являются: отсутствие факторов роста или нехватки питательных веществ, наличие в

цитоплазме поврежденных органелл, например, митохондрий, пероксисом и т.д.; возникновение монослоя в клеточных культурах и существование контактного торможения и т.д.

Одним из самых распространенных стимулов запуска аутофагии является нехватка питательных веществ и в этом смысле, отсутствие любого типа необходимых питательных веществ может вызвать аутофагию. У дрожжей азотное голодание является наиболее мощным стимулом. Азотное или углеродное голодание также вызывает аутофагию в клетках растений.

Аутофагия была описана в то же время, что и апоптоз, но долгое время она воспринималась как механизм поддержания функционирования клетки в стрессовых условиях, за счет переваривания собственных внутриклеточных компонентов. Исследования последних лет показали, что аутофагия может быть механизмом гибели клеток (ПКГ по типу II).

Взаимодействие между аутофагией и апоптозом является установленным фактом. Однако механизмы, посредством, которого происходит переключение с одного процесса на другой, не до конца ясны.

Бронхиальная астма относится к группе хронических воспалительных заболеваний, в развитии которого установлено усиление выживаемости Т-лимфоцитов вследствие утратой ими способности к апоптозу. Устойчивость Т-лимфоцитов к апоптозу может быть связана с активацией аутофагии.

В основе патогенеза атопической бронхиальной астмы ведущая роль принадлежит Т-лимфоцитам, из-за их высокого содержания. Одной из причин длительного функционирования данной субпопуляции является устойчивость клеток к апоптозу.

Поэтому мы провели анализ содержания Т-лимфоцитов в периферической крови. Сравнительный анализ показал отсутствие различий в содержании Т-клеток в исследуемых группах. Как известно, популяция Т-лимфоцитов представлена двумя субпопуляциями: Т-хелперами и цитотоксическими Т-лимфоцитами. Анализ субпопуляционного состава показал, что группа с тяжелой формой АБА характеризуется снижением содержания цитотоксических Т-лимфоцитов и повышением Т-хелперов. Увеличение Т-хелперов в свою очередь приводит к повышению В-лимфоцитов, которые дифференцируясь в плазмоциты, способны секретировать иммуноглобулины. Анализ иммуноглобулинового состава выявил значимое повышение IgE, что с высокой вероятностью указывает на наличие аллергического процесса. Повышение всех показателей свидетельствует о вовлеченности гуморальных звеньев адаптивного иммунитета в патогенез заболевания.

Любое изменение в функциональном состоянии клеток отражается на их морфологии. Поэтому на следующем этапе исследований была поставлена задача: охарактеризовать морфологические особенности Т-лимфоцитов.

Морфологическое состояние Т-лимфоцитов в контрольной группе указывает на функционально-активное состояние клеток, что проявляется в наличии микроворсинок, повышенном содержании митохондрий и наличии

крупного ядра округлой формы, занимающее почти весь объем клетки. Результаты ТЭМ согласовывались с результатами АСМ, которая также позволяет анализировать поверхность исследуемого образца. На АСМ микрофотографиях хорошо заметно, что плазматическая мембрана отличается ровным упорядоченным рельефом; выявляются глобулярные структуры, которые могут соответствовать плазматическим белкам.

В группе с легкой формой АБА установлено формирование инвагинаций плазматической мембраной, уменьшение размеров ядра, конденсация хроматина и наличие аутофагосом в клетках. Наряду с изменением морфологии клеток, меняется плазматическая мембрана: увеличивается количество глобулярных структур, но при этом размер их уменьшается.

В группе с тяжелой формой также отмечено изменение в морфологии клеток: формирование глубоких инвагинаций как клеточной, так и ядерных мембран, наличие блембингов, вакуолей в клетке, что свидетельствует о высокой секреторной активности клеток. Отмечается изменение поверхности клеток.

Таким образом, на данном этапе исследований мы показали изменение не только функционального состояния клеток, проявляющегося в повышенном содержании CD4+ Т-лимфоцитов в группе с тяжелой формой, но и изменение морфологических параметров Т-лимфоцитов. Все выявленные особенности могут являться следствием нарушения клеточной гибели Т-лимфоцитов.

На следующем этапе работы была поставлена задача охарактеризовать биохимические и морфологические параметры апоптоза и аутофагии. В процессе культивирования клетки оказываются в стрессовых условиях из-за снижения питательных компонентов в среде, вследствие чего запускается процесс апоптоза. В качестве индуктора апоптоза был использован дексаметазон, синтетический глюкокортикоид, входящий в группу терапевтических веществ, назначаемых больным астмой.

Анализ биохимических параметров апоптоза показал, что на 3 сутки содержание апоптотических Т-лимфоцитов в группах больных АБА было ниже относительно контроля. Добавление Декс стимулировало ранние и поздние проявления апоптоза в контроле и у больных легкой формой АБА и не влиял на лимфоциты больных тяжелой формой. На 6 сутки возрастала устойчивость Т-клеток к апоптозу в группах с легкой и тяжелой формами АБА.

Таким образом, анализ биохимических показателей апоптоза выявил устойчивость Т-клеток больных астмой к апоптозу в условиях стресса.

Затем был проведен морфологический анализ Т-клеток, находящихся в культуре. Большая часть Т-лимфоцитов здоровых доноров обладает морфологией, соответствующей апоптотическим изменениям на ранней стадии процесса, а именно отсутствие микроворсинок, конденсация хроматина по периферии ядра. Добавление дексаметазона стимулировало

поздние этапы апоптоза (инвагинация ядерной и плазматической мембран, конденсация хроматина, наличие апоптотических телец в среде), что согласовывалось с результатами биохимического анализа апоптоза.

Анализ микрофотографий Т-лимфоцитов больных легкой формой АБА показал, что большая часть клеток сохраняет типичную морфологию пролиферирующих клеток. Но при этом обнаружены крупные аутофагосомы, внутри которых достаточно хорошо детерминированы различные клеточные компоненты. Кроме того, были обнаружены фрагменты погибших клеток, в которых большая часть содержимого представлена аутофагосомами. Это свидетельствует о запуске ПКГ по типу II или аутофагической гибели.

Таким образом, в условиях снижения апоптотической активности в Т-клетках больных легкой формой астмы инициируется программа аутофагии, способствующая гибели клеток и поддержанию клеточного гомеостаза в целом. Культивирование Т-лимфоцитов больных легкой формой заболевания с дексаметазоном сказывалось на стимулировании ранних этапов апоптоза. Проявления аутофагии не были установлены.

В группе с тяжелой формой АБА отмечена одновременная активация аутофагии и апоптоза. Добавление дексаметазона способствовало интенсивной активации аутофагии, что проявлялось в увеличении содержания и размера аутофагии в клетках. При этом отсутствовали морфологические признаки апоптоза. По данным морфологического анализа следует, что снижение питательных веществ в среде стимулирует индукцию апоптоза у здоровых доноров и активацию аутофагии у больных АБА.

Биохимическим маркером аутофагии является белок LC3B, который экспрессируется на мембране аутофагосомы. LC3 белок присутствует в цитозоле большинства типов клеток. При запуске аутофагии он протеолитически разрушается, образуя LC3-I изоформу. Его конъюгация с фосфатидилэтаноламином приводит к образованию LC3-II формы, которая располагается на внутренней и внешней мембране аутофагосомы. Поэтому, количество LC3-II хорошо коррелирует с числом аутофагосом. Эта характеристика преобразования LC3 может быть использована для мониторинга аутофагии.

Используя различные флуоресцентные красители, можно детектировать наличие аутофагосом в клетке. В результате проведенных исследований мы установили, что в Т-лимфоцитах здоровых доноров экспрессия LC3B белка отсутствует. У больных как с легкой, так и с тяжелой формой АБА, выявлено наличие аутофагосом в Т-клетках, однако их количество и интенсивность экспрессии белка выше в группе больных с тяжелой формой астмой.

Методом проточной цитометрии был определен уровень экспрессии данного белка в лимфоцитах, который показал, что содержание белка повышалось с увеличением тяжести заболевания.

Мы также провели анализ содержания двух изоформ LC3 белка. Который показал, что I изоформа белка представлена во всех группах. И

лишь в группе с тяжелой формой обнаружена II изоформа белка, связанная с аутофагосомами. Добавление дексаметазона способствовало переходу I изоформа LC3белка во II форму.

Итак, полученные результаты позволяют говорить, что процесс программированной клеточной гибели Т-лимфоцитов при развитии atopической бронхиальной астмы не так однозначен, как считалось ранее. Помимо апоптоза, свой вклад в патологическое развитие астмы может вносить аутофагия.

Устойчивость к апоптозу Т-клеток больных легкой формой АБА способствует активации аутофагии, которая приводит к запуску ПКГ II типа и сохранению гомеостаза организма в целом.

В Т-лимфоцитах больных тяжелой формой АБА установлена одновременная активация апоптоза и аутофагии, способствующая длительному функционированию Т-клеток, персистенции заболевания и ее более тяжелым проявлениям.

ИССЛЕДОВАНИЕ КОНФОРМАЦИОННОЙ СТРУКТУРЫ И ДИНАМИКИ НОВЫХ ЧЕТВЕРТИЧНЫХ ФОСФОНИЕВЫХ СОЛЕЙ МЕТОДАМИ ЯМР СПЕКТРОСКОПИИ

Аганова О.В., Галиуллина Л.Ф., Аганов А.В., Пугачев М.В., Штырлин Н.В., Штырлин Ю.Г., Клочков В.В.

науч. рук: Клочков В.В. д.х.н., профессор
Казанский (Приволжский) Федеральный Университет

Фосфорорганические соединения широко используются в органическом синтезе. Среди них, в связи с использованием в медицинской химии, особый интерес представляют соли четвертичного фосфония. Среди них, витамин B6 (пиридоксин) представляет особый интерес в качестве исходного соединения, так как он участвует в более сотни ферментативных реакций, участвующих в биосинтезе обмена веществ и регуляторных функций в живых организмах.

Для создания новых биологически активных веществ и лекарственных препаратов с заданными свойствами важно иметь информацию о трехмерной структуре и динамике соединений в растворе. С этой точки зрения, метод ядерного магнитного резонанса (ЯМР) является одним из мощнейших инструментов для решения подобных задач. Он позволяет не только установить пространственную структуру соединений и исследовать динамические процессы с качественной точки зрения, но и определить количественные энергетические параметры конформационных переходов.

Данное исследование посвящено изучению конформационной структуры и динамики новых производных четвертичных фосфониевых солей на основе пиридина. Для исследуемых соединений 1 и 2 (рис. 1) наблюдается конформационный обмен между двумя конформациями,

полученными за счет одновременных симметричных поворотов $P^+-(Ph)_3$ групп вокруг связей C5-C14 и C4-C16 (Рис. 1). Определены энергетические параметры конформационных переходов.

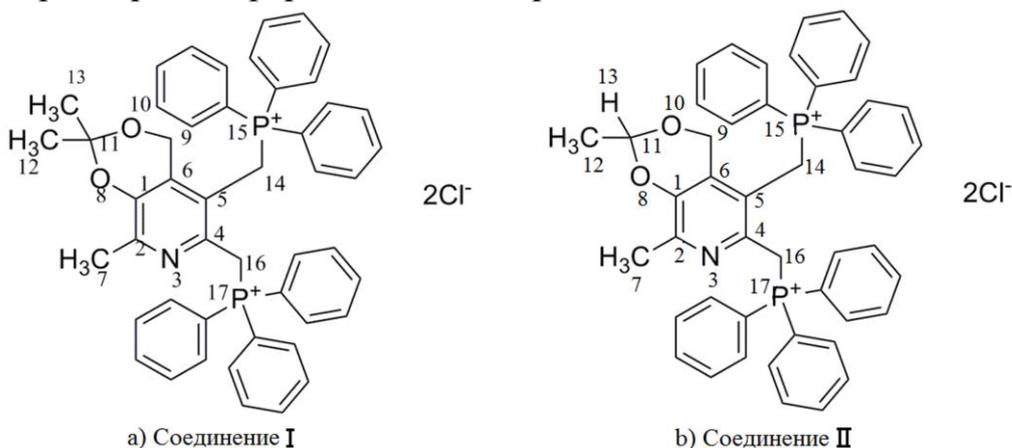


Рис. 1. Химические структуры исследованных соединений.

НОВАЯ КОНЦЕПЦИЯ ГЕМОСТАЗА. КЛИНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

Ф.И. Атауллаханов

Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН

Во всем мире заболевания сердечно-сосудистой системы (ССЗ) являются ведущей причиной смертности и инвалидности (22.3% по данным ВОЗ за 2004 г.).

В России ситуация заметно хуже: болезни системы кровообращения на протяжении многих лет занимают первое место в общей структуре смертности (самый высокий показатель в Европе) и инвалидизации населения и составляют 57%, или 1,3 млн. человек в год, при этом почти 20% из этого числа умирают в трудоспособном возрасте (см., например, данные Госкомстата - <http://www.gks.ru/> от 20.01.2009г., таблица 1, см рис 2). При этом отчетливо видна негативная тенденция.

В своем докладе на конференции «Совершенствование медпомощи больным с сосудистыми заболеваниями» глава Минздравсоцразвития России Т. Голикова, из которого взяты приведённые цифры, подчеркнула, что потеря ВВП в России за период 2005-2015 гг. из-за преждевременных смертей от сосудистых причин может составить около 8 трлн. руб.

Речь идёт, по сути, о влиянии заболеваний сердечно-сосудистой системы на демографические и экономические показатели нашей страны в целом. В структуре причин смертности от сердечно-сосудистых заболеваний в Российской Федерации лидирующее положение занимает ишемическая болезнь сердца (55% у мужчин и 41% у женщин). При этом низкая средняя

продолжительность жизни у нас в стране (мужчины - 62,5 лет, женщины – 79,5 лет) определяется так называемой «сверх-смертностью» населения в трудоспособном возрасте, потери которого более чем в 2 раза опережают потери (естественную убыль) населения в целом.

Нарушения свертывания крови играют лидирующую роль в развитии ССЗ. Традиционно в качестве основных проявлений ССЗ рассматривают: в неврологии все варианты преходящих нарушений мозгового кровообращения вплоть до инсульта, в кардиологии – все варианты стенокардии, вплоть до инфаркта.

Но важность диагностики и терапии нарушений свертывания значительно шире, чем только ССЗ. Многочисленные патологические состояния, не обязательно напрямую обусловленные или связанные с гемостазом, могут приводить в конечном итоге к разбалансированию гемостатической системы. Тромбоз или диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови могут быть непосредственной причиной смерти в самых разных случаях: при раке, сепсисе, травме или хирургическом вмешательстве. Нарушения свертывания играют важнейшую роль в потере трудоспособности при целом ряде заболеваний, в таких, казалось бы, далеких от кардиологии областях, как эндокринология (при сахарном диабете), глазные болезни (слепота – тромбоз сосудов сетчатки), могут привести к летальному исходу при острых и массивных кровопотерях (травмы, боевые действия), а также в акушерстве и гинекологии.

Корректная диагностика нарушений свертывания крови является общемировой проблемой. Традиционные методы диагностики — протромбиновое время, активированное частичное тромбопластиновое время и другие — обладают низкой чувствительностью и специфичностью: т.е. они не позволяют детектировать нарушения, а если они показывают нарушение, то на самом деле его может не быть. Поэтому в последние годы во всем мире идет активное создание новых методов; и основная линия этого поиска — стремление создать корректную экспериментальную модель гемостаза и тромбоза, приблизить свертывание *in vivo* к ситуации *in vitro*. Это то, что в современной литературе называют глобальными тестами гемостаза.

В мире существуют два коммерчески доступных глобальных теста гемостаза: тест генерации тромбина и тромбэластография. Однако, у этих методов есть два недостатка: 1) они также плохо чувствуют протромботические изменения и 2) их физиологическая интерпретация непонятна, так как постановка эксперимента не соответствует условиям *in vivo*.

Свертывание в организме протекает неоднородно. Иначе говоря, формирование сгустка происходит не только во времени, но и в пространстве. Рост сгустка запускается сложным белковым комплексом (т.н., «внешней» теназой) на поврежденной сосудистой стенке, распространяется с

участием фермента протромбиназы на активированных тромбоцитах в объеме плазмы и тормозится реакциями с участием тромбомодулина на здоровом эндотелии. Адекватное изучение этих процессы с помощью гомогенных методов невозможно.

Наши исследования пространственной динамики свертывания крови привели к созданию нового метода, одинаково хорошо чувствительного как к гипо-, так и к гиперкоагуляционным состояниям. В основе метода лежит активация свертывания на стенке измерительной кюветы с помощью специально сформированного нанопокртия, содержащего главный белок-активатор свертывания в организме – тканевой тромбопластин. Толщина покрытия (30-50 нм) и его композиция подобраны так, что поверхность может запустить активацию свертывания, идентичную развивающейся в организме в месте повреждения стенки сосуда. Пространственная динамика роста фибринового сгустка на нанопокртии непрерывно регистрируется с помощью видеосистемы и анализируется на компьютере, формирующем изображение по картине светорассеяния. На получаемой серии изображений хорошо видно, как меняются размеры, форма и плотность сгустка во времени (рис 3).

Исследования пространственной динамики свертывания крови были начаты нами около 15 лет назад. Впоследствии метод регистрации формирования фибринового сгустка по светорассеянию был успешно развит и позволил получить ряд важных результатов по регуляции процесса свертывания

С 2002 г. метод исследования пространственной динамики свертывания успешно применяется нами в клинике. Накопленный к настоящему времени солидный клинический материал на больных преимущественно гематологического профиля позволяет утверждать, что метод измерения пространственной динамики свертывания способен выявлять такие нарушения в плазменной системе гемостаза, которые недоступны для существующих ныне подходов и служит, как минимум, важным дополнением к существующим методам диагностики. Измеряя наиболее физиологические характеристики процесса свертывания, метод одинаково хорошо чувствителен как к состояниям с пониженной, так и с повышенной свертываемостью.

Например, метод исключительно чувствителен к гемофилиям А, В и С и позволяет получить важную информацию о причинах кровоточивости при этих заболеваниях. Основным принципом лечения больных гемофилией является проведение своевременной адекватной заместительной гемостатической терапии факторами свертывания VIII и IX, позволяющий восполнить дефицит фактора до необходимого уровня [Протоколы ведения больных: болезнь Виллебранда (ГОСТ Р 52600.1-2008) Гемофилия (ГОСТ Р 52600.3-2008). Москва: НЬЮДИАМЕД, 2009]. Такой подход требует

регулярного контроля состояния гемостаза с обязательным определением активности дефицитного фактора. Однако важно знать, не только какой уровень фактически достигается после введения концентрата фактора, но и как при этом меняется общий статус системы свертывания. Эта необходимость возникает, поскольку каждый пациент имеет индивидуальные особенности распределения и метаболизма факторов свертывания.

Исследование пространственной динамики свертывания плазмы крови больных гемофилией – единственный метод, который позволяет оценить общий гемостатический потенциал системы свертывания и рассчитать индивидуальную оптимальную дозировку и периодичность введения концентрата дефицитного фактора. На (рис 4) представлен пример исследования пространственной динамики свертывания у больного тяжелой формой гемофилии А при заместительной терапии фактором VIII.

Уникальность метода пространственной динамики заключается в высокой чувствительности к гиперкоагуляционным состояниям различного генеза. Он активно используется в отделении реанимации и интенсивной терапии Гематологического научного центра РАМН для мониторинга состояния системы свертывания крови при сепсисе и септическом шоке, позволяя отслеживать различные стадии ДВС синдрома и эффект проводимой лекарственной терапии, направленной на корректировку системы гемостаза. Метод высокочувствителен к гиперкоагуляционным состояниям, возникающим при химиотерапии онкологических заболеваний, при этом становится возможным назначение своевременной антикоагулянтной терапии для предотвращения возможного тромбоза. На (рис 5) приведены характерные примеры пространственного роста сгустка при гиперкоагуляционных состояниях, вызванных различными патологическими процессами.

(Рис 5) даёт более широкое представление о возможностях метода исследования пространственной динамики роста сгустка. Для каждого заболевания имеется «свой» рисунок, свой «пространственно-динамический портрет», характеризующий работу системы свертывания как в целом, так и на отдельных стадиях – активации, фазы роста сгустка и др. При этом компьютерный анализ способен «on line» указать на возможные механизмы выявленных нарушений.

Важно, что имеющиеся клинические данные позволяют утверждать, что метод пространственного роста сгустка способен не только эффективно фиксировать уже «состоявшиеся» нарушения, но и с высокой вероятностью указывать на возможность их возникновения, т.е. обладает колоссальным прогностическим потенциалом.

Именно это обстоятельство делает из весьма оригинальной и интересной отечественной разработки поистине уникальный наукоёмкий и

высокотехнологичный современный диагностический метод, без всяких скидок, мирового класса.

Перспективность и эффективность предлагаемого метода были высоко оценены и на государственном уровне. Проект, предполагающий разработку и широкое внедрение метода в клиническую практику, был поддержан Государственной Корпорацией «Роснано» (<http://www.rusnano.com/Post.aspx/Show/26227>). В рамках проекта были проведены многочисленные научные и технологические экспертизы (в том числе, международные, подтвердившие самый высокий класс разработок), сделаны исследования рынка, разработан план работ, проведена оценка интеллектуальной собственности.

Проект предусматривает создание опытного и серийного производства приборов и расходных материалов, проведение технических и клинических испытаний, сертификацию и лицензирование производства, организацию продажи и технической поддержки приборов, обучение специалистов, маркетинговые мероприятия – организацию выставок и конференций, издание специальной литературы и т.п. В проекте участвуют государственные научные институты и коммерческие предприятия.

В результате реализации проекта наша страна первой в мире получит возможность массовой ранней диагностики тромбофилий и других патологических состояний и заболеваний, сопряженных с нарушениями гемостаза.

Разработанный метод представляется перспективным в качестве диагностического подхода. Накопленный задел, отраженный в публикациях в ведущих отечественных и зарубежных журналах, позволяет предположить, что он как минимум не уступает лучшим существующим методам по своей способности определять нарушения свертывания и коррелировать с кровотечениями. Наши результаты указывают на его способность регистрировать не только антикоагулянтные, но и прокоагулянтные изменения в системе гемостаза. Аналогов предлагаемого метода не существует.

Разработанный прибор, основанный на этом методе, позволяет быстро и эффективно оценивать состояние системы гемостаза. Метод и прибор позволяют существенно повысить качество диагностики нарушений системы гемостаза и снизить смертность и уровень инвалидизации среди людей с нарушениями свертывающей системы крови, а также в случаях сепсиса, травмы, рака, тяжелых кровопотерь, любых существенных операционных вмешательств.

Ввиду острой социальной значимости диагностики состояний, угрожаемых по тромбозам, представляется целесообразным проводить

активную профилактическую диагностику всем лицам, страдающим ССЗ, со склонностью к развитию тромботических состояний.

Такой «скрининговый» подход является самым современным и эффективным методом снижения смертности от соответствующих заболеваний. Например в Японии, где самая высокая в мире заболеваемость раком желудка, ввели обязательную ежегодную эндоскопию для лиц пожилого возраста (например, <http://medvestnik.ru/archive/2008/34/1724.html>). По истечении нескольких лет в этой стране – при самой высокой в мире заболеваемости самая низкая в мире смертность от рака желудка. В Великобритании, где каждый год от тромбозов умирает 25 тыс. пациентов, уже вводится программа обязательного обследования на предмет выявления тромбозов вен нижних конечностей для всех пациентов, поступающих в стационары (<http://news.bbc.co.uk/2/hi/health/8480656.stm>).

В связи с острейшей социальной и экономической значимостью проблемы для нашей страны, с учетом опыта других стран, а также возможностью применения и широкого внедрения самых современных диагностических и лечебных технологий в практическую медицину, мы полагаем целесообразным формирование Федеральной целевой программы «Тромбозы и гиперкоагуляционные состояния: профилактика, диагностика, лечение».

Введение такой Федеральной целевой программы в нашей стране с использованием уникального диагностического опыта российских специалистов даст возможность переломить негативный тренд статистики смертности от ССЗ в России, значительно продлить среднюю

продолжительность жизни и увеличить долю трудоспособного населения.

Таблица 1. Показатели смертности населения по основным классам причин смерти

	Тыс. человек				Доля (%) в общем числе умерших			
	1995г.	2000г.	2005г.	2007г.	1995г.	2000г.	2005г.	2007г.
Всего умерших	2203,8	2225,3	2303,9	2080,4	100	100	100	100
в том числе от:								
болезней системы кровообращения	1163,5	1231,4	1299,5	1185,2	52,8	55,3	56,4	57,0
новообразований	298,7	297,9	287,9	288,6	13,6	13,4	12,5	13,9
внешних причин смерти	348,5	318,7	315,9	259,4	15,8	14,3	13,7	12,5
болезней органов дыхания	108,8	102,1	94,7	77,9	4,9	4,6	4,1	3,7
болезней органов пищеварения	67,8	64,7	93,8	87,7	3,1	2,9	4,1	4,2
некоторых инфекционных и паразитарных болезней	30,5	36,2	39,0	34,4	1,4	1,6	1,7	1,7
прочих болезней	186,0	174,3	173,1	147,2	8,4	7,9	7,5	7,0

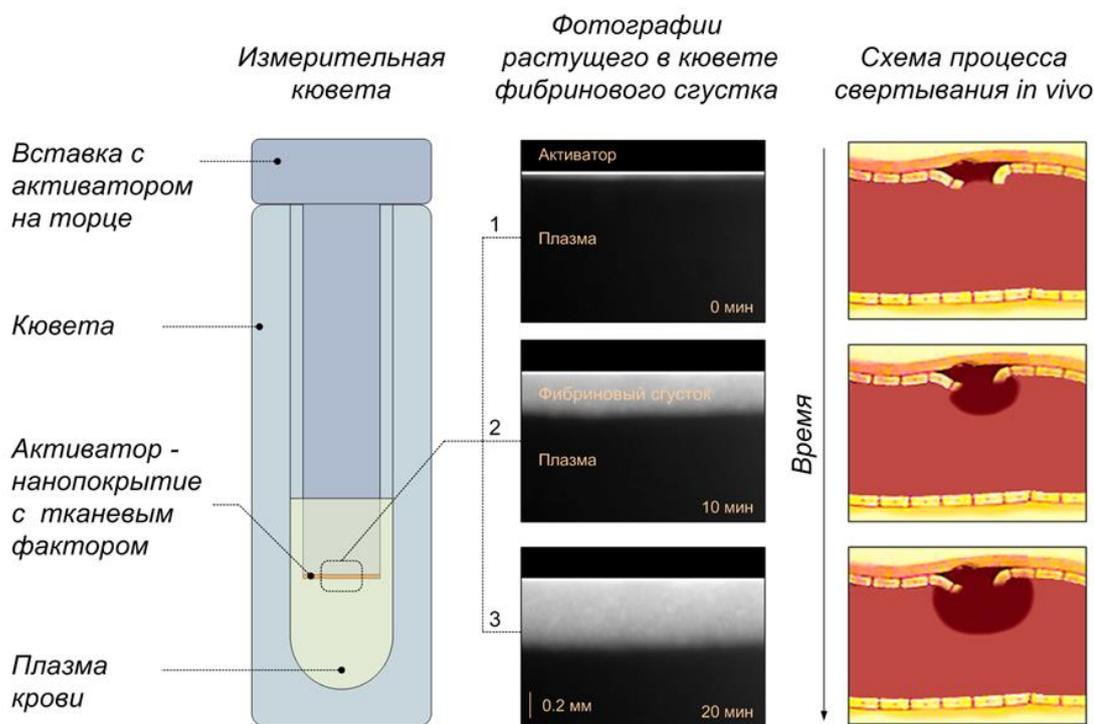


Рисунок 1

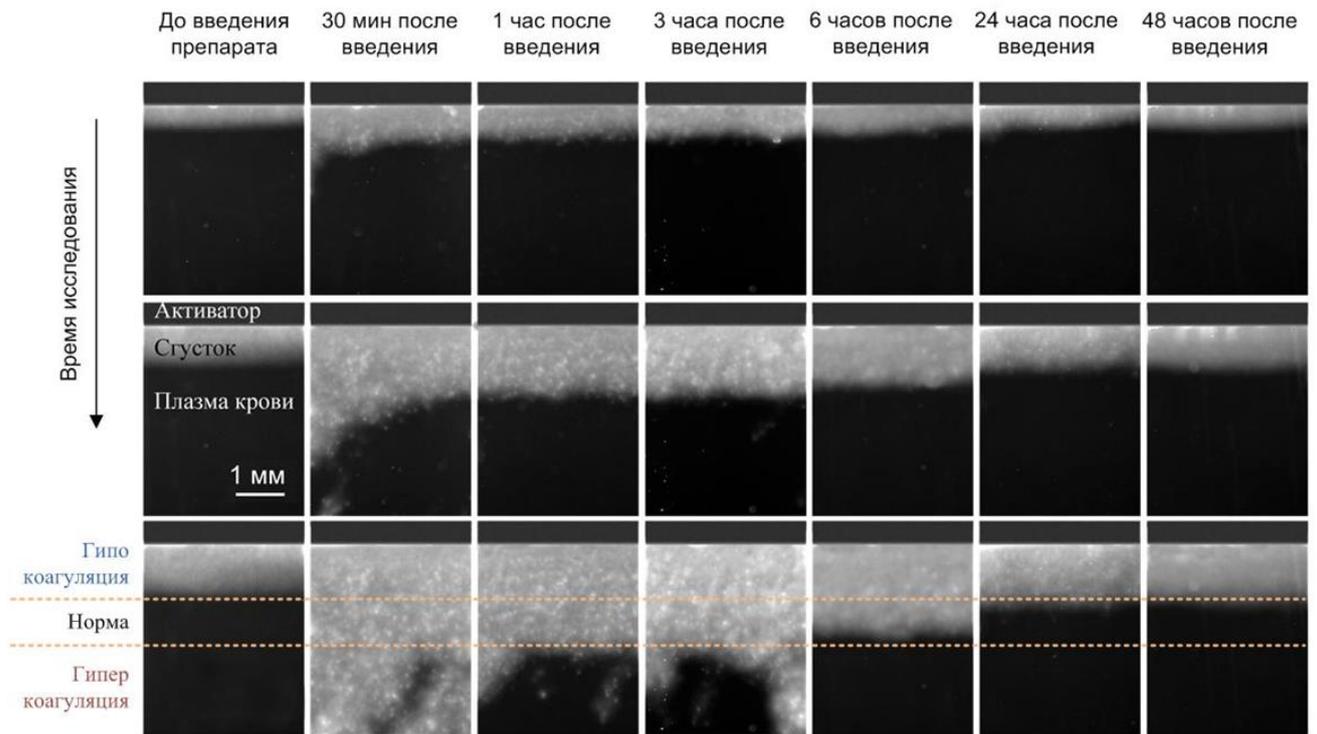


Рисунок 2

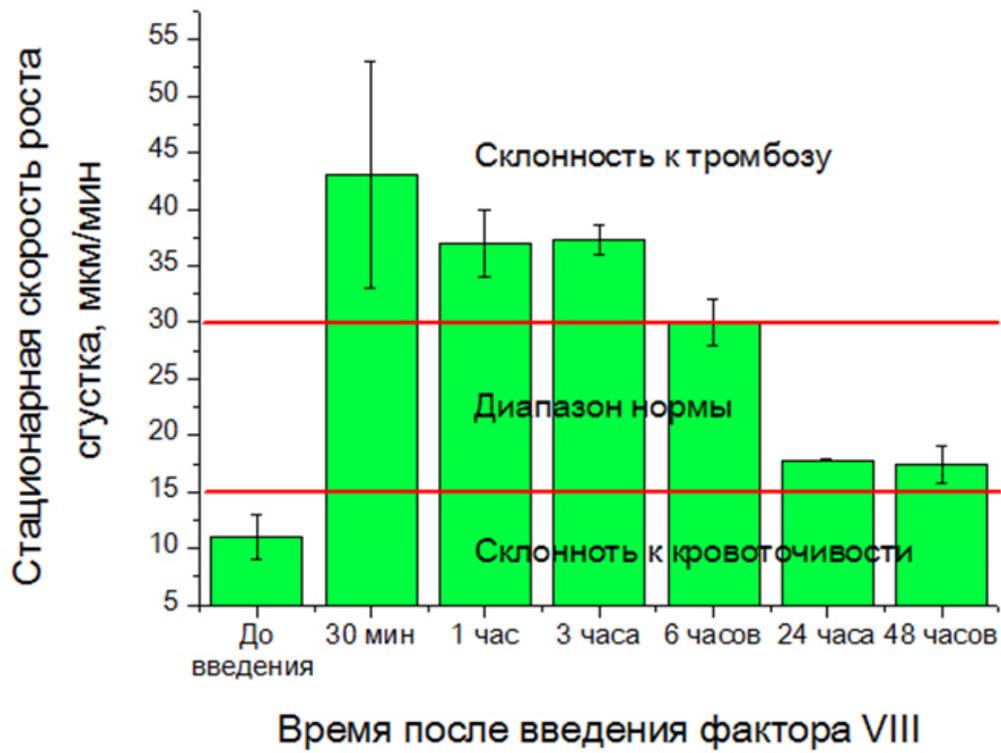


Рисунок 3



Рисунок 4

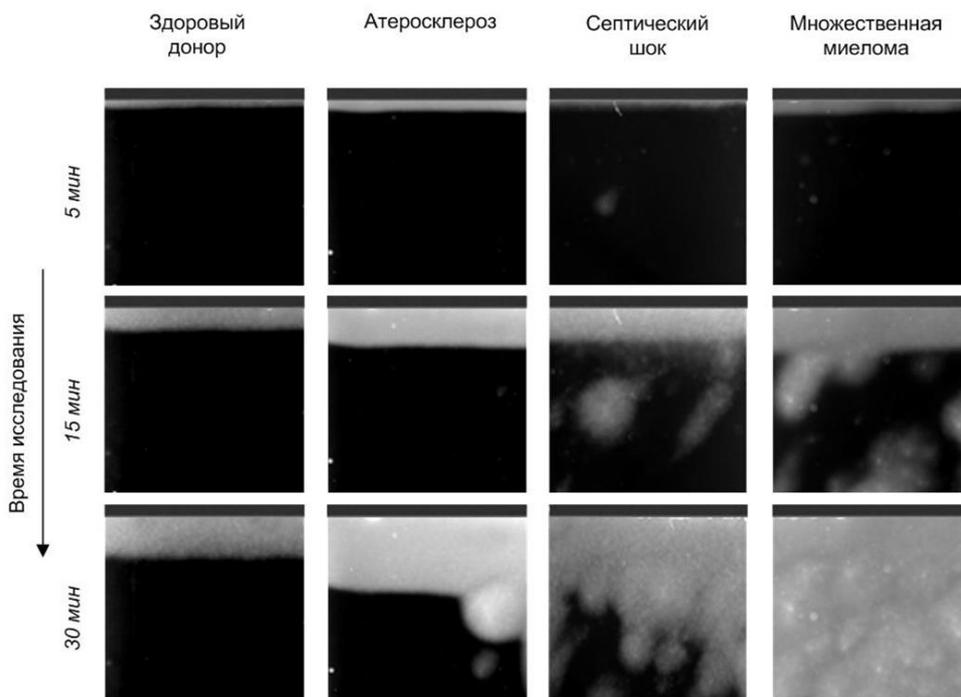


Рисунок 5

МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТ-ЛИГАНДНОГО КОМПЛЕКСА У ВХОДА В КАНАЛ, ВЕДУЩИЙ В АКТИВНЫЙ ЦЕНТР АХЭ

Аюпов Рустам Хасанович

Научные руководители: Акберова Н.И. к.б.н. доцент, Тарасов Д.С. к.б.н.

Введение

Молекулярное моделирование используется для предсказания поведения молекул относительно друг друга. В данной работе моделируется взаимодействие ацетилхолинэстеразы (АХЭ) и лиганда из класса производных пиридоксина. Предполагается, что лиганд ингибирует действие фермента посредством образования ковалентной связи с аминокислотным остатком Ser203 [1]. В предыдущих исследованиях [2] было показано, что в активном центре фермента лиганд нековалентно взаимодействует с АХЭ, при этом не исключается и ковалентное взаимодействие. Так же была показана роль окружения каталитической триады активного центра фермента во взаимодействии с лигандом [3]. В настоящем исследовании выясняется вопрос взаимодействия лиганда с аминокислотными остатками, находящимися у входа в канал, ведущий в активный центр АХЭ.

Объекты и методы

В работе использовали структуру АХЭ - 2JEY, полученную из Protein Data Bank (PDB). Структура была очищена от молекул не белкового происхождения (молекулы, которые способствовали кристаллизации фермента) с помощью программы VMD.

Модель структуры лиганда была построена с помощью программы Avogadro и оптимизирована в программном пакете PC GAMESS (Fire fly). Первоначальное положение лиганда у входа в канал активного центра было получено с помощью программы AutoDock.

Динамика фермент-лигандного комплекса проводилась в программе NAMD 2.8 с использованием силового поля Amber 99.

Получение топологии молекулы

Топология молекулы — это набор определенных параметров (углы, длины связи, заряды), характерных для конкретной структуры, состоящей из определенных атомов и групп атомов. Данная процедура проводилась в AMBER 99.

Основные этапы работы в Amber99:

– работа со структурой белка

- работа со структурой лиганда и его помещение в структуру белка
- добавление молекул воды в окружение белка

Условия динамики

Динамика проводилась с использованием периодических граничных условий, шаг интегрирования 2 фс, температура моделируемой системы 300 К. Запись траектории проводилась в течение 2 нс на каждом 800 шаге динамики. Размер ячейки составил 105*75*150 ангстрем. Перед динамикой структура комплекса была минимизирована методом градиентного спуска в течение 200 шагов. Порог отрезания потенциала равен 10 ангстрем. Связи с атомами водорода были зафиксированы, что вело к сокращению времени динамики. Статические взаимодействия между периодическими образами рассчитывались методом суммации Эвальда (PME).

Результаты и обсуждение

Первоначальное положение лиганда (рис.1.1) на поверхности фермента около входа в канал активного центра, полученное в ходе докинга, показывает наличие стэкинг взаимодействия с аминокислотным остатком Trp286. Такая позиция лиганда энергетически выгодна, но его ориентация не способствует прохождению в канал активного центра. Тем не менее координаты атомов лиганда в этой позиции были выбраны как начальные для проведения динамики, чтобы выяснить - сможет ли лиганд удержаться в этом положении или его положение изменится.

Результаты динамики показали, что первоначальное положение лиганда нестабильно (рис.1.2,1.3). В ходе межмолекулярного взаимодействия происходит расхождение (отталкивание) лиганда и бокового радикала аминокислотного остатка Trp86. При этом видимого перемещения лиганда к каналу активного центра не происходит.

Анализируя полученные в ходе динамики результаты, надо исходить из результатов докинга. Если структура лиганда при докинге будет расположена близко к входу в канал, то она может образовать связи с аминокислотными остатками, служащими "воротами" канала. При этом возможно два варианта ориентации структуры лиганда, выгодной для проникновения в канал. Первый, ориентация лиганда должна быть такой, чтобы его карбамоилированный радикал был направлен в сторону канала. В этом случае лиганду не надо разворачиваться внутри канала или полости

активного центра, чтобы провзаимодействовать с аминокислотным остатком Ser203. Второй вариант, молекула должна быть ориентирована противоположно, то есть карбамоилированный радикал должен быть ориентирован «от канала». В этом случае, ароматические аминокислоты канала будут взаимодействовать с ароматическим кольцом лиганда, «помогая» ему проходить канал.

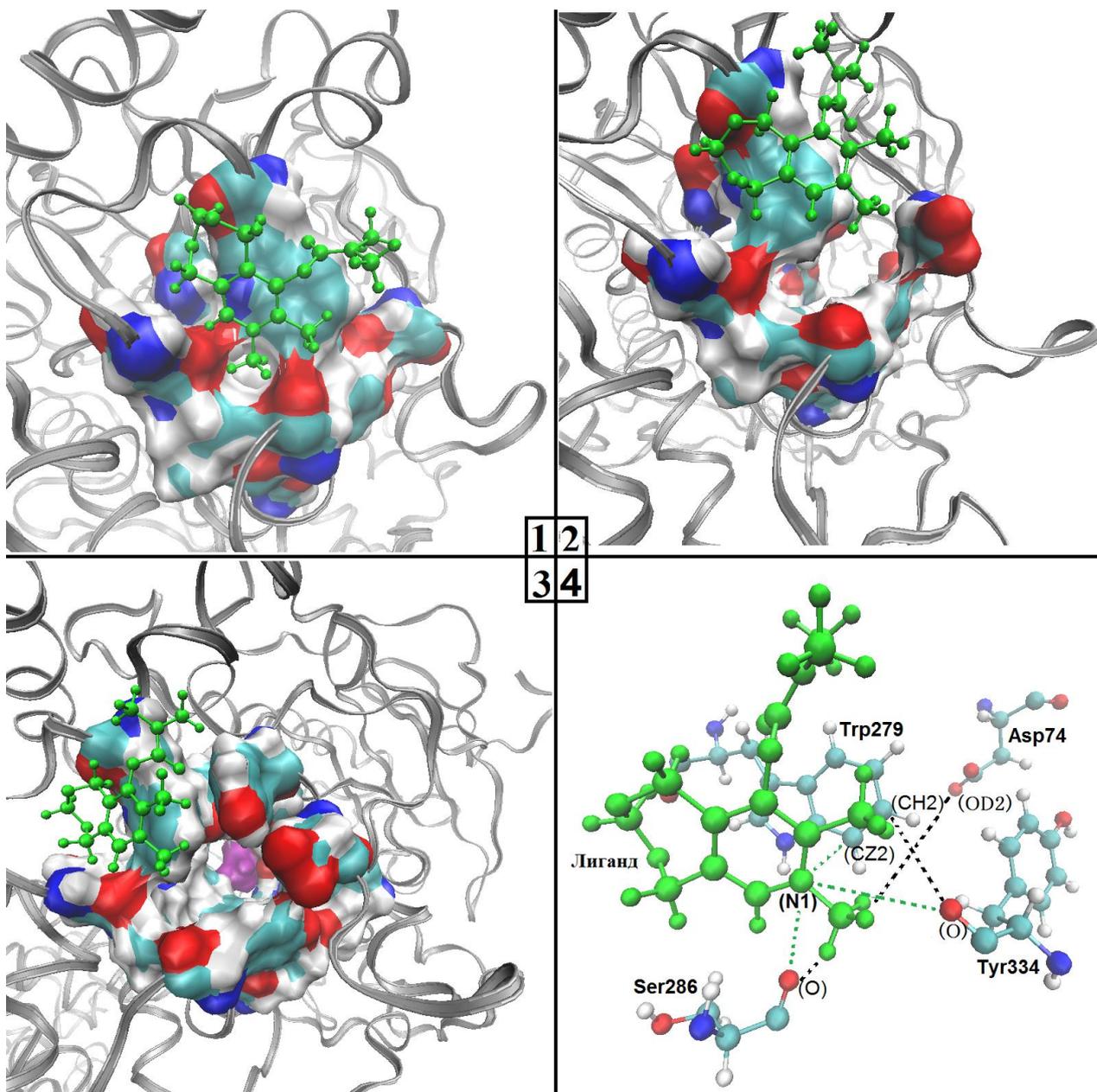


Рис. 1 Молекулярная динамика фермент-лигандного комплекса.

1.1 – первоначальное положение лиганда (обозначен зелеными шарами) относительно фермента (весь белок показан в виде спиралей серого цвета, аминокислотные остатки канала и активного центра показаны в виде поверхности) при закрытом канале; 1.2 – положение лиганда при открытом канале; 1.3 – взгляд внутрь канала (светло-фиолетовым обозначен аминокислотный остаток Ser203); 1.4 – аминокислотные остатки - «ворота» канала в активный центр и лиганд (черные пунктирные линии — между атомами образующими «ворота», зеленые пунктирные линии — между атомом азота лиганда и реперными точками для анализа передвижения лиганда в динамике).

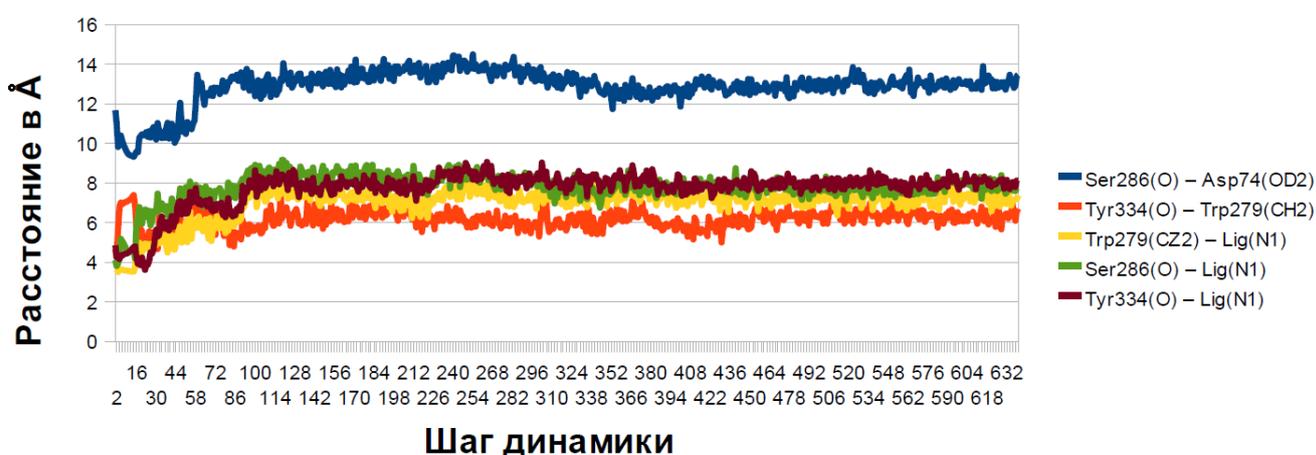


Рис.2 Изменение расстояний между атомами в ходе динамики

На рис.2 показана динамика изменения расстояний между атомами. Если пренебречь первыми 50 шагами динамики, то видим, что расстояния колеблются максимум в диапазоне 2 ангстрем. Синим и оранжевым линиями показаны изменения между атомами смыкающими «ворота» канала (на рис.1.4 — черные пунктирные линии). Наибольшее расстояние между атомами аминокислот Ser286(O) – Asp74(OD2) и составляет 14,49 Å (ангстрем), в среднем 12,89 Å. Расстояние между Tyr334(O) – Trp279(CH2) достигает 7,55 Å, в среднем 6,18 Å. Для анализа изменения положения лиганда были взяты реперные точки (рис.1.4 — зеленые пунктирные линии, рис.2 — желтые, зеленые, коричневые линии) атомы аминокислотных остатков «ворот» канала и атом азота лиганда (N1). В ходе динамике, после стабилизации структур, лиганд(N1) не значительно приблизился к Trp289(CZ2) с 8 до 7 Å в среднем, а максимально до 6,2 Å; по отношению к точкам Ser286(O) и Tyr334(O) он показал соответствующие значения: начальное 8,9 Å и 8,6 Å, среднее 7,8 Å и 7,7 Å, максимально отделился на 9,17 Å и 9,06 Å, максимально приблизился на 6,7 Å и 7,1 Å. Колебания «ворот» Ser286(O) – Asp74(OD2) x Tyr334(O) – Trp279(CH2) в среднем составило 12,89 x 6,18 Å, максимальное значение в определенный момент

13,89 x 7,18 Å. Стоит отметить, что при проведении динамики без лиганда у входа в канал параметры «ворот» максимально колебались в пределах 8,95×10,48 Å, параметры лиганда при этом составляют 8,36 × 9,02 Å.

Заключение

Проведенное исследование показало, что положение лиганда на поверхности фермента в ходе динамики полностью зависит от выбранного положения лиганда в ходе докинга. Анализ динамики подтвердил возможность проникновения лиганда в канал активного центра. Однако, для проведения соответствующего удачного эксперимента, нужно будет подобрать начальное выгодное положение лиганда.

Литература

1. Стрельник, А. Д. Диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук. Синтез и биологическая активность некоторых производных пиридоксина. Казань. 2010 год. 128 с.
2. Аюпов, Р.Х., Акберова Н.И., Тарасов Д.С.. Докинг производных пиридоксина в активном центре холинэстераз. // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. Науки – 2011. – Т. 153, кн. 3. – С. 107-118.
3. Аюпов, Р.Х., Акберова Н.И., Тарасов Д.С. Взаимодействие производного пиридоксина с активным центром ацетилхолинэстеразы // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки - 2012.- Т. 154, кн. 2. – С. 234-246.

СИСТЕМА «ТКАНЕВОЙ АКТИВАТОР ПЛАЗМИНОГЕНА - ИНГИБИТОР АКТИВАТОРОВ ПЛАЗМИНОГЕНА 1 ТИПА» ПРИ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКЕ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ

Байгильдина А.А.

ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет»
Минздрава России

Вирус-ассоциированные активация и повреждение эндотелия resultируются в ослаблении его антикоагулянтной активности, усилении прокоагулянтных свойств и активации системы фибринолиза. Эндотелий вовлекается в регуляцию фибринолиза путем продукции тканевого активатора плазминогена (ТАП) и ингибитора активаторов плазминогена 1 типа (ИАП-1). Целью исследования явилось изучение содержания ТАП и ИАП-1 в плазме крови больных при заболевании хантавирусной этиологии - геморрагической лихорадке с почечным синдромом (ГЛПС) в зависимости от

периода и тяжести ее течения и оценка роли этих регуляторов фибринолиза в патогенезе болезни. В динамическое наблюдение включены 109 больных (91 мужчин и 18 женщин) с серологически подтвержденным диагнозом ГЛПС в возрасте 37,4 [26,8; 53,3] лет. Критерием исключения из исследования явилось наличие в анамнезе болезней сердца и сосудов, злокачественных и эндокринных заболеваний, заболеваний печени и почек. Концентрацию антигенов ТАП и ИАП-1 в плазме крови определяли методом ИФА с использованием тест-систем компании «Technoclone» (Австрия) и выражали в нг/мл. Статистическую обработку результатов исследования провели с использованием методов непараметрической статистики и соответствующего программного обеспечения (Statistica 7.0, StatSoft, Inc., 2004). Концентрация ТАП и ИАП-1 в крови больных при среднетяжелом и тяжелом неосложненном течении ГЛПС статистически значимо высокая в лихорадочный период и статистически значимо низкая в остальные периоды болезни, а при тяжелой осложненной форме - статистически значимо ниже контроля на всем ее протяжении. Корреляционная связь между ними статистически незначимая отрицательная. Величина соотношения ТАП/ИАП-1 статистически значимо высока в лихорадочный период при среднетяжелом и тяжелом неосложненном течении болезни, снижается к периодам олигурии и полиурии и вновь становится статистически значимо высокой к периоду восстановленного диуреза. При тяжелой осложненной форме ГЛПС значение этого индекса статистически значимо низкое на всем протяжении заболевания. Выявленные сдвиги в уровне ТАП и ИАП-1 в крови больных в динамике ГЛПС различной степени тяжести свидетельствуют о развитии гемостатической формы дисфункции эндотелия. Сохранение отрицательной корреляции между ними практически на всем протяжении болезни можно считать тенденцией к сохранению определенного баланса в функционировании системы ТАП – ИАП-1. Низкие значения соотношения ТАП/ИАП-1, особенно выраженные при осложненной форме ГЛПС, отражают, по видимому, тенденцию к ослаблению активности процессов фибринолиза при этом заболевании.

МЕТАБОЛИТЫ НЕЙРОНОВ И ТИРОЦИТОВ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ ПРЕДВЕСТНИКИ СТАРЕНИЯ

Балуева М.В., Молостова О.О., Гаврилов И.В.

Научный руководитель д.м.н., профессор В. Н. Мещанинов

ГБОУ ВПО Уральский государственный медицинский университет
Минздрава России,

СО ГБУЗ «Институт медицинских клеточных технологий»,

г. Екатеринбург, Россия

Усовершенствовать существующие омолаживающие технологии, возможно, удастся при сочетании общесоматических воздействий с воздействиями на клеточном уровне, предотвращая угасание функций отдельных высокоспециализированных клеток организма человека.

Целью работы являлось обнаружить биохимические предикторы старения высокоспециализированных клеток нервной и эндокринной систем организма человека в периферической крови. В качестве потенциальных предикторов старения рассматривались: тиреотропный гормон (ТТГ), трийодтиронин (Т3), тироксин (Т4), белок S-100 и нейротрофический фактор мозга (БДНФ).

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 92 пациента, которые были разделены на 2 группы. Первую группу составили 73 человека зрелого возраста (средний возраст 41 год), вторую группу – 19 человек пожилого возраста (средний возраст 62 года). Иммуноферментный анализ крови проводили на (Chem Well, Awareness Technologies, США) наборами реагентов «R&D»(Англия). Скорость процессов старения оценивалась по биологическому возрасту (БВ) (Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2012613817, программа для ЭВМ "BIOAGE Polinom"). Статобработка проведена в программе Statistic 6.0.

Результаты. Обнаружена значительная отрицательная корреляционная взаимосвязь между БВ и уровнем Т4 ($r = -0,658$), высокая положительная корреляция между биовозрастом и уровнем Т3, ($r = 0,829$, $p < 0,05$), что свидетельствует о пониженном производстве гормонально активными клетками щитовидной железы полноценного тироксина и заместительном усилении синтеза менее эффективного трийодтиронина. При этом секреция ТТГ оставалась на уровне пациентов зрелого возраста. Наблюдалась отрицательная умеренно выраженная корреляционная взаимосвязь между биовозрастом и содержанием в крови белка S-100 ($r = -0,31$, $p < 0,05$). Календарный возраст и БДНФ при этом не дали значимых и (или) достоверных корреляционных показателей с изучаемыми потенциальными предикторами старения.

Заключение. Обнаруженный клеточно-метаболический дисбаланс в системе эндокриноцитов и нейроцитов, вероятно, будет способствовать развитию исследования и контроля за адресными целенаправленными геропротекторными воздействиями на отдельные виды клеток стареющего организма.

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ЦИТОКИНОВ И АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТНОГО ЗВЕНА АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В

РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА С НОРМАЛЬНЫМ И НАРУШЕННЫМ УГЛЕВОДНЫМ ОБМЕНОМ

Басов А.А., Мелконян К.И., Литвинова М.Г., Быкова Н.И.

Научный руководитель: Быков И.М., доктор медицинских наук, профессор.

ГБОУ ВПО "Кубанский государственный медицинский университет"

Минздрава России (г. Краснодар).

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) сопровождается развитием дисбаланса в работе иммунного и антиоксидантного звеньев локальной системы неспецифической защиты, приводя к генерализованной пародонтопатии, особенно при сочетанной сердечно-сосудистой патологии.

Целью настоящей работы была оценка функционирования ферментов антирадикальной (ФАРЗ) и факторов гуморальной защиты в ротовой жидкости (РЖ) при ИБС нормальным и нарушенным углеводным обменом.

Объектом исследования была РЖ пациентов с ИБС с нормальным (группа 2, n=25) и нарушенным (группа 3, n=25) углеводным обменом, полученные результаты сравнивали с контрольной группой 1 (n=25). Определение активности каталазы (КАТ) проводили по методу (Beers R., Sizer I., 1952), активность СОД измеряли по методу (Костюк А.В. и др., 1990). Определение провоспалительных (интерлейкина 8 (ИЛ8) и ИЛ2) и противовоспалительных (ИЛ10, ИЛ4) цитокинов в РЖ проводили по методике (Mancini G. et al., 1965), провоспалительный индекс (ПВИ) определяли по соотношению суммы концентраций (ИЛ8+ИЛ2) к сумме (ИЛ10+ИЛ4) в условных единицах (усл. ед.). Корреляционные взаимосвязи оценивали с помощью коэффициент Пирсона (r).

Было установлено, что в группе 3 происходило повышение ПВИ на 152,4%, который составил $13,48 \pm 1,52$ усл.ед. ($p < 0,05$). В группе 2 было получено еще большее значение показателя ПВИ – $74,03 \pm 3,28$ усл.ед. ($p < 0,05$), что связано с увеличением продукции провоспалительного ИЛ-8 и снижением противовоспалительных ИЛ10 и ИЛ4. Более высокий уровень провоспалительных цитокинов при ИБС в РЖ может быть обусловлен тем, что цитокины, локально продуцируются клетками в атеросклеротических бляшках, а затем рекретируются слюнными железами в ротовую полость. При оценке активности КАТ установлено, что в группах 2 и 3 наблюдается ее снижение в РЖ на 22,3% и 49,7% соответственно ($p < 0,05$), при этом активность СОД уменьшалась на 31,6% и 47,8% соответственно ($p < 0,05$), что указывает на меньшую устойчивость 1-й и 2-й линий ФАРЗ при нарушениях углеводного обмена. Выявлена обратная корреляционная взаимосвязь между показателями активности ФАРЗ и содержанием провоспалительных цитокинов в РЖ: $r_{\text{ПВИ}/(\text{СОД, КАТ})} = -0,40^*$, $-0,17$ соответственно (*- $p < 0,05$).

Таким образом, при ИБС с нарушенным углеводным обменом показана целесообразность назначения не только иммуномодуляторов, но и местных препаратов с антиоксидантной направленностью, позволяющих

уменьшить интенсивность свободнорадикальных процессов в ротовой полости.

УЧАСТИЕ ИНВЕРТАЗЫ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ В ИНГИБИРОВАНИИ ТРАНСПОРТА ФОТОАССИМИЛЯТОВ В УСЛОВИЯХ ПОВЫШЕННОГО НИТРАТНОГО ПИТАНИЯ РАСТЕНИЙ

Баташева С.Н., Бакирова Г.Г., Салыхова Г.А., Хамидуллина Л.А., Шамова Л.И., Чиков В.И.

ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН

Известно, что высокая концентрация нитратов может приводить к ингибированию оттока ассимилятов из надземной части растения к корням. Усиление гидролиза сахарозы, основного транспортного продукта фотосинтеза у большинства видов растений, в апопласте под действием нитратов указывает на возможную активацию инвертазы клеточной стенки в этих условиях. В настоящей работе исследовали фотосинтез и транспорт ассимилятов в растениях томата (*Solanum lycopersicum* L.), у которых экспрессия генов апопластных инвертаз Lin 6 и Lin 8 в листьях была подавлена с помощью РНК-интерференции (Lin 6/8-растения), в условиях повышенного нитратного питания. Семена трансгенных растений были любезно предоставлены Dr. S. Sonnewald (Friedrich-Alexander Universität Erlangen-Nürnberg). Концевую листовую пластинку экспонировали в $^{14}\text{CO}_2$ в течение 3 мин на следующий день после полива растений раствором KNO_3 ; спустя 7ч после экспонирования анализировали распределение ^{14}C по растению. В контроле трансформированные растения и растения дикого типа практически не различались по распределению ^{14}C по растению, однако полив растений раствором KNO_3 по-разному отразился на транспорте продуктов фотосинтеза в этих двух типах растений. У Lin 6/8-растений в ответ на полив нитратом увеличилось поступление метки в верхнюю часть растения, в то время как у растений дикого типа - снизилось. При этом у Lin 6/8-растений повышалось относительное содержание ^{14}C во всех листьях (оставшихся листовых пластинках листа-донора, листьях выше и ниже листа-донора), в то время как у растений дикого типа содержание ^{14}C в этих органах снижалось в ответ на нитратную подкормку. Ингибирование оттока у Lin 6/8 в ответ на полив нитратом не было таким выраженным, как у дикого типа.

Одним из механизмов активации инвертазы при повышении нитратного питания может быть связывание оксида азота в активном центре фермента, так как активный центр инвертазы содержит SH-группы, которые являются потенциальными мишенями связывания оксида азота, и S-нитрозилированные белки были обнаружены в растениях. Источником оксида азота может быть поступающий в растение нитрат.

Было проведено молекулярное моделирование взаимодействия S-нитрозилированной инвертазы клеточной стенки (по Cys-204) с сахарозой (в пакете биомолекулярного моделирования GROMACS 4.3.5.). Увеличение энергии взаимодействия с сахарозой на 10 ккал/моль в фермент-субстратном комплексе, содержащем нитрозилированную инвертазу, может указывать на большее сродство модифицированного таким образом фермента к субстрату.

Работа поддержана грантом РФФИ 12-04-31677

АКТИВНОСТЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ В СУБКЛЕТОЧНЫХ ФРАКЦИЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА И ПЕЧЕНИ КРЫС В ХОДЕ РАННЕГО ПОСТНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ

Бахтюков А.А., Галкина О.В., Ещенко Н.Д.

Научный руководитель: Галкина О.В., к.б.н., доцент по спец.

Кафедра Биохимии Санкт-Петербургского Государственного Университета

Последние исследования показывают участие активных форм кислорода в процессах роста и развития нервной системы, включая выживание и пластичность нейронов, пролиферацию нейрональных предшественников, а также их дифференциацию в специфические нейрональные клетки. С другой стороны хорошо известна неустойчивость головного мозга к окислительному стрессу в эмбриональный и ранний постнатальный период, которая объясняется достаточно высокими концентрациями ионов железа, недостаточно развитой по сравнению со взрослым мозгом антиоксидантной системой (АОС) и, по некоторым данным, несоответствием экспрессии основных ферментов АОС. Одним из ключевых ферментов АОС является супероксиддисмутаза (СОД), которая катализирует превращение супероксиданион-радикала до перекиси водорода. Активность этого фермента имеет решающее значение для адаптации организма к относительно высокой кислородной среде сразу после рождения.

В связи с этим целью данной работы было изучение активности СОД в субклеточных фракциях головного мозга и печени крыс в ходе раннего постнатального развития. В экспериментах были использованы крысы линии Wistar трех возрастных групп: 10-, 20- и 30-дневные животные. Было показано, что общая активность СОД в печени выше, чем в головном мозге,

особенно в первые 20 дней жизни. В обоих исследованных органах основная доля активности фермента приходится на цитоплазматическую фракцию. В тоже время в отличие от печени, где активность СОД мало изменяется с возрастом, в мозге она постепенно увеличивается за весь исследованный период постнатальной жизни. В ходе раннего постнатального развития головного мозга изменяется соотношение активности фермента в исследованных фракциях. Так, в 10-дневном возрасте основная активность приходится на цитоплазматическую фракцию, где она в 2 раза больше, чем во фракции митохондрий, к 20 дням эта разница снижается до 1,5 раз и нивелируется у 30-дневных животных. Минимальная доля активности СОД во фракции миелина приходится на период интенсивной миелинизации (20-й день), а в синаптосомальной фракции – на 30-й день постнатальной жизни.

Таким образом, изменения активности СОД тесно связаны с процессами, протекающими в период формирования головного мозга.

БЕЗОПАСНО-БЕСКОНФЛИКТНОЕ РАЗВИТИЕ ПРИКЛАДНОЙ НАПРАВЛЕННОСТИ НАУК ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ НАДЛЕЖАЩЕГО КАЧЕСТВА БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ НОВОВВЕДЕНИЙ

Абрамова З.И., Алимова Ф.К., Барсуков А.К., Боталова И.А., Бохан А.Н., Желтышев Е.Н., Зарубаев В.В., Кожевникова О.В., Кузнецов А.И., Макарова Е.А., Минаева Е.В., Нестерова О.Ю., Полещук Л.Ф., Решетников С.М., Слита А.В., Тойдорова А.А., Шарафуллин Х.Х., Шульц В.Л.

Казанский (Приволжский) государственный университет,

Удмуртский государственный университет, НПО «Завод Экобиопрепарат»,

НИИ гриппа Министерства здравоохранения РФ

Центр исследования проблем безопасности Российской академии наук

В последнее время появился термин фундаментальная биотехнология, однако фундаментальной наукой биотехнология быть не может. В лексически точной формулировке биотехнология – междисциплинарная область знаний, нацеленная на изучение возможности создания технологий производства «товаров-продукции-изделий» на основе использования биологических процессов в промышленных целях. Совершенно иной вопрос касается достижений экспериментальной физики, физико-химии наносистем и биоинформатики, которые в их единстве позволяют получать результаты фундаментальных исследований, формирующие теоретические воззрения в области биологических наук. При этом лавинообразное нарастание фактологической информации молекулярно-биологического характера оценивается как уникальный вызов, обусловленный возникновением

возможности создания новых генетических программ. Гуманитарные термины «инновационная экономика», «инновационное развитие» и т.д. именно в биотехнологии предполагают реализацию совокупности неопределенностей, свойственных современному развитию сопряженных фундаментальных наук. В эпоху постгеномных технологий исследователи-биологи уже не ограничиваются изучением жизни как конечного продукта эволюции, длившейся не один день. Благодаря новым исследовательским технологиям возможно вносить изменения в главные элементы биологических «чертежей» и, тем самым, создавать варианты живых систем, которые не могли появиться естественным путем. Умение манипулировать огромными фрагментами ДНК может со временем привести или к глубочайшему перевороту в биологии, или к глобальной катастрофе биосферно-экологического характера. При этом достаточно общая информация хозяйственного характера – экономика в современных условиях отказывается чувствовать жизнь и тем более воспринимать обобщенное методологическое знание. Бессодержательный смысл гуманитарной составляющей общей нам всем культуры тиражирует мнение об «ином времени бытия». Инобытие заключается в том, что темпы достижений научно-технического прогресса существенным образом обгоняют нравственно обусловленное развитие человечества. При этом в «ином времени» действует все тот же принцип структурирования научного потенциала в рамках целей и задач обеспечения конструкторско-технологических нововведений в производство материально-вещественного в соответствии с целесообразностью экономического развития. Напомним, что исходно (и традиционно) планируются и выполняются фундаментальные исследования, результаты которых необходимы разработчикам для восполнения теоретических знаний с целью формирования наиболее общих представлений, нацеленных на создание новых «товаров-продукции-изделий». Избыточность результатов фундаментальных исследований позволяет прикладному сектору науки в общих чертах определить параметры технологических нововведений, которые приобретают конкретику на стадии научно-технических разработок и производства экспериментальных серий. Особенности управления современными макротехнологиями имеют общезримое своеобразие. Дело в том, что с 50-х годов прошлого века проблематика качества наукоемких «товаров-продукции-изделий» относится к фундаментальным задачам-исследованиям, результаты которых подлежат осмыслению в прикладном секторе науки и далее продолжаются в научно-технических разработках. Именно так процесс обеспечения постоянства конструкторско-технологических нововведений производственного характера приобрел термин «инновационно-технологического цикла». От фундаментальных исследований к производству «самого лучшего» и далее проблематика качества «самого лучшего» фиксирует задачи фундаментального характера. Таким образом, уровень качества «товаров-продукции-изделий» управленчески замкнут на планирование и выполнение

фундаментальных исследований, ориентированных на экономику межотраслевого наукоемкого комплекса национального или транснационального масштаба.

В недалеком прошлом высокочатратный уровень развития «науки-техники-технологий-производства», свойственный биотехнологическим нововведениям, науковедческая литература рассматривала как механизм реанимации застойной экономики Запада. До настоящего времени биотехнологию, опирающуюся на методы генной инженерии и сопряженное производство моноклональных антител, оценивают как одну из ключевых составляющих мировой экономики. Однако, в области фармацевтической биотехнологии дело обстоит совсем не так, как это прогнозировали в 70-х годах прошлого века до организации серийного производства идеальных биопрепаратов на основе рекомбинантных белков. Именно с момента организации в 81-82 годах 20 века серийного выпуска самого первого генно-инженерного биопрепарата (инсулина) начала формироваться экспериментальная фактология научно-практического характера, согласно которой рекомбинантные (идеальные) биопрепараты обладают нежелательными реактогенными свойствами. Обращаем внимание на самое главное. Если есть серийное (крупномасштабное и наукоемкое) производство идеальных «товаров-продукции-изделий», то есть и надлежащий уровень научно-практической экспертизы, негативные результаты которой в качестве фундаментальных задач фиксирует академический сектор науки. Так, например, результаты 30-летней и широкомасштабной экспертизы свидетельствуют, что «идеальные» рекомбинантные белки в составе фармацевтических биопрепаратов индуцируют нежелательные иммунные реакции. Совершенствование качества «рекомбинантных биопрепаратов» с 1983 года рассматривается на уровне фундаментальных проблем конформационной организации белковых макромолекул. В частности, предлагается сконцентрировать усилия на расшифровке механизмов фолдинга или формировании конформационных секвенационных антигенных детерминант, или образовании белковых ассоциатов, или изучении процессов транскрипции в химерных штаммах-продуцентах. Как исключение, в рамках теоретических воззрений фиксируются прикладные задачи, касающиеся изучения модифицирующего влияния условий технологических стадий и техпроцесса в целом на качество конечной продукции.

Остается добавить, что биотехнологические нововведения генерируются достижениями фундаментальных исследований. Прикладная направленность биотехнологии не в состоянии дать ответы на вызовы фундаментального естествознания. Если успехи биологических наук и биотехнологии сами по себе стали уникальным вызовом жизнеустройству человечества, то дело не в естествознании, но в качестве гуманитарной

составляющей культуры и культуры обработки обобщенной информации хозяйственного характера.

НЕОПРЕДЕЛЁННОСТИ ТЕОРЕТИЧЕСКИХ ВОЗЗРЕНИЙ СОВРЕМЕННОЙ БИОХИМИИ, ГЕНЕРИРУЕМЫЕ ЧАСТНЫМИ ДОСТИЖЕНИЯМИ ГЕНОМНЫХ И ПОСТГЕНОМНЫХ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ

Абрамова З.И., Алимова Ф.К., Барсуков А.К., Боталова И.А., Бохан А.Н.,
Желтышев Е.Н., Зарубаев В.В., Кожевникова О.В., Кузнецов А.И., Макарова
Е.А., Минаева Е.В., Нестерова О.Ю., Полещук Л.Ф., Решетников С.М.,
Тойдорова А.А., Шарафуллин Х.Х., Шульц В.Л.

Казанский (Приволжский) государственный университет

Удмуртский государственный университет, НПО «Завод Экобиопрепарат»,

НИИ гриппа Министерства здравоохранения РФ

Центр исследования проблем безопасности Российской академии наук

Достаточно общая теория (само)управления предполагает прежде всего выявление или распознавание природных и социально обусловленных процессов, во взаимной вложенности которых формируется глобальная научно-обоснованная стратегия общественного развития. Парадоксально, но в наши дни успехи биологических наук сами по себе стали уникальным вызовом человеческой цивилизации. Неслучайно возникла формула «Экономика XXI века – это биоэкономика, основанная на знаниях». Очевидно также, что в 21 веке преступно и опасно «учиться чему-нибудь и как-нибудь» или подменять знания эмоциями и благими намерениями.

В 2001-2003 гг. завершилось исследование структурной организации генома человека. Общезримая значимость полученных результатов воспринимается неоднозначно. Для одних – это активное восприятие и применение новых знаний. Другие полагают, что геном человека – книга закрытая, запечатанная и непонятная. На уровне философско-мировоззренческой информации обсуждаются две наиболее значимые для жизнеустройства человечества теории: человек – акт Творения, или человек произошел от вирусинфицированной шимпанзе. Фактоописательная

проблематика исследований сводится к ограниченности обобщенной информации, которую возможно в перспективе получить с помощью методологий геной инженерии и гибридной технологии. К настоящему времени известно, что в информационной емкости генома человека около 1 % приходится на кодирование белков, разнообразие которых составляет то ли 25, то ли 120 тыс. индивидуальных макромолекул. Еще около 30 % информации можно отнести на хозяйствующие и не кодирующие (белки) формы РНК. Отметим главное – прочесть молчащий фрагмент генома не представляется возможным даже на уровне теоретических воззрений методологического характера. Вместе с тем именно этот фрагмент ДНК «прогрессивные» ученые называют мусорным, паразитарным, эгоистическим, эволюционной платой за совершенство кодирующего фрагмента ДНК. На основании определения структурной организации генома современная наука пришла к выводу, согласно которому молчащий фрагмент к категории «мусора» отнести невозможно.

Таким образом, «самый первый вызов человечеству», который сводится к прочтению содержательного смысла генома, представляется нам информационной первоосновой, понимание которой позволит перейти к нравственно обусловленному и научно-обоснованному созданию новых генетических текстов.

Второй вызов – создание нравственно обусловленной методологии прочтения генетических текстов сводится к манипулированию известными генами с целью изучения вновь созданных «белковых предложений». В нашем понимании указанная проблематика должна быть исходно вложена в объемлющую «всё и вся» проблему методологии прочтения молчащего фрагмента геномной ДНК. Вероятнее всего наиболее успешно в этой сфере деятельности смогут работать физики-математики и представители «суперкомпьютерных наук», формирующих биоинформатику на глобальных началах в системе междисциплинарных взаимодействий, организованных на принципах Естественно-Гуманитарного Научно-Образовательного Комплекса (в терминологии В.А. Журавлева, ректора УдГУ с 1986 г. по 2007 г.). Создание новых генетических текстов из известных науке генов и прочтение простейших «белковых предложений» должно иметь второстепенное значение, например, для понимания смысла «белковых предложений» как результат манипулирования известными генами.

Еще более отдаленная перспектива касается разработки систем, способных вносить генетическую информацию с целью создания новых организмов. Предметно-конкретный ответ на самый глобальный естественно-научный вызов зависит от совершенствования гуманитарной составляющей общей нам всем культуры. В частности, предлагается сконцентрировать достижения биологических наук для освоения в будущем генотерапии, создания тканей и органов в рамках потребностей трансплантологии.

АКТИВНОСТЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ В СУБКЛЕТОЧНЫХ ФРАКЦИЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА И ПЕЧЕНИ КРЫС В ХОДЕ РАННЕГО ПОСТНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ

Бахтюков А.А., Галкина О.В., Ещенко Н.Д.

Научный руководитель: Галкина О.В., к.б.н., доцент по спец.

Кафедра Биохимии Санкт-Петербургского Государственного Университета

Последние исследования показывают участие активных форм кислорода в процессах роста и развития нервной системы, включая выживание и пластичность нейронов, пролиферацию нейрональных предшественников, а также их дифференциацию в специфические нейрональные клетки. С другой стороны хорошо известна неустойчивость головного мозга к окислительному стрессу в эмбриональный и ранний постнатальный период, которая объясняется достаточно высокими концентрациями ионов железа, недостаточно развитой по сравнению со взрослым мозгом антиоксидантной системой (АОС) и, по некоторым данным, несоответствием экспрессии основных ферментов АОС. Одним из ключевых ферментов АОС является супероксиддисмутаза (СОД), которая катализирует превращение супероксиданион-радикала до перекиси водорода. Активность этого фермента имеет решающее значение для адаптации организма к относительно высокой кислородной среде сразу после рождения.

В связи с этим целью данной работы было изучение активности СОД в субклеточных фракциях головного мозга и печени крыс в ходе раннего постнатального развития. В экспериментах были использованы крысы линии Wistar трех возрастных групп: 10-, 20- и 30–дневные животные. Было показано, что общая активность СОД в печени выше, чем в головном мозге, особенно в первые 20 дней жизни. В обоих исследованных органах основная доля активности фермента приходится на цитоплазматическую фракцию. В тоже время в отличие от печени, где активность СОД мало изменяется с возрастом, в мозге она постепенно увеличивается за весь исследованный

период постнатальной жизни. В ходе раннего постнатального развития головного мозга изменяется соотношение активности фермента в исследованных фракциях. Так, в 10-дневном возрасте основная активность приходится на цитоплазматическую фракцию, где она в 2 раза больше, чем во фракции митохондрий, к 20 дням эта разница снижается до 1,5 раз и нивелируется у 30-дневных животных. Минимальная доля активности СОД во фракции миеллина приходится на период интенсивной миелинизации (20-й день), а в синаптосомальной фракции – на 30-й день постнатальной жизни.

Таким образом, изменения активности СОД тесно связаны с процессами, протекающими в период формирования головного мозга.

АНАЛИЗ ГИДРОЛИЗА БЕЛКОВ НА ОСНОВЕ ¹Н СПЕКТРОСКОПИИ ЯМР

А.Г. Бикмуллин, К.С. Усачев, А.В. Аганов, В.В. Клочков, Ф.К. Алимова
Казанский (Приволжский) Федеральный Университет

Аннотация

Методами спектроскопии ¹Н ЯМР исследован процесс гидролиза белков. Гидролиз белковых молекул приводит к изменениям химических сдвигов, мультиплетности и ширин линий в спектрах ¹Н ЯМР. Показано, что спектроскопия ¹Н ЯМР является эффективным инструментом для анализа реакции гидролиза белков в растворе.

Ключевые слова: гидролиз, белки, пептиды, спектроскопия ¹Н ЯМР.

Введение

Белки - высокомолекулярные природные полимеры, построенные из остатков аминокислот, соединенных амидной (пептидной) связью —СО—NH—. Каждый белок характеризуется специфичной аминокислотной последовательностью. В процессе гидролиза под действием высоких температур, давления, агрессивных кислот, щелочей или протеолитических ферментов пептидные связи разрушаются, длинные аминокислотные цепочки белков обрываются, образуя пептидные цепи, а далее - отдельные аминокислоты (Нейрат, 1971). Чем больше образуется отдельных аминокислот в ходе гидролиза, тем глубже, т.е. эффективнее он проходит, тем "чище" гидролизат. Белковые гидролизаты, получаемые из белоксодержащих отходов пищевого производства, возможно применять в сельском хозяйстве в качестве почвенных удобрений, в животноводстве в качестве кормовой добавки для целевого балансирования аминокислотного

состава кормов скота, в пищевой промышленности в качестве вкусовой питательной добавки. Особо "чистые" аминокислотные гидролизаты возможно использовать в медицине как продукт для парэнтерального (внутривенного) питания при различных состояниях, сопровождающихся белковой недостаточностью. Также аминокислотные гидролизаты используются в косметической промышленности (Глик, 2002).

Одной из частных проблем в разработке технологии получения белковых гидролизатов является объективная оценка эффективности расщепления белкового субстрата. Одним из критериев данной оценки считается степень (глубина) гидролиза, которая определяется различными способами. Наиболее распространенным показателем является отношение массовой доли аминного азота к массовой доле общего азота в гидролизате. Некоторые авторы используют в качестве понятия степени гидролиза белков массовую долю небелкового азота в общем азоте или количество растворимых белковых веществ. Еще одним наглядным способом отражения степени деструкции белков следует считать изменение оптической плотности растворов за счет появления низкомолекулярных пептидов, неосаждаемых трихлоруксусной кислотой (ТХУ). Известно, что в 10%-ном растворе ТХУ выпадают в осадок белковые соединения с молекулярной массой более 2 кДа. Для более точного расчета глубины гидролиза используется зависимость гидролиза и содержания свободных аминокислот от массовой доли аминного азота. Для определения молекулярно-массового распределения белковых веществ в гидролизатах применяется метод гель-фильтрации.

Вышеперечисленные методы, отражающие глубину деградации белков, имеют свои преимущества, так же как и недостатки. Вероятно, не существует универсального показателя, который единственно объективно отражал бы степень гидролиза, поэтому при детальном описании свойств белкового сырья необходимо приводить данные, полученные с применением различных методов. Такой подход позволяет не только определить степень расщепления белков, но и дает представление о фракционном составе веществ белковой природы, входящих в состав белоксодержащего продукта. Ситуация на данный момент такова, что чем больше используется методов анализа степени гидролиза, тем более точным будет описание качества полученных гидролизатов. Именно поэтому для оценки степени гидролиза белка нами был применен метод спектроскопии ^1H ЯМР высокого разрешения.

Экспериментальная часть

Для изучения процесса гидролиза были выбраны три наиболее распространенных и изученных белковых вещества, а именно - бычий сывороточный альбумин (БСА), казеин и триптон. БСА - наиболее широко изученный и наиболее распространенный протеин крови (70% от общего протеинового состава) с молекулярной массой 64 000 Да, одноцепочечный, состоящий из 582 аминокислотных остатков. Казеин - группа белковых

соединений, состоящая из нескольких сложных фосфопротеинов т.н. казеинового семейства. Казеиновые белки составляют около 80% всех белков коровьего молока, и около 20 % молока человека. Триптон - это смесь пептидов различной длины, образованная в результате гидролиза казеина протеолитическим ферментом - трипсином.

В данной работе был проведен полный кислотный гидролиз исследуемых белковых соединений в условиях повышенного давления (~2атм.) и температуры ($120^{\circ}\text{C}=293\text{ K}$). Данные экстремальные условия были получены с помощью автоклава ООО "Сармат" мод. АЭ.

Растворы исследуемых белков и пептидов в физиологическом растворе (0,9%NaCl) концентрацией 1г/л были подвергнуты кислотному гидролизу в автоклаве в течение 3 часов (смешивали раствор белка или пептидов с концентрированной соляной кислотой HCl («Сигма Тек», х.ч.) в соотношении 1:1).

Регистрацию 1D спектров ^1H ЯМР БСА, триптона и казеина в физиологическом растворе и концентрированной соляной кислоте (раствор белка : HCl = 1:1), а также спектров полученных гидролизатов проводили на ЯМР спектрометре AVANCE II-500 (Bruker) (500 МГц (^1H)) при температуре 293 К. Спектрометр работает в режиме внутренней стабилизации по линии резонанса ^2H . При записи спектров ^1H ЯМР использовали 90° импульсы, и задержки между импульсами равнялись 2 с; ширина спектра была 12.00 м.д.; число накоплений от 10. Отсчет химических сдвигов производили от сигнала воды.

ЯМР спектроскопия как эффективный инструмент анализа реакции гидролиза белков в режиме реального времени

Явление ядерного магнитного резонанса (ЯМР), открытое в 1945 г. Ф. Блохом и Э. Парселлом, легло в основу создания нового вида спектроскопии. В настоящее время спектроскопия ЯМР является наиболее универсальным и эффективным методом (не разрушающим объект) установления химической и пространственной структуры молекул; внутри межмолекулярной динамики; контроля за ходом химической реакции и определения образующихся при этом продуктов, а так же количественного состава смесей в жидкой и твердой фазе (Derome, 1998, Усачев, 2011)

Известно, что молекулы с большой молекулярной массой (например белки) обладают длинными временами корреляции, что приводит к коротким значениям времен поперечной релаксации T_2 , что, в свою очередь, приводит к уширению резонансных сигналов в спектрах ^1H ЯМР. При гидролизе белок расщепляется на фрагменты либо на отдельные аминокислоты, которые по отдельности обладают меньшей молекулярной массой, а значит в спектрах ^1H ЯМР будут наблюдаться сигналы с меньшей шириной линии. Таким образом, на основе анализа спектров ^1H ЯМР можно получать информацию о реакции

гидролиза в режиме реального времени (время одного ЯМР эксперимента ~ 2 мин).

В рамках данной работы исследован процесс гидролиза белковых веществ методами спектроскопии ^1H ЯМР. На рисунке 1 представлены спектры растворов БСА, казеина и триптона в физиологическом растворе до кислотного расщепления, и спектры гидролизатов, полученных в результате гидролиза этих белковых веществ. В спектрах ^1H ЯМР исследуемых белковых веществ (Рис. 1) до и после полного кислотного гидролиза наблюдалось существенное изменение химических сдвигов, мультиплетности и ширин линий. Наличие большого числа узких линий в спектрах ^1H ЯМР триптона, казеина и БСА (Рис.1) является подтверждением того, что произошло расщепление пептидной цепи на более мелкие фрагменты либо на отдельные аминокислоты, т.е. подтверждением того, что прошла реакция гидролиза.

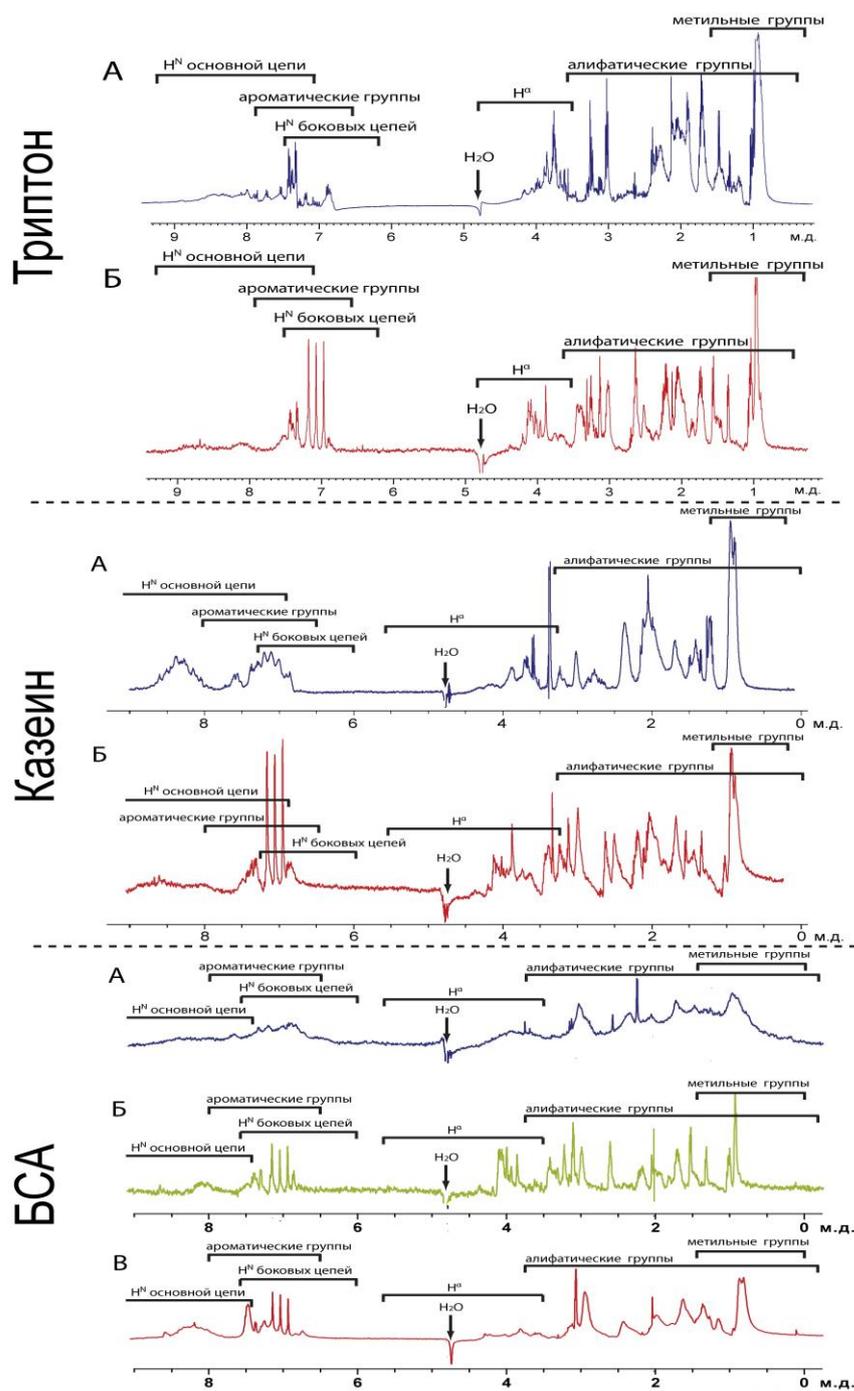


Рис. 1. ^1H (500 МГц) спектры ЯМР белков (триптон, казеин, БСА): А) в физ. растворе (90% H_2O + 10% D_2O). Б) гидролизат в растворе 90% H_2O + 10% D_2O и концентрированной соляной кислоты (HCl), $t^0=293$ К. (раствор белка: HCl = 1:1). В) гидролизат в физ. растворе (90% H_2O + 10% D_2O), $t^0=293$ К.

Таким образом, на основе анализа спектров ^1H ЯМР высокого разрешения можно получать информацию о реакции гидролиза, в том числе, и в режиме реального времени.

ЛИТЕРАТУРА

1. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология: Принципы и применение. — М.: Мир, 2002.
2. Нейрат Г. Ферменты, переваривающие белки / Г. Нейрат // Молекулы и клетки. — 1971.
3. Пискунович Д.И., Мухин Д.А. Биохимическая оценка степени расщепления белков тканей гидробионтов // Вестник МГТУ. — 2012. — Т.15. — №1. — С.62-67.
4. Derome A. E. Modern Nmr Techniques for Chemistry Research / A. E. Derome – Cambridge: Pergamon, 1988. – 295 p.
5. Усачев, К.С. Пространственное строение гептапептида Ab16-22 в растворе и в комплексе гептапептид - модель биологической мембраны [Текст] /К.С.Усачев, А.Р.Юльметов, А.В.Филиппов, О.Н.Анцуткин, С.Афонин, А.В.Аганов, В.В.Клочков // Ученые Записки Казанского Университета. - 2011. - Т. 153, Серия Естественные науки, книга 3.- С. 91-106.

СТРУКТУРА НАЧАЛЬНОГО ФРАГМЕНТА PAP248-261 ВИЧ-АКТИВНОГО ПЕПТИДА PAP248-286 В РАСТВОРЕ И В КОМПЛЕКСЕ С МОДЕЛЬНЫМИ МЕМБРАНАМИ

Блохин Д.С.¹, Филиппов А.В.^{1,2}, Анцуткин О.Н.^{2,3}, Клочков В.В.¹
науч. рук: Клочков В.В. д.х.н., профессор

¹Казанский (Приволжский) Федеральный Университет

²Технический университет Лулео, Швеция ³Отделение физики Уорикского университета, Великобритания

Объектом исследования является пептид PAP248-261 (PAP – простатическая кислая фосфатаза), начальный фрагмент PAP248-286, который усиливает инфекционную активность вируса иммунодефицита человека. Предполагают, что повышение адгезии вируса со специфическим рецептором связывания обуславливается тем, что белок PAP248-286 способствует сокращению электростатического отталкивания между мембранами вируса и клетки - мишени. В работе было определена пространственная структура начального фрагмента PAP248-261 (GINKQKEKSRLQGG) в растворе и в комплексе с моделью биологической мембраны. В качестве модели биологической мембраны были выбраны мицеллы на основе додецилсульфата натрия. Комплексообразование подтверждено изменением химических сдвигов ЯМР ^1H спектров пептида, а

также знаками и величинами ядерного эффекта Оверхаузера в различных средах. Исследование структуры пептида PAP248-261 показало, что он не обладает вторичной структурой в растворе и комплексе с моделью мембраны (рис. 1). Это дает возможность предполагать, что начальный фрагмент PAP248-286 не является активным центром в связывании молекулы ВИЧ с мембранной поверхностью.

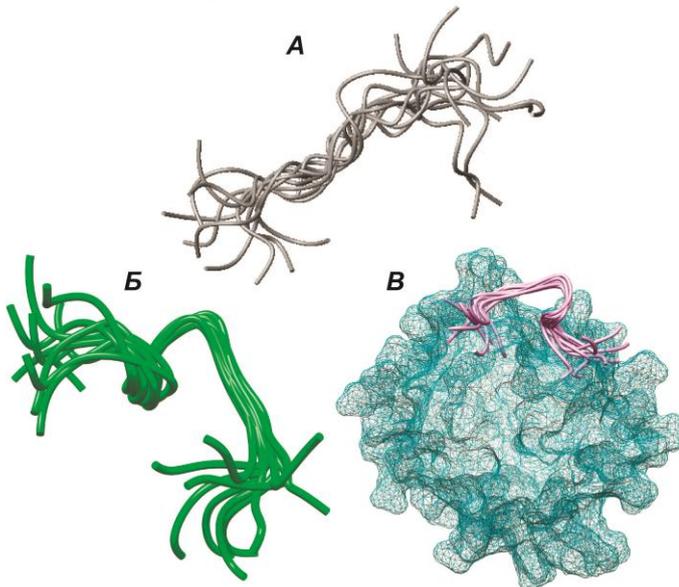


Рисунок 1. Пространственная структура пептида PAP248-261: А – в водном растворе (H_2O+D_2O); Б – в комплексе «пептид-модель мембраны». С – модель комплекса PAP248-261 с моделью заряженной поверхности биологической мембраны.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ СЕМЕЙСТВА NF1 В ХРОМАТИНЕ РЕГУЛЯТОРНОЙ ОБЛАСТИ ГЕНА ТРИПТОФАНДИОКСИГЕНАЗЫ (ТДО) ПРИ ТРАНСКРИПЦИИ IN VIVO

Бобров Е. А., Чихиржина Г. И.

Санкт-Петербургский Государственный Университет

Выделяют особый класс регуляторных белков, участвующих в ремодулировании структуры хроматина регуляторной области генов до начала транскрипции. Действие этих факторов приводит к формированию так называемой предсобранной структуры хроматина, которая обеспечивает компетенцию гена к транскрипции. Эти транскрипционные факторы участвуют в процессах, приводящих к формированию тканеспецифичной структуры хроматина, и в реализации тканеспецифической программы транскрипции.

Известны немногочисленные данные, свидетельствующие в пользу представлений о том, что транскрипционные факторы семейства NF1

поддерживают протяженные области хроматина в потенциально активном состоянии у высших эукариот. На клетках человека показано, что присутствие NF1 в пограничных областях хроматиновых доменов препятствует распространению репрессивного состояния теломер на соседние гены. Для изучения роли транскрипционных факторов семейства NF1 в реализации программы тканеспецифичной экспрессии генов необходимы исследования корреляции между присутствием этих факторов в хроматине регуляторной области гена и его функциональным состоянием *in vivo*.

В качестве модельного объекта нами был выбран ген триптофандиоксигеназы (*tdo*) крысы, который находится под контролем глюкокортикоидных гормонов и экспрессируется преимущественно в печени. Методом иммунопреципитации фрагментов хроматина, содержащих транскрипционные факторы NF1, в сочетании с количественным вариантом ПЦР изучали распределение хроматине регуляторной области гена *tdo in vivo*. Проводится сравнительный анализ распределения NF1 в хроматине гена *tdo* в состоянии активной транскрипции (печень крысы) и компетенции к транскрипции (культура гепатоцитов НТС).

ПРИМЕНЕНИЕ ДАННЫХ ОБ АКТИВНОСТИ ТРОМБОЦИТАРНЫХ ФЕРМЕНТОВ В ЦЕЛЯХ ПРЕДИКЦИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИПСИХОТИЧЕСКОЙ ФАРМАКОТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ ШИЗОФРЕНИЕЙ

Бокша И.С., Бурбаева Г.Ш., Савушкина О.К., Терешкина Е.Б.

Учреждение Российской академии медицинских наук «Научный центр психического здоровья» РАМН, лаборатория нейрохимии

Цели и задачи: обнаружение и изучение ферментов нейромедиаторного и энергетического метаболизма в тромбоцитах крови; количественная оценка ферментативной активности и количества соответствующих белков; поиск корреляций между активностью/количеством ферментов (и его изменениями) и оценками психопатологического состояния (и их изменениями) в ходе антипсихотической терапии.

Дизайн исследования: получение первичных данных → создание базы данных → статистический анализ → заключение о прогностической ценности биохимических параметров. Параметры: клиническая оценка психопатологического состояния в баллах по тестам PANSS, NSA-16, BPRS и нейрокогнитивное тестирование; биохимические данные об активности и количестве тромбоцитарных ферментов метаболизма нейромедиаторов: белка, подобного глутаминсинтетазе (ГСПБ), глутаматдегидрогеназы,

ГАМК-трансаминазы, и энергетического метаболизма – цитохром с-оксидазы (ЦО).

Проведенные и проводимые клинические исследования: 2 когорты больных хронической параноидной шизофренией (DSM-IV-TR 295.30) в стадии обострения: первая (n = 60) – терапия оланзапином; вторая (n = 25) – терапия рисперидоном; 2 когорты больных с манифестным приступом эндогенного психоза – диагноз шизофрения или шизоаффективный психоз: первая когорта (n=60) – терапия клозапином и галоперидолом; вторая (n=30) – терапия атипичными антипсихотиками (моно- или смешанная).

Результаты и выводы: высокий уровень (количество) ГСПБ в тромбоцитах может служить «предиктором» более высокой эффективности антипсихотической терапии оланзапином больных хронической шизофренией: чем выше уровень ГСПБ до лечения антипсихотиком, тем меньше времени необходимо для достижения положительного клинического эффекта (снижение баллов по PANSS). Высокая активность ЦО может служить «предиктором» более высокой эффективности антипсихотической терапии рисперидоном больных хронической шизофренией и клозапином с галоперидолом – больных с манифестным приступом эндогенного психоза: чем выше активность ЦО до лечения, тем меньше выраженность психопатологических расстройств после лечения. Оценки уровней ЦО и ГСПБ помогут составить индивидуальные прогнозы эффективности антипсихотической фармакотерапии при хроническом течении шизофрении и при первом психотическом приступе.

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ БАКТЕРИИ PSEUDOMONAS AUREOFACIENS

Бурова Ю.А., Ибрагимова С.А.

Научный руководитель – д.б.н., профессор Ревин В.В.

ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет имени Н.П.
Огарёва»

В настоящее время имеется большой опыт по использованию псевдомонад в сельскохозяйственной практике для защиты и стимуляции роста растений. Известно, что ростостимулирующее и микопаразитическое действие бактерий обусловлено синтезом веществ фитогормональной, антибиотической и ферментативной природы. В 2006 г. из ризосферы ячменя сотрудниками кафедры биотехнологии выделен новый штамм бактерии *Pseudomonas aureofaciens*. Ранее было показано, что данный штамм активно подавляет рост фитопатогенных грибов рода *Fusarium*, *Alternaria*, а также обладает стимулирующим действием по отношению к сельскохозяйственным культурам, увеличивая их ростовые показатели [1]. В связи с этим целью работы явилось исследование биологически активных веществ в

культуральной жидкости бактерии *Pseudomonas aureofaciens*, обуславливающих ее эффективность. Культивирование бактерии осуществляли на питательной среде, основным компонентом которой являлась свеклосахарная меласса. Исследовали динамику содержания индолил-3-уксусной кислоты на спектрофотометрически (СФ UVmini-1240 Shimadzu, Japan) с реактивом Сальковского [2], наличие феназиновых веществ методом тонкослойной хроматографии на пластинках «Силуфол» (Чехия) и качественное определение ферментов на средах с коллоидным хитином и молочным казеином. При определении уровня фитогормона в культуральной жидкости отмечено наличие двух пиков ИУК на 12 и 19 сутки хранения (0,38 мкг/мл), оба пика были непродолжительны во времени, на 20 сутки происходило снижение концентрации фитогормона практически на 48%. При исследовании антибиотических веществ установлено, что данный штамм бактерии синтезирует 3 феназина: феназин-1-карбоновую кислоту, 2-гидроксифеназин и 2-гидрокси-феназинкарбоновую кислоту. Поверхностное культивирование КЖ бактерии на средах с хитином и казеином показало наличие зон гидролиза уже на ранних стадиях, свидетельствующие о способности данного штамма синтезировать гидролитические ферменты.

Таким образом, можно предположить, что ростостимулирующий эффект бактерии обусловлен синтезом фитогормона индолил-3-уксусной кислоты, а антифунгальное действие – феназиновыми веществами, вызывающие окислительный стресс фитопатогенов, и гидролитическими ферментами (хитиназами и глюконазами), разрушающими клеточную стенку грибов.

1. Бурова Ю.А. Обработка томатов биопрепаратом на основе *Pseudomonas aureofaciens* / Ю.А. Бурова, А.А. Лукаткин, С.А. Ибрагимова, В.В. Ревин // Всеросс. конф. «Проблемы и перспективы изучения естественных и антропогенных экосистем Урала и прилегающих регионов».- Стерлитамак, 2010. - 191-193 с.

2. Gordon S.A. Colorimetric estimation of indoleacetic acid / S.A. Gordon, R.P. Weber // Plant Physiol. January. – 1951. – Vol. 26. – P. 192 – 195.

ОСОБЕННОСТИ АКТИВНОСТИ СИСТЕМЫ ФОСФОИНОЗИТИДОВ В ГИППОКАМПЕ КРЫС, ПОДВЕРЖЕННЫХ ТЯЖЕЛОЙ ГИПОКСИИ НА РАЗНЫХ СРОКАХ ПЕРИНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ

О.В.Ветровой^{1,2}, Е.И.Тюлькова¹

(научный руководитель - Е.И.Тюлькова, к.б.н)

ФГБУН Институт физиологии им. И.П.Павлова РАН, Санкт-Петербург;

Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург

Исследовали содержание фосфоинозитидов и экспрессию рецепторов инозитол-3-фосфата (IP3R-1) в гиппокампе самцов крыс линии Вистар, подвергавшихся тяжелой гипобарической гипоксии на 14-16 и 17-19 сутки пренатального развития (ПГ). Учитывая данные, свидетельствующие о взаимосвязи между изменением активности фосфоинозитидной системы у лиц, страдающих болезнью Альцгеймера, и проявлением дефицита рабочей памяти, мы провели серию экспериментов, в которой исследовали особенности рабочей памяти у крыс, подвергавшихся ПГ (14-16 сутки) (водный лабиринт Морриса). Пренатальная гипоксия (14-16 сутки беременности) приводила к повышению уровня содержания фосфатидилинозитол-4,5-дифосфатов и фосфатидилинозитол-4-фосфатов в гиппокампе 14-суточных крыс. Содержание монофосфоинозитидов в мозге экспериментальных животных этой же группы не отличается от контрольного уровня. У взрослых (90-суточных) животных содержание полифосфоинозитидов хотя и в меньшей степени, но оставалось выше контрольных значений. Предъявление гипоксии на 17-19 сутки гестации не вызывало достоверных изменений количества фосфоинозитидов ни на ранних, ни на поздних сроках постнатального развития. Пренатальная гипоксия (14-16 сутки) вызывала увеличение числа нейронов с повышенной экспрессией IP3R-1 по сравнению с контролем у 14-суточных крыс, у взрослых животных этой группы достоверных изменений экспрессии рецепторов инозитол-3-фосфата не выявлено. Гипоксическое воздействие на 17-19 сутки вызывало долговременное усиление экспрессии IP3R-1 по сравнению с контролем (изменения достоверны на 14 и 90 сутки постнатального развития). Выявлено достоверное увеличение времени, необходимого для обнаружения платформы у крыс, подвергавшихся воздействию пренатальной гипоксии по сравнению с контролем, что свидетельствует о дефиците рабочей памяти у опытных животных. Таким образом, перинатальная гипоксия приводит к длительным изменениям активности фосфоинозитидной системы в мозге крыс, различающимся в зависимости от времени предъявления патологического воздействия, что, возможно, находит свое отражение в наблюдаемых нами нарушениях поведения, памяти и способности к обучению.

Работа поддержана грантом РФФИ №13-04-00812.

УЧАСТИЕ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ СЕМЕЙСТВА NF1 В ФОРМИРОВАНИИ СТРУКТУРЫ ХРОМАТИНА РЕГУЛЯТОРНОЙ ОБЛАСТИ ГОРМОН-ЗАВИСИМОГО ГЕНА ТРИПТОФАНДИОКСИГЕНАЗЫ

Вихнина М.В., Романовская Е.В., Чихиржина Г.И.
СПбГУ, биолого-почвенный факультет, кафедра биохимии

Проводится изучение структуры хроматина в регуляторной области гена тканеспецифического фермента триптофандиоксигеназы крысы (tdo), экспрессия которого контролируется глюкокортикоидными гормонами, и выяснение роли транскрипционных факторов-пионеров семейства NF1 в становлении тканеспецифической транскрипционной программы данного гена.

Методом торможения электрофоретической подвижности в геле в присутствии конкурентной ДНК было показано, что при связывании фрагментов регуляторной области гена tdo от -499-го до -292-го и от -292-го до -178-го нуклеотида с частично очищенными белковыми экстрактами из ядер печени крыс в присутствии неспецифического конкурента наблюдается образование трех специфических комплексов. При увеличении концентрации специфического конкурента, содержащего синтезированную согласованную нуклеотидную последовательность, специфически взаимодействующую с фактором NF1, происходило резкое уменьшение содержания комплексов, что свидетельствовало о принадлежности изучаемых белков к семейству ядерных факторов NF1. Методом иммуноблоттинга прямо подтверждено, что обнаруженный нами сайт-специфический фактор относится к семейству транскрипционных факторов NF1.

В области связывания транскрипционных факторов NF1 гена tdo в транскрипционно активном состоянии идентифицированы два гиперчувствительных к DNКазе I участка, что свидетельствует о ремоделировании нуклеосомной структуры хроматина в регуляторной области гена tdo *in vivo*. При фрагментации этой области гена микрококковой нуклеазой наблюдается нарушение периодичности разрывов ДНК.

На основе полученных данных можно предположить, что NF1 способствует поддержанию структуры хроматина в регуляторной области гена tdo в компетентном к транскрипции состоянии, однако имеющиеся немногочисленные литературные данные противоречивы. Планируется дальнейшее изучение роли транскрипционных факторов семейства NF1 в формировании компетентной к транскрипции структуры хроматина в регуляторной области гена tdo на модели активной (печень) и репрессированной (почки) транскрипции, а также на модели компетенции гена к транскрипции (клетки гепатомы линии НТС) методом иммунопреципитации хроматина. Предварительно были подобраны условия

ультразвуковой дезинтеграции хроматина почек крыс и клеток гепатомы, обеспечивающих фрагментацию ДНК в диапазоне от 200 до 500 п.о., далее было проведено иммуноосаждение фрагментов хроматина, обогащённых транскрипционными факторами семейства NF1, из ткани почек крыс.

УБИХИНОН ОГРАНИЧИВАЕТ СТЕПЕНЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ДНК СПЕРМАТОЗОИДОВ ПРИ ИДИОПАТИЧЕСКОМ БЕСПЛОДИИ

Галимов Ш.Н., Галимова Э.Ф.

Башкирский государственный медицинский университет

Одним из перспективных препаратов для лечения мужского бесплодия является убихинон (коэнзим Q₁₀) – компонент цепи переноса электронов и облигатный участник процесса окислительного фосфорилирования. Убихинон определяется в хорошо измеримых концентрациях в спермоплазме, где он выполняет важные метаболические и антиокислительные функции. Молекулярные механизмы действия убихинона остаются малоизученными, что предопределило необходимость проведения настоящей работы.

Обследовано 38 фертильных мужчин и 75 больных с идиопатической патоспермией. Убихинон назначался перорально в суточной дозе 200 мг в течение 3 мес., что соответствует продолжительности сперматогенеза. Определяли содержание биомаркера окислительного повреждения ДНК 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозина (8-oxodGu), уровень гидропероксидов липидов и степень окислительной модификации (карбонилирования) белков.

Установлено, что концентрация сперматозоидов и доля морфологически нормальных форм были статистически одинаковы и до лечения, и после. Объем эякулята также оставался практически неизменным после приема препарата. В то же время на фоне коэнзима Q₁₀ увеличилось среднее количество прогрессивно-подвижных клеток. У пациентов с идиопатическим бесплодием обнаружено накопление в эякуляте гидропероксидов липидов, 8-oxodGu и карбонилированных белков. Образование окисленных аддуктов белков и ДНК, степень которого коррелирует с фрагментацией хроматина – частая находка в сперматозоидах человека при патологии. Этот тест используется для контроля эффективности терапии мужского бесплодия (Aitken R., 2011). Прием убихинона сопровождался уменьшением признаков окислительного и карбонильного стресса сперматозоидов, что проявилось в угнетении карбонилирования белков, переоисления липидов и дезинтеграции ДНК.

Обсуждая механизмы протективного действия коэнзима Q, можно предположить, что они носят неспецифический характер и опосредованы стабилизацией биоэнергетических процессов, препятствующей утечке

электронов из дыхательной цепи. Известны и прямые эффекты убихинона (Кулакова С.Н. и др., 2012), которые сводились к индукции экспрессии каталазы и модуляции активности сигнальных путей, сопряженных с генерацией АФК, дифференцировкой и апоптозом клеток. Очевидно, влияние убихинона на ДНК обусловлено как нормализацией антиоксидантного статуса, так и регуляцией редокс-чувствительной сигнальной системы Keap1/Nrf2/ARE, являющейся молекулярным сенсором изменений гомеостаза и предназначенной для защиты генома при стрессовых воздействиях (Lushchak V., 2011). Полученные результаты являются патогенетическим обоснованием для использования убихинона в терапии идиопатического бесплодия, включая применение вспомогательных репродуктивных технологий.

НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ БЕЛКИ ИЗ ЯДЕР КЛЕТОК ГОЛОВНОГО МОЗГА И СЕЛЕЗЕНКИ ИММУНИЗИРОВАННЫХ КРЫС, АКТИВИРУЮЩИЕ ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА-2

Гришина Т.В., Мюльберг А.А.

Санкт-Петербургский государственный университет, биолого-почвенный факультет, кафедра биохимии

Изучение коммуникации между нервной и иммунной системами является актуальным направлением в современной нейробиологии и клеточной иммунологии. Известно, что важнейшими медиаторами нейроиммунных взаимодействий являются цитокины – мультифункциональные плеiotропные протеины, играющие критические роли в межклеточных коммуникациях и клеточной активации. Цитокины являются не только основными регуляторами иммунного ответа, но и вовлекаются в контролирование множества физиологических и патологических процессов в ЦНС, т.е. выступают не только как иммунорегуляторы, но и как нейромодуляторы. Нейроиммунные взаимодействия являются двунаправленными – цитокины и другие продукты иммунных клеток могут модулировать функции, дифференцировку и выживание нервных клеток, в то время как нейротрансмиттеры и нейропептиды, освобожденные из нейронов, играют роль в запуске иммунного ответа.

В литературе имеются данные указывающие на возможность существования общих механизмов регуляции экспрессии генов цитокинов в Т-клетках и клетках ЦНС, и крайне мало сведений о механизмах нейроиммунных взаимодействий на уровне регуляции специфическими трансфакторами транскрипции цитокиновых генов. Для изучения подобных механизмов в качестве модели нами был выбран ген интерлейкина-2, кодирующий структуру одного из ключевых медиаторов иммунной системы, который является также важным модулятором нейрональной и нейроэндокринных функций.

Из ядер клеток селезенки и головного мозга иммунизированных крыс были выделены активные фракции белков, стимулирующих экспрессию гена IL-2. Показано наличие в этих препаратах общей фракции белков с низкими молекулярными массами от 13,5 до 19 кДа. Электрофоретический спектр белков из ядер мозга более гетерогенен, чем из ядер селезенки, в котором доминирует фракция низкомолекулярных белков. Установлено, что белки с Mr 13,5-19 кДа образуют стабильные комплексы, как с проксимальным, так и с дистальным фрагментом регуляторной ДНК гена IL-2. Вестерн-блоттинг препаратов белков с поликлональными антителами к c-jun и c-fos, выявил, что белки с Mr 17,5, 18 и 19 кДа обладают антигенными детерминантами сходными с таковыми к c-jun. Кроме того, белки из ядер мозга с Mr 36 и 75 кДа, показали наличие антигенных детерминант не только к c-jun, но и к c-fos. Анализ N-концевых аминокислотных последовательностей выделенных полипептидов с Mr 13,5-19, сравнительный анализ и поиск гомологий в банке данных не позволил отнести эти полипептиды к белкам определённого класса.

БИОХИМИЯ ВЫЖИВАНИЯ: МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ АДАПТАЦИИ ЛИЧИНОК КРИПТОБИОТИЧЕСКОГО НАСЕКОМОГО К ПОЛНОМУ ОБЕЗВОЖИВАНИЮ

Олег Гусев^{1,2,3}, Елена Шагимарданова¹, Владимир Евтюгин¹ и Такахиро Кикавада³

¹Институт Фундаментальной Медицины и Биологии, Казанский
Федеральный Университет, Казань, 420008, РФ

²Institute of Space and Astronautical Science, Japan Aerospace Exploration
Agency, Tsukuba, 305-8505, Япония

³Insect Mimetics Unit, National Institute of Agrobiological Sciences, Tsukuba,
305-8634, Япония

Личинки “спящей хирономиды” (африканского комара-звонца *Polypedilum vanderplanki* (Chironomidae)) обладают способностью к сохранению жизнеспособности условиях обезвоживания. В таком состоянии, называемом криптобиозом, личинки характеризуются потерей более 97% воды из организма и полной остановкой метаболизма. Реактивация жизнедеятельности происходит менее чем за 60 мин после помещения криптобиотических личинок в воду. В отличие от подавляющего большинства беспозвоночных, адаптационной стратегией которых к недостатку воды является сохранение максимального количества жидкости в организме, *P. vanderplanki* характеризуются механизмом “замещения”. Кутикула личинок тонкая и, в процессе обезвоживания, вода покидает тело.

Вместо нее из гликогена синтезируется дисахарид трегалоза. Трегалоза является “эволюционным выбором” насекомых, так как она имеет преимущества перед другими сахарами. Во-первых, трегалоза химически инертнее сахарозы и глюкозы и устойчива к кислотному гидролизу. Во-вторых, осмотический потенциал трегалозы значительно ниже чем у глюкозы, что позволяет накапливать ее в больших концентрациях. Известно, что в гемолимфе насекомых это соединение служит не только транспортной формой сахаров, но и выполняет роль антифриза в диапаузирующих видах и видах обитающих в холодных условиях. В личинках *P. vanderplanki* у трегалозы появляется новая функция – физическое замещение воды. Кристаллизуясь, сахар формирует молекулярный щит, препятствующий необратимой денатурации белков, агрегации клеток и органелл. Расшифровка геномов двух видов хирономид одного рода, отличающихся по способности к криптобиозу, позволила выявить ряд белковых компонентов “безводного щита”, специфично накапливающихся в процессе подготовки к криптобиозу: шаперонов, антиоксидантов, репаративных белков. Анализ состояния ядерной ДНК показал, что полное обезвоживание является повреждающим фактором и каждый цикл криптобиоза сопряжен с продолжительным периодом репарации ядерных нуклеиновых кислот. Транскрипционная активность генома также восстанавливается лишь через несколько часов после реактивации личинок. Тем не менее, обширный анализ метаболома (динамики изменения концентрации более 200 основных метаболитов) в оживающих личинках показал, что уже с первых минут после попадания в воду, в криптобитических личинках запускаются активные биохимические процессы. В частности, идет активное расщепление трегалозы, которое является, вероятно, одним из источников энергии для оживающего организма. При этом, регидратация неизбежно приводит к сильному окислительному стрессу. Механизмом борьбы с этим видом стресса служат заранее синтезированные и, более того, сохраненные в активной форме в условиях обезвоживания специфические защитные белки.

Проект осуществляется при финансовой поддержке РФФИ (проекты РФФИ №12-08-33157_мол_а_вед и № 12-04-97071-р_поволжье.).

ПОВЕРХНОСТНОЕ НАТЯЖЕНИЕ СЫВОРОТКИ КРОВИ КАК ИНТЕГРАЛЬНЫЙ ПОКАЗАТЕЛЬ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКОГО СТАТУСА СОБАК

Довженко Н.А., аспирантка

Максимов В.И., д.б.н., профессор; Зайцев С.Ю., д.х.н., д.б.н., профессор

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина» (ФГБОУ ВПО МГАВМиБ)

В настоящее время важной задачей для биохимии и ветеринарной медицины является ранняя диагностика физиологических и биохимических нарушений в организме животных, а также поиск новых методов исследования для их установления и их сопоставимость с уже применяемыми. Одним из таких методов является метод межфазной тензиометрии для определения динамического поверхностного натяжения (ДПН) биологических жидкостей, в частности сыворотки крови.

ДПН определяли на тензиометре ВРА-1Р (Sinterface Technologies, ФРГ). С помощью программы ADSA были определены параметры ДПН при разных временах существования поверхности ($\sigma_0 - \sigma_3$) и углы наклона начального (λ_0) и конечного (λ_1) участка тензиограм. Для исследования использовали сыворотку крови собак породы немецкая овчарка.

У собак в возрасте 1-2 лет были получены следующие параметры ДПН: $\sigma_0 - 70,1 \pm 1,4$ мН/м, $\sigma_1 - 71,0 \pm 2,5$ мН/м, $\sigma_2 - 63,6 \pm 2,6$ мН/м, $\sigma_3 - 57,6 \pm 2,6$ мН/м; $\lambda_0 - 7,0 \pm 2,6$ мН·м⁻¹·с^{-1/2}, $\lambda_1 - 6,0 \pm 0,4$ мН·м⁻¹·с^{1/2}. У собак в возрасте 4-6 лет значения ПН были несколько выше: σ_0 – на 3 % ($72,3 \pm 1,0$ мН/м), σ_1 – на 2,5% ($72,8 \pm 0,9$ мН/м), σ_2 – на 4 % ($66,0 \pm 1,5$ мН/м), σ_3 – на 1% ($58,0 \pm 2,6$ мН/м), λ_1 – на 42 % ($8,5 \pm 1,3$ мН·м⁻¹·с^{-1/2}), а угол λ_0 меньше на 3 % ($6,8 \pm 0,6$ мН·м⁻¹·с^{-1/2}).

Параллельно с измерением ДПН проводился биохимический анализ сыворотки крови. Определены корреляционные связи параметров ДПН с биохимическими показателями сыворотки крови. Для собак всех возрастов сильные отрицательные корреляционные связи ($|r| > 0,69$) обнаружены между уровнем альбуминов и σ_2, σ_3 ; глюкозой и параметром σ_1 ; общим кальцием и углом наклона λ_0 ; общим билирубином и углом наклона λ_1 . Также имелись сильные положительные корреляционные связи ($|r| > 0,69$) между: количеством альбуминов и λ_0 ; содержанием общего кальция и σ_0, σ_2 и σ_3 .

Таким образом, у собак параметры динамического поверхностного натяжения сыворотки крови тесно связаны с физиолого-биохимическими показателями, что подтверждается наличием сильных корреляционных связей между ними. Это дает возможность говорить об использовании ДПН как в качестве интегрального показателя общего состояния животного и

применения его для диагностики нарушений в организме, заболеваний на ранней стадии их развития, а также для контроля за лечением.

АССОЦИАЦИЯ КАРДИОЛИПИНА С ДНК ПО ДАННЫМ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

Жданов Р.И., Ибрагимова М.Я.

Научный руководитель: Жданов Ренат Ибрагимович, д.х.н, профессор
Казанский (Приволжский) федеральный университет

В данной работе нами представлено экспериментальное доказательство взаимодействия кардиолипина с полинуклеотидами ДНК и высказано предположение о кардиолипин-индуцированной ассоциации ДНК. Это сделано нами при исследовании системы ДНК - кардиолипин методами жидкостной хроматографии высокого давления (ЖХВД) и сканирующей зондовой микроскопии (атомно-силовой микроскопии, АСМ), при этом в качестве ДНК были использованы АТ- или СG-богатые полинуклеотиды. Метод АСМ оказался весьма полезным при исследовании нуклеиновых кислот и их комплексов [1-4]. Комплексы полинуклеотидов ДНК с кардиолипином имеют время выхода и форму пика на хроматограмме с регистрацией хемосенсором, отличающиеся от времени выхода и формы самой исходной ДНК. Ассоциаты ДНК-кардиолипин имеют значительно большие размеры (латеральный размер (ширина) 360 - 600 нм, длина 2000 - 3000 нм), чем сами нити исходных полинуклеотидов ДНК (латеральный размер 30 нм, длина 130 - 400 нм). Этот факт может быть обусловлен возможностью для каждой молекулы кардиолипина взаимодействовать одновременно с двумя молекулами ДНК, что открывает возможность ассоциации ДНК и образования плотных аггломератов комплексов кардиолипин-ДНК.

В работе использованы полинуклеотиды ДНК: гомологичные $(dA)_n \cdot T_n$ (II) и $(dC)_n \cdot (dG)_n$ (III) и гетерологичные $(dAT)_n \cdot (TdA)_n$ (IV) и $d(CG)_n \cdot d(GC)_n$ (V) (фирма Boeringer Mannheim», Германия) и кардиолипин (I, КЛ) из сердца быка фирмы «Sigma». Полинуклеотиды, полученные синтетически с помощью полинуклеотидфосфорилазы, имели молекулярную массу около 100 кДа, и n равно 150 п.о. Растворы для хроматографии готовили, растворяя полинуклеотиды ДНК в воде (рН 7) в концентрации от $1 \cdot 10^{-5}$ до $5 \cdot 10^{-5}$ М [5] и добавляя аликвоты раствора кардиолипина в метаноле для достижения требуемого соотношения кардиолипин / пара оснований ДНК. Конечная концентрация метанола в растворах не превышала 2 объем. %. Эти растворы были нагреты до 85°C и оставлены при - 4°C для «отжига».

Экспериментальное изучение взаимодействия кардиолипина с ДНК физико-химическими методами серьезно затруднено из-за различной растворимости этих соединений: ДНК хорошо растворяется в водных растворах, а кардиолипин – в органических растворителях. Успех

применения тех или иных методов для исследования такой системы зависит как от подбора растворителей, так и от диапазона концентраций, необходимых для регистрации взаимодействия. Поскольку ассоциация ДНК с липидами сиквенс-специфична [5], для исследования этой системы мы титровали кардиолипином четыре полинуклеотида ДНК с различной последовательностью оснований (II - V).

Сначала для идентификации комплексообразования полинуклеотидов ДНК с кардиолипином мы хроматографировали растворы полинуклеотидов и их смеси с кардиолипином методом ЖХВД с регистрацией с помощью хемосенсора. Элюцию компонентов проводили смесью вода-метанол (50:50, объем.%), а регистрацию времени выхода продуктов - кондуктометрическим методом с применением хемосенсоров типа «Sensobi» в варианте Г. и Р. Бишофф [2,5]. В результате такой хроматографии после хранения фракций при -4°C в течение 2 суток удастся получить аморфные осадки комплексов ДНК с кардиолипином.

Хемосенсорный анализ: кондуктометрия

Для анализа растворы, содержащие ДНК и кардиолипиды, наносились на колонку с обращенной фазой RP18. Нами были проанализированы комплексы кардиолипина с синтетическими полинуклеотидами, такими как гомологичные (II, III) и гетерологичные (IV, V) в соотношении лиганд / пара оснований 0; 0,1; 0,2 или 0,5. Мы обнаружили этим методом, что кардиолипиды в большей степени взаимодействуют с полинуклеотидами II и IV и слабо влияют на другие нуклеотидные последовательности. Кардиолипину соответствует небольшой пик со временем выхода $t = 0,3$ мин, которое соответствует также времени выхода кардиолипина в смеси с другими ДНК. Сигналы со временем выхода 0,5 - 2 мин соответствуют ДНК.

Показано, что комплексы полинуклеотидов ДНК II $(dA)_n \cdot (T)_n$ и IV $(dA \cdot T)_n$ с кардиолипином имеют время выхода и форму пика на хроматограмме с регистрацией хемосенсором, отличающиеся от времени выхода и формы пика самой исходной ДНК. Таким образом, из анализа хроматограмм следует, что полинуклеотиды II и IV, по-видимому, образуют комплекс с кардиолипином. Для CG-богатых III и V полинуклеотидов этим методом комплексообразование с кардиолипином зарегистрировать не удалось.

Атомно-силовая микроскопия.

Фракции после разделения смесей полинуклеотида ДНК и кардиолипина методом ЖХВД на приборе «Sensobi Ltd» были оставлены в холодильнике. Через двое суток хранения при -4°C удалось получить аморфные осадки комплексов полинуклеотидов ДНК с кардиолипином – квази-кристаллические структуры, для исследования которых мы использовали метод атомно-силовой микроскопии. Рассмотрение длины и высоты АСМ-изображений молекул ДНК может дать полезную информацию

об изменении структуры в результате комплексообразования [2,6-8]. Анализировалась средняя высота рельефа отсканированной площадки.

На рис. 1 А и Б представлены АСМ-изображения двуцепочечного (д.ц.) полинуклеотида $(dA)_n \cdot (T)_n$ (II), и его комплекса с кардиолипином (в соотношении 1 мол. КЛ на 2 п.о.). В то время как АСМ-изображение полинуклеотида II (рис. 1А и Б) представляет собой нити высотой 7-17 нм, которые хаотично распределены по поверхности, в присутствие кардиолипина полинуклеотид (II) образует ассоциаты с кардиолипином в форме глобул (АСМ-изображение на рис. 1 В и Г). Между глобулами можно видеть нити исходной ДНК, толщина которых не изменилась.

Таким образом, из наших данных следует, что комплексы ДНК-кардиолипин, даже с небольшим содержанием КЛ, имеют значительно большие размеры, чем сами нити исходных полинуклеотидов ДНК. Полинуклеотиды ДНК способны образовывать комплексы в присутствие кардиолипина независимо от последовательности оснований: как с $(dAT)_n$, так и с $(CG)_n$ богатыми последовательностями. Это резко отличает взаимодействие ДНК с КЛ от взаимодействия ДНК с олеиновой кислотой, которая с АТ-богатыми ДНК взаимодействует по «принципу узнавания» - 1 молекула на виток ДНК, а с CG-богатыми – по «принципу насыщения» [5]. Более того, взаимодействие молекул полинуклеотидов ДНК с гидрофобными молекулами холестерина или олеиновой кислоты предотвращает образование их ассоциатов с ДНК [5], в то время как в присутствие КЛ наблюдается сильная ассоциация молекул полинуклеотидов ДНК. Это обстоятельство может быть обусловлено возможностью для каждой молекулы КЛ взаимодействовать одновременно с двумя молекулами полинуклеотида ДНК. Тот факт, что в наших экспериментах происходит ассоциация отрицательно заряженных молекул кардиолипина и ДНК, свидетельствует также о решающем вкладе гидрофобных и ван-дер-ваальсовых взаимодействий в комплексообразование между ДНК и кардиолипином и липидами вообще, что недавно было обнаружено при исследовании взаимодействия различных молекул ДНК и РНК с монослоями нейтрального или катионного липида на поверхности раздела вода-воздух [9].

Работа выполнена в Казанском (Приволжском) федеральном университете (гранты Минобрнауки РФ – КФУ № Ф11-02 – 2011 г. и № бюджет 12-26, 2012-2014 г.г. и РФФИ 12-03-97089-р_поволжье_a) и Химическом факультете Университета им. Мартина Лютера Галле-Виттенберг, Halle (Saale), Германия при поддержке Фонда им. А. фон Гумбольдта, Бонн, Германия, грант № V-8121-(RUS)-1032332 (Р.И.). Авторы благодарят проф. К. Циммера (Университет г. Йена, Германия) - за предоставление полинуклеотидов ДНК, проф. В. Лоренца (Университет им. М. Лютера Галле-Виттенберг, Германия) – за препарат кардиолипина, а также к.ф.-м.н. А. ЭльКади (МГУ), Г. Бишофф (Германия) и к.б.н. А.С. Шмырину (НИИОПП РАМН, Москва) за помощь в экспериментах.

Литература

1. Zhdanov R.I, Hombach-Klonisch S., Bischoff G. Impact of Lipid-DNA Interaction. In: «Micro- and Nanostructures of Biological Systems», the 2nd ed., G. Bischoff, H.-J. Hein, eds., Shaker Verlag Aachen, Germany, 2005. - P. 133-159.
2. Hansma H.G. Surface biology of DNA by atomic force microscopy // *Annu. Rev. Phys. Chem.* - 2001. - V. 52. - P. 71-92.
3. Винтер В.Г., Невзорова Т.А., Коновалова О.А., Салахов М.Х. Применение атомно-силовой микроскопии для исследования ДНК-гидролизующей активности антител к ДНК // *Доклады Акад. Наук.* – 2005. – Т. 405, № 3. – С. 409-411.
4. Коновалова О.А., Невзорова Т.А., Винтер В.Г., Салахов М.Х. Оптимизация методики визуализации ДНК на атомно-силовом микроскопе Solver P47H // *Приборы и Техника Эксперимента.* – 2005. - № 6. – С. 110-114.
5. Zhdanov R.I., Strazhevskaya N.B., Jdanov A., Bischoff G. A Spectroscopic and surface Plasmon resonance study of oleic acid/DNA complexes // *J. Biomol. Str. Dynamics.* - 2002. – V. 20. - P. 232-243.
6. Филонов А.С., Яминский И.В. Зондовая микроскопия. Построение и обработка изображений. http://www.nanoscopy.org/ebook/pag19_24.html
7. Галлямов М.О., Яминский И.В. Нуклеиновые кислоты (АСМ-изображения), в кн.: «Сканирующая зондовая микроскопия», отв. ред. И.В. Яминский, 1997; http://www.nanoscopy.org/ebook/Pag25_40.html.
8. Murray M.N., Hansma H.G., Bezanilla M. et al. Atomic force microscopy of biochemically tagged DNA // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1993. - V. 90. - P. 3811-3814.
9. Michanek A., Yanez M., Wacklin H. et al. RNA and DNA association to zwitterionic and charged monolayers at the air-liquid interface // *Langmur.* - 2012.- V. 28 (25). - P. 9621-9633.

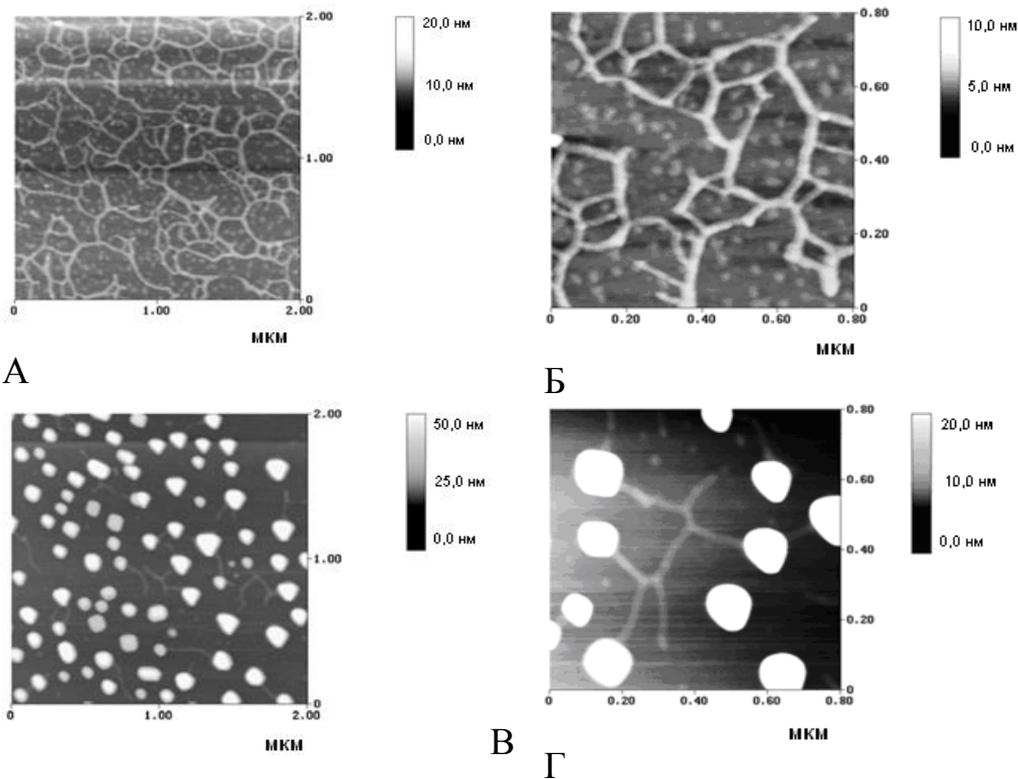


Рис. 1. АСМ-изображения комплекса полинуклеотида ДНК $(dA)_n \cdot (T)_n$ (II) с кардиолипином. А, Б: полинуклеотид II без кардиолипина (нити ДНК распределены по поверхности).

В, Г: комплекс кардиолипина с полинуклеотидом ДНК в соотношении 1 КЛ : 2 п.о. (на всей поверхности видны ассоциаты в виде глобул (белые участки), образовавшиеся после добавления КЛ. Между глобулами видны нити ДНК; их толщина не увеличилась).

СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ ДЛЯ БИОЛОГИИ, БИОНАНОТЕХНОЛОГИИ И МЕДИЦИНЫ

Зайцев С. Ю., д.х.н, д.б.н., профессор

ФГБОУ ВПО МГАВМиБ

Современной и актуальной является проблема изучения природных супрамолекулярных биохимических систем (СБС) и создания искусственных СБС с заданными свойствами, представляющих собой высокоорганизованные комплексы белков, липидов и других биологически активных соединений (БАС). Наиболее характерные примеры таких СБС – это мембраны клеток и субклеточных органелл, рибосомы и липосомы, наночастицы и ультратонкие пленки симмобилизированными белками и синтетическими ионохроматофорами, которые являются уникальными моделями для исследования процессов молекулярного узнавания и взаимодействия БАС, а также перспективными новыми бионаноматериалами с комплексом особых свойств [1].

В наших исследованиях различные липиды и их производные, поверхностно-активные мономеры и полимеры, мембранные белки и ферменты были изучены как структурно-функциональные компоненты таких СБС [1-3]. Одними из наиболее перспективных для бионанотехнологии СБС являются стабильные нанослои ферментов (типа глюкозооксидазы, уреазы и т.д.), адсорбированные на положительно заряженных или цвиттерионных липидных монослоях. Показано, что различные биосенсоры, полученные на основе таких липид-ферментных нанопленок, способны определять соответствующие БАС (глюкозу, мочевины и т.д.) в физиологической области концентраций. Параметры указанных биосенсоров оптимизированы с использованием липидоподобных мономеров и полимеров [2]. Исследованы монослои липидов на границе раздела фаз, с которыми эффективно взаимодействуют адсорбированные ферменты типа липаз из различных источников. Для описания ферментативного гидролиза на границе раздела фаз предложена кинетическая модель процесса и определены эффективные константы реакций. Впервые получены многокомпонентные комплексы на основе синтетических и природных полимеров с иммобилизованными липазами, и показана возможность управлять их каталитической активностью путем регуляции состава комплексов [3]. Важность таких СБС обусловлена не только их фундаментальным значением, но и широкими возможностями использования как наноматериалов в хим- и биосенсорах, фильтрах, мембранах, электродах, фотохромных элементах, материалах для записи и хранения оптической информации, атомно-силовой и флуоресцентной конфокальной микроскопии [3].

1. S.Yu. Zaitsev, D.O. Solovyeva, I. Nabiev. Adv. Colloid Interface Sci., 2012, v.183–184, p.14–29. 2. С.Ю. Зайцев Российские нанотехнологии. 2009, т.4, №.7-8. с.6-18. 3. С.Ю. Зайцев Супрамолекулярные наноразмерные системы на границе раздела фаз: Концепции и перспективы для ионанотехнологий. – М.: ЛЕНАНД, 2010. 208 с.2.

МЕТАЛЛОМ И ПЕРОКСИЛИПИДОМ ПРИ ДЕЙСТВИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ С МУТАГЕННЫМ ЭФФЕКТОМ

Ибрагимова М.Я.¹, Скальный А.В.², Ибрагимов Я.Х.³, Валеева И.Х.⁴, Жданов Р.И.¹

Научный руководитель – Ибрагимова Миляуша Якубовна, к.б.н.

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет,

²ОСОО «Российское общество медицинской элементологии» (Москва),

³Казанская государственная медицинская академия,

⁴Казанский государственный медицинский университет

Мутагены могут влиять не только на геномную ДНК и хроматин, но также и на широкий спектр других биомакромолекул и систем организма [1], в частности, компоненты липидома, протеома, транскриптома и метаболома. Ряд ксенобиотиков, в том числе и лекарственные средства, вызывающие мутации, обладают оксидантными и прооксидантными свойствами - это происходит в результате их способности влиять на систему антиоксидантной защиты организма и индуцировать окислительные повреждения липидов, белков, метаболитов и др. Поэтому в данной работе нас интересовал результат комплексного исследования: влияет ли циклофосфамид при однократном внутрибрюшинном введении на уровень биоэлементов (40 мг/кг) и индикаторы перекисного окисления липидов (ПОЛ, 20, 40, 60, 80 мг/кг) [2].

Установлено, что введение ЦФ не изменяет содержание макроэлементов (Са, Р, К, Na, Mg) во всех изученных органах (головной мозг, почки и печень) и достоверно уменьшает содержание семи жизненно необходимых микроэлементов: железа, цинка, марганца, молибдена, меди, кобальта и селена. ЦФ не изменяет уровень хрома и йода и не влияет на содержание условно жизненно необходимых микроэлементов: бора, кремния, никеля, лития и мышьяка. Исключение составил ванадий, содержание которого достоверно уменьшается в печени. Интересен и тот факт, что внутрибрюшинное введение ЦФ не влияет на содержание токсичных

микроэлементов в органах крыс: олова, серебра, стронция, алюминия, свинца, бериллия и сурьмы. Содержание кадмия и ртути уменьшается во всех исследованных органах, а лантана только в головном мозге.

Для того, чтобы определить как ЦФ влияет на ПОЛ, мы исследовали содержание гидроперекисей липидов и малонового диальдегида в плазме крови и диеновых конъюгатов и малонового диальдегида в гомогенатах головного мозга, сердца, печени, почек, надпочечников, селезенки и тимуса белых рандомизированных лабораторных крыс обоих полов SPF категории [3].

При изучении индикаторов ПОЛ, гидроперекисей липидов в сыворотке крови и малонового диальдегида в крови крыс, после однократного введения ЦФ во всех изученных дозах – 20, 40, 60 и 80 мг/кг, установили незначительное изменение ПОЛ, а именно содержание одного из конечных продуктов ПОЛ – МДА – при введении ЦФ повышается в дозе 80 мг/кг.

При введении ЦФ во всех исследованных дозах и во всех изученных органах (сердце, печени, почках, надпочечниках и селезенке) уровень диеновых конъюгатов и малонового диальдегида достоверно не изменились. Исключение составили тимус, в котором ЦФ достоверно увеличил содержание диеновых конъюгатов при дозах 60 и 80 мг/кг, и головной мозг, в котором ЦФ в дозе 80 мг/кг достоверно увеличил уровень МДА [3].

Поскольку при действии лекарства-канцеростатика с мутагенным действием в тканях организма (крысы) резко уменьшается содержание жизненно необходимых микроэлементов, что может привести к резкому ослаблению биоантиоксидантной защиты и других систем, необходимо провести клинические эксперименты по поддерживающей терапии пациентов онкологических клиник препаратами этих микроэлементов (железо, медь, цинк, марганец, кобальт, молибден, селен), чтобы способствовать лучшей реабилитации онкологических больных.

1. Дурнев А.Д. Генетическая токсикология // Вестник РАМН. - 2011. - № 9. - С. 35-43.
2. Валеева И.Х., Ибрагимова М.Я., Жданов Р.И., Халикова А.Р., Халикова А.Р. Методы определения содержания продуктов перекисного окисления липидов в биологическом материале: учебно-методическое пособие. - Казань: Изд-во Казанск. гос. ун-та, 2008. - 26 с.
3. Ибрагимова М.Я., Скальный А.В., Валеева И.Х., Скальная М.Г., Сабирова Л.Я., Жданов Р.И. Влияние циклофосфида на баланс макро- и микроэлементов и индикаторы перекисного окисления липидов в органах в эксперименте // Вестник восстановительной медицины, 2013, № 2. – С. 70-74.

КАРДИОЛИПИН УЧАСТВУЕТ В СТАБИЛИЗАЦИИ МЕМБРАННЫХ БЕЛКОВЫХ КОМПЛЕКСОВ E.COLI

Иванова В.В.¹, Рябичко С.С.¹, Невзорова Т.А.¹, Богданов М.В.²,
Алимова Ф.К.¹

¹ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»,
Институт фундаментальной медицины и биологии, кафедра биохимии

²Health Science Center at Houston, University of Texas-Houston, USA

Порины являются неспецифическими транспортерами грамотрицательных бактерий, таких как *E.coli*, образующие каналы во внешней мембране для диффузии различных низкомолекулярных соединений. Порины представляют собой β -структурированные мембранные белки, функционирующие в виде тримеров. Мономеры белков транслоцируются на внешнюю мембрану с помощью комплекса SecYEG. Сборка тримеров в мембране может зависеть от работы транслоконовой системы и от фосфолипидного микроокружения.

Дифосфатидилглицерин, или кардиолипин, может принимать участие в работе транслоконовой системы SecYEG, необходимой для транспортировки белков через мембрану, в том числе и порина OmpF, что влияет на его функциональность.

Для определения возможного влияния кардиолипина на транслокацию и сборку порина OmpF создали мутантный штамм *E.coli* BKT12 с делециями в генах кардиолипинсинтаз *cls A*, *cls B* и *cls C*. В качестве контроля использовали штамм с «диким» фенотипом W3110. Содержание кардиолипина проверяли 2-мерной тонкослойной хроматографией фосфолипидов, меченых радиоактивным ³²P, экстрагированных из клеток *E.coli* на log-фазе. Экстракцию осуществляли смесью хлороформ-метанол (1:2) в течение 30 минут при постоянном встряхивании. ТСХ проводили в первом направлении в растворителях хлороформ-метанол-аммоний (60:30:4), во втором – хлороформ-метанол-уксусная кислота-вода (85:12,5:12,5:3).

Мутантный по генам кардиолипинсинтаз штамм BKT12 не содержал кардиолипина в отличие от штамма с «диким фенотипом» W3110 *E.coli*, при этом уровень экспрессии транслоконовой системы SecYEG не отличается у данных штаммов. Однако неизвестна активность транслоконовой системы.

Трансмембранный порин OmpF грамотрицательных бактерий выполняет свою функцию в наружной мембране в виде тримера с молекулярной массой ~100 кДа, тогда как индивидуальный мономер имеет M_r ~39 кДа. Отсутствие кардиолипина приводит к увеличению количества мономеров OmpF в мембране, что говорит об участии кардиолипина в сборке и функционировании данного белка.

Мы предполагаем, что вследствие нарушения работы транслокона, OmpF мономер не принял нужную конформацию для фолдинга и не достиг наружной мембраны *E.coli* для дальнейшей сборки.

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРОТЕОМИКИ В СОВРЕМЕННОМ МЕДИЦИНСКОМ ОБРАЗОВАНИИ

Каминская Л.А., Мещанинов В.Н.

ГБОУ ВПО Уральский государственный медицинский университет

Минздрава РФ

Современная концепция высшего образования направлена на формирование общекультурных компетенций (ОК) и профессиональных компетенций (ПК). Одновременно на первый план выступает проблема интеграции знаний в условиях произошедшей колоссальной дифференциации. Большинство студентов не умеют увидеть преемственность в изучаемых дисциплинах и применить полученные знания и умения, даже если эти дисциплины изучаются параллельно. Наш опыт преподавания двух тесно связанных между собой дисциплин «Биоорганическая химия и Биологическая химия (биохимия)» (проф. Мещаниновым В.Н. и доц. Каминской Л.А.) и «Биохимия и Патолофизиология» (проф. Мещаниновым В.Н.) позволяют подтвердить это мнение, которое звучит все громче и громче со стороны различных специалистов, особенно работающих на стыке нескольких наук. Не способствует интеграции знаний и предлагаемый в образовательных стандартах порядок изучения дисциплин биологии, биохимии, физиологии, патолофизиологии, которые «перекрывают» друг друга во 2-3 семестрах. Часть студентов при изучении биохимии трудно усваивают понятия «специфичность ферментов - катализаторов, роль третичной структуры белка в проявлении специфичности и биологической активности, изоферменты, белок – белковое взаимодействие»

Специалистам современной медицины все больше и больше приходится осознанно и продуктивно использовать фундаментальные достижения естественных наук в их различных направлениях: химии, биохимии, физики. Химические исследования расширяют границы научных исследований биологических и медицинских проблем, играют важную роль при создании системного подхода к изучению патогенеза и механизмов развития заболеваний. На границе биоорганической химии, биохимии, биофизики, цитологии и генетики возникли молекулярная биология, протеомика, которые внесли абсолютно новые взгляды в традиционную медицину.

Протеомика — наука, предметом изучения которой являются белки и их взаимодействия в живых организмах. После определения структуры всей геномной ДНК человека и ряда других организмов, появились базы не только о локализации, нуклеотидной последовательности в кодирующих генах, но

и данные о структуре белков человека. Белок - белковые взаимодействия определяют все жизненные процессы в организме, и нарушение их может приводить к возникновению различных заболеваний, включая опухолевые, нейродегенеративные, сердечно-сосудистые, аутоиммунные и другие процессы. Анализ белковых сетей, образованных белок - белковыми взаимодействиями, представляет собой важный инструмент в диагностике заболеваний, выяснении механизма их возникновения и развития, а также эффективности тех или иных терапевтических подходов [4].

В развитии протеомики можно выделить несколько направлений [1], тесно входящих в ареал интересов медицины:

- 1.структурная протеомика – получение информации о строении белков, причем не об одном, а о множестве одновременно,
- 2.функциональная протеомика – изучение функций и свойств белков, механизмов взаимодействия белков между собой, Это направление связано с тем, что до 96% медикаментозных средств, применяемых в настоящее время, воздействуют именно на белки,
- 3.клиническая протеомика – нахождение количества белков и их распознавание в биологическом материале, наблюдение за изменениями их содержания (сыворотка крови, моча, спинномозговая жидкость, биопсия),
4. протеомика гемостаза,
5. протеомика иммунной системы.

Панели биохимических исследований, которые обязан грамотно интерпретировать врач, включают в себя определение множества белков организма человека, включая гормоны, ферменты, белки крови, белки иммунной системы, в липидограмме - сложные надмолекулярные образования липопротеины, в коагулограмме - ферменты и белковые факторы свертывающей и антисвертывающей системы крови, тромбоцитов.

Ограниченность знаний химических и физико-химических свойств биополимеров организма человека не позволяет полноценно сформировать у студентов - медиков ПК, сформулированные в образовательных стандартах.

Не формируется достаточное понимание интеграции метаболизма на любом уровне организации, направленной на поддержание биохимического, и, следовательно, всех видов гомеостаза, не возникает адекватное предвидение нарушений биохимических процессов, осуществляющих интеграцию, и последствий этих нарушений. Это влечет за собой недостаточное понимание сущности биохимических процессов, которые протекают в экосистемах и организмах, обеспечивая их устойчивость и жизнедеятельность.

Выявленные ситуации можно взять под контроль при усилении мотивации обучения и путем создания «дисциплин по выбору – элективов», отвечающих требованиям современной медицины [2,3].

Для более углубленного изучения проблем, связанных с научными и прикладными направлениями протеомики, мы предложили студентам лечебно-профилактического, педиатрического, фармацевтического факультетов дисциплину по выбору «Супрамолекулярная химия – биополимерные структуры организма человека», которая входит состав математического, естественнонаучного цикла С-2 дисциплин ФГОС-3 ВПО.

Программа дисциплины направлена на формирование у студентов на основе базовых знаний ОК и ПК (060101 лечебное дело, 2 курс - ОК-1, ПК – 2, 3, 31, 32; 060103 педиатрия, 1 курс - ОК-1, ПК – 2, 3, 17, 31, 32; 060301

фармация, заочная форма обучения, 1 курс - ОК-1, ПК - 33, 34, 35, 36, 47, 48, 49).

Разработанный нами курс создает знания из области протеомики, которые непосредственно необходимы для изучения биохимии, патофизиологии, фармакологии и осуществления в будущем профессиональной деятельности. К ним относятся взаимосвязи между физико-химическими и биологическими свойствами надмолекулярных структур организма (липопротеинов, сурфактанта, мембран, протеогликановых структур), механизмы функционирования ферментов, рецепторов, системы антиген-антитело, молекулярные механизмы поддержания гомеостаза и развития патологии.

Дисциплина рассчитана на 2 кредита, состоит из лекционного курса, самостоятельной работы (тестовые контроли усвоения знаний, самостоятельная работа - рефераты, презентации, итоговые обзорные работы), деятельность студентов оценивается по балльно-рейтинговой системе. Для выполнения итоговой реферативной работы предлагаются на выбор темы, которая составлены так, чтобы студенты могли продолжить начатые обзоры потом на занятиях по биохимии, используя далее данные клинко – биохимических исследований. Кроме того, студенты могут предложить свои темы или провести реферирование нескольких статей по тематике дисциплины из научных журналов: Физико-химическая биология (<http://www.genebee.msu.su/journals/rus-jrnl.html>), Молекулярная биология (<http://www.molecbio.com>), Биомолекула (<http://www.biomolecula.ru>), и др.

Примерная тематика лекций.

1. Единство физико-химических свойств и пространственной конфигурации белков.

2. Белки с каталитической активностью.
3. Сложные белки – металлопротеины.
4. Белки крови и биологических жидкостей: строение, функции, использование в клинических биохимических исследованиях.
5. Сложные липиды организма человека: строение, физико-химические свойства, биологические функции липопротеинов крови, сурфактанта.
6. Грудное молоко: физико – химические свойства, обеспечивающие биологические функции, факторы, стабилизирующие и разрушающие структуру липидных и белковых комплексов.
7. Протеогликановые структуры организма человека.
8. Мембраны - супрамолекулярные системы.
9. Сигнальные и регуляторные молекулы организма.
10. Строение и функции рецепторов.
11. Нуклеопротеиды - супрамолекулярные структуры.
12. Достижения супрамолекулярной химии в диагностике заболеваний и создании лекарственных препаратов.

Для оценки качества разработанного курса нами проведено анкетирование студентов, изучающих дисциплину «Супрамолекулярная химия – биополимеры организма человека». Результаты представлены в таблице.

Оценка студентами дисциплины
«Супрамолекулярная химия – биополимеры организма человека»

вопросы анкеты	оценивающие баллы					ср. бал л
	1	2	3	4	5	
	% оценивших					
информация была интересная	-	-	-	37%	63%	4,6
информация была доступна пониманию	-	4%	15%	59%	22%	4,0
информация актуальная	-	-	8%	42%	50%	4,4
информация потребуется в медицинском образовании	-	-	10%	40%	50%	4,38
новизна информации для меня	-	-	-	31%	69%	4,70
посоветую прослушать эти лекции другим	8%		8%	52%	32%	4,0

Студенты высоко оценили информацию, которую они получили при изучении дисциплины и признали, что она для них новая, интересная, актуальная, потребуется в медицинском образовании (от 4,4 до 4,7 баллов). Среди опрошенных, 19% респондентов весьма низко оценили доступность информации для понимания (поставили средний балл 2,8), хотя свой средний балл за предыдущую сессию они указали в интервале 4,0 – 4,5. Это еще раз доказывает, что у части студентов еще только формируется крайне необходимое в профессиональной деятельности умение применять полученные знания к новому объекту. Поэтому уместно закончить нашу статью словами Гиппократ: «Задача знания заключается в том, чтобы отыскать то, что еще не найдено, а будучи найдено является лучше того, что было ранее».

Литература

1. Балмуханов Т. С. <http://tnu.podelise.ru/docs/index-204409.html>.
2. Каминская Л.А. с соавт. Анализ информационно – образовательной среды на кафедре биохимии при переходе на новый образовательный стандарт / Л.А. Каминская, В.Н. Мещанинов, И.В. Гаврилов // Инновационные технологии в образовании: Материалы международ. научно - практической конф.- Екатеринбург.- 2012.- С.150 -151.
3. Мещанинов В.Н., Каминская Л.А. Традиционные и инновационные подходы к преподаванию биохимии в соответствии с ФГОС-3/ В.Н. Мещанинов, Л.А. Каминская // Сб. научных трудов по материалам всеросс. науч.-практической конф. «Биохимические чтения памяти акад. РАН Е.А.Строева. - Рязань.- 2012. - С.365 – 371.
4. Терентьев А. А. с соавт. Динамическая протеомика в моделировании живой клетки. Белок-белковые взаимодействия/ А. А. Терентьев, Н. Т. Молдогазиева, К. В. Шайтан // Успехи биологической химии. – 2009. -Т. 49.- С. 429 -480.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОГО СТРОЕНИЯ ОЛИГОПЕПТИДОВ И ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ В РАСТВОРАХ И В КОМПЛЕКСАХ С МОДЕЛЬНЫМИ МЕМБРАНАМИ СОВРЕМЕННЫМИ МЕТОДАМИ ЯМР СПЕКТРОСКОПИИ.

Клочков В.В., Блохин Д.С., Галиуллина Л.Ф., Ефимов С.В., Усачев К.С.

Казанский федеральный университет

ЯМР спектроскопия является одним из наиболее эффективных методов описания пространственного строения химических и биохимических молекул в растворах. Важной предпосылкой для развития структурных

приложений метода ЯМР было создание двумерной ЯМР спектроскопии в COSY, HSQC и NOESY модификациях. Это дало возможность интерпретировать ЯМР спектры сложных органических соединений, белков и ДНК и определять параметры, необходимые для структурных вычислений. Ядерные эффекты Оверхаузера и константы спин-спинового взаимодействия коррелируют с расстояниями между ядрами и диэдральными углами в молекуле и обеспечивают данные для вычислений трёхмерных структур соединений в растворах.

Применение метода двумерной NOESY ЯМР спектроскопии к определению строения олигопептидов (относительно малые молекулы), попадающих под условие быстрого движения не всегда эффективно, что обусловлено малыми временами корреляции таких молекул в растворе. Последнее приводит к слабым интенсивностям кросс-пиков в спектрах NOESY и затрудняет получение количественной информации о межпротонных расстояниях в таких молекулярных системах. Начиная с 1997 года при исследованиях методом ЯМР биохимических объектов активно используется подход, основанный на определении и анализе остаточных величин диполь-дипольного взаимодействия между магнитными ядрами, проявляющихся при растворении исследуемых соединений в лиотропных жидкокристаллических системах.

В работе рассмотрены и определены оптимальные приемы получения информации о межпротонных расстояниях, включающие вопросы точности интегрирования слабых кросс-пиков в NOESY-спектрах. Отработаны методические вопросы получения количественной информации о межпротонных расстояниях в олигопептидах в комплексах с мицеллами на основе додецилсульфата натрия.

На основании анализа экспериментальных наблюдаемых величин остаточного диполь-дипольного взаимодействия между магнитными ядрами ^{13}C и ^1H , определены конформации некоторых ди- и трипептидов, тетрапептида и декапептида в растворах D_2O . Для всех исследованных молекулярных систем получены координаты атомов олигопептидов в растворе в формате pdb, с соответствующей графической иллюстрацией.

Анализом данных двумерной спектроскопии ЯМР ^1H - ^1H NOESY и анализом величин остаточного диполь-дипольного взаимодействия ($^1\text{D}(\text{C},\text{H})$) определено пространственное строение циклоспорина (CsA) в хлороформе и бензоле (атомные координаты в формате pdb). Определена пространственная структура циклоспорина (CsA) (атомные координаты в формате pdb) в комплексе с мицеллой на основе ДСН.

Методами двумерных гомо- и гетероядерных экспериментов ЯМР показано, что молекулы холестерина образуют молекулярный комплекс с мицеллами додецилсульфата натрия путем взаимодействия ОН-группы

холестерина с концевыми алифатическими группами CH_3 -1 и CH_2 -2 молекулы додецилсульфата натрия.

Исследования пространственной структуры пептидов PAP 267-272 (EILNHMK) и PAP 248-261 (GINKQKEKSRLQGG) (координаты атомов в pdb формате) с помощью ЯМР спектроскопии (двумерные гомо- и гетероядерные модификации) показали, что данные олигопептиды не обладают вторичной структурой ни в растворе, ни в комплексе «протеин – модель мембраны». На основании этого можно предполагать, что фрагменты PAP (EILNHMK) и (GINKQKEKSRLQGG) не несут основную ответственность за активность пептида PAP 248-286.

На основе экспериментальных данных двумерных гомо- и гетероядерных экспериментов ЯМР и теоретического моделирования молекулярной структуры (с использованием программы XPLOD-NIH) определены конформации и геометрические параметры (координаты атомов в pdb формате) альцгеймеровских бета-амилоидов $\text{A}\beta_{1-40}$, $\text{arc-A}\beta_{1-40}$ (E22G), $\text{A}\beta_{10-35}$, $\text{A}\beta_{13-23}$, $\text{A}\beta_{16-22}$ с нативным содержанием изотопов и их комплексов с модельными биологическими мембранами в растворе.

Литература

1. Klochkov, V.V. A spatial structure of tripeptides glycylglycyl-L-histidine and glycylglycyl-L-tyrosine based on residual dipolar couplings and quantum-chemical computations [Text] /V.V.Klochkov, A.V.Klochkov, M.N.Schamsutdinov, S.V.Efimov, A.A.Krutikov, E.M.Gilyazetdinov, Y.Y. Zyavkina, V.G. Shtyrlin// Mendeleev Communications. – 2011 - Vol. 21, N 2. - P. 72-74.
2. Blokhin, D.S. Spatial structure of the decapeptide Val-Ile-Lys-Lys-Ser-Thr-Ala-Leu-Leu-Gly in water and in a complex with sodium dodecyl sulfate micelles [Text] /D.S. Blokhin, S.V. Efimov, A.V. Klochkov, A.R. Yulmetov, A.V. Filippov, O.N.Antzutkin, A.V. Aganov, V.V. Klochkov// Applied Magnetic Resonance. – 2011. Vol. 41, I. 2, P. 267-282.
3. Manin, A. Y. Obtaining spatial structure of cyclosporine (CsA) in chloroform using 2D NMR [Text] / A.Y. Manin, S.V. Efimov, V.V. Klochkov // Magnetic Resonance in Solids (Electronic Journal). - 2011. - Vol. 13, № 2. - P. 21-26.
4. Usachev, K.S. Spatial structure of heptapeptide $\text{A}\beta_{16-22}$ (beta-amyloid $\text{A}\beta_{1-40}$ active fragment) in solutions and in a complex with a biological membrane model [Text] /K.S. Usachev, S.V.Efimov, A.R.Yulmetov, A.V.Filippov, O.N.Antzutkin, S. Afonin, V.V.Klochkov // Magnetic Resonance in Chemistry. 2012. V.50., N 12. – P. 784-792.
5. Галиуллина, Л.Ф. Прямое наблюдение образования комплекса: холестерин - модель биологической мембраны методами ЯМР спектроскопии [Текст] /

Галиуллина Л.Ф., Блохин Д.С., Аганов А.В., Ключков В.В.//Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. - 2012 – Т. VII, N 3. С. 41-48.

6. Efimov, S.V. NMR Studies and Molecular Dynamics Simulation of Cyclosporin in Complex with Detergent Micelles [Text] / S.V.Efimov, V.V.Klochkov // Magnetic Resonance in Solids (Electronic Journal). - 2012. - Vol. 14, № 2. - P. 12202 (5 pp).

7. Galiullina, L.F. Investigation of cholesterol + model of biological membrane complex by NMR spectroscopy [Text] / L.F.Galiullina, D.S.Blokhin, A.V.Aganov, V.V.Klochkov // Magnetic Resonance in Solids (Electronic Journal). - 2012. - Vol. 14, № 2. - P. 12204 (7 pp).

8. Usachev, K.S. Spatial structure of beta-amyloid Ab1-40 in complex with a biological membrane model [Text] /K.S. Usachev, A.V.Filippov, O.N.Antzutkin, V.V.Klochkov // Advances in Alzheimer s Disease. - 2012. - Vol. 1, N 3. - P. 22-29.

9. Blochin, D.S. Spatial structure of heptapeptide Gly-Ile-Leu-Asn-His-Met-Lys, a fragment of HIV enhancer prostatic acid phosphatase, in aqueous and in SDS micelle solutions [Text] /D.S. Blochin, O.V. Aganova, A.R. Yulmetov, A.V. Filippov, O.N. Antzutkin, B.I. Gizatullin, S. Afonin and V.V. Klochkov //J. Molecular Structure. - 2013. - Vol.1033. - P.59-66.

10. Efimov, S.V. Spatial structure of Cyclosporin A and insight into its flexibility [Text] /S.V. Efimov, F.Kh. Karataeva, A.V. Aganov, S. Berger, V.V. Klochkov //J. Molecular Structure. - 2013. – Vol. 1036. – P. 298-304.

11. Khodov, I.A. Spatial structure of felodipine dissolved in DMSO by 1-D NOE and 2-D NOESY NMR spectroscopy [Text] /I.A. Khodov, M.Yu. Nikiforov, G.A. Alper, D.S. Blokhin, S.V. Efimov, V.V. Klochkov, N. Georgi //J. Molecular Structure. - 2013. – Vol. 1035. – P. 358-362.

12. Aminova, R.M. Investigation of complex formation between hydroxyapatite and fragments of collagen by NMR spectroscopy and quantum-chemical modeling [Text] /Aminova R.M., Galiullina L.F., Silkin N.I., Ulmetov A.R., Klochkov V.V., Aganov A.V.//J. Molecular Structure. - 2013.– Vol. 1049. – P.13-21.

13. Usachev,R.S. Solution structures of Alzheimer's amyloid A13-23 peptide: NMR studies in solution and in SDS. [Text]/ K.S. Usachev, A.V. Filippov, E.A. Filippova, O.N.Antzutkin, V.V. Klochkov // Journal of Molecular Structure. -2013. - Vol.1049. P.436-440.

14. Blokhin, D.S. Spatial structure of tetrapeptide N-AC-Ser-Phe-Val-Gly-OMe in “protein-micelle of sodium dodecyl sulfate” complex and in solid state by NMR spectroscopy [Text] /D.S.Blokhin, S.Berger, V.V.Klochkov// Magnetic Resonance in Solids (Electronic Journal). -2013. -Vol.15, № 2.- P. 13202 (7 pp).

15. Usachev, K.S. A combination of the RDC method and NOESY NMR spectroscopy for structural determination of the Alzheimer's amyloid A β 10-35 peptide in solution and in SDS micelles [Text]/ K.S. Usachev, A.V. Filippov, O.N.Antzutkin, V.V. Klochkov // European Biophysics Journal. 2013. – P. 1-8.

СОЗДАНИЕ СИЛОВЫХ ПОЛЕЙ МЕТОДОМ СИМВОЛЬНОЙ РЕГРЕССИИ НА ПРИМЕРЕ СИСТЕМЫ ИЗ 3 АТОМОВ ГАЗООБРАЗНОГО Ar

Козлова О. С., Коннова Т. А., Галиева А. Р., Алишева Д. А., Тарасов Д. С.

Силовое поле – набор потенциальных функций и параметров взаимодействий, описывающих невалентное и ковалентное взаимодействие между атомами и молекулами. Создание универсального метода разработки силовых полей позволит с высокой точностью решать задачи молекулярного моделирования на базе расчета классической механики. Одним из подходов для создания силовых полей может быть применение символьной регрессии.

Целью исследования было определение возможности использования символьной регрессии для разработки силовых полей на примере системы газообразного Ar. Моделью исследования стала система из трёх атомов Ar с произвольными значениями координат. Расчёт энергии системы осуществлялся с использованием пакета квантово-химических расчётов gamess.64. Полученные данные записывались в файл, так же как и значения расстояний между атомами. На основании обучающей выборки с использованием символьной регрессии были получены формулы, выявляющие зависимость энергии от межатомных расстояний. В качестве программы, реализующей символьную регрессию, была использована Eureka Formulize.

После проверки корректности формул с использованием контрольной выборки, были построены графики парных потенциалов, которые сравнивались с графиками потенциалов, полученных экспериментальным путём. Сравнение графиков показало, что нахождение силовых полей, корректно описывающих межатомное взаимодействие в системе из трёх атомов Ar, с помощью символьной регрессии возможно. Более того, удалось найти формулу для вычисления парного потенциала, которая позволит сократить временные затраты на расчёт молекулярной динамики, по сравнению с использованием формулы Леннарда-Джонса.

ГЛИКОПОЛИМЕРЫ ПОВЕРХНОСТИ БАКТЕРИЙ РОДА AZOSPIRILLUM, СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ И РОЛЬ В КОММУНИКАЦИИ ОРГАНИЗМОВ

*Коннова С.А., Федоненко Ю.П.** , Игнатов В.В.**

*ФГБОУ ВПО Саратовский государственный университет имени Н.Г.
Чернышевского

**ФГБУН Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов
РАН

Грамотрицательные диазотрофные ризобактерии рода *Azospirillum*, живущие в ассоциации с растениями в их ризосфере, ризоплане и внутри корней многих хлебных и кормовых злаков, относят к группе микроорганизмов, стимулирующих рост растений. Среди гликополимеров, опосредующих взаимодействие азоспирилл с окружающей средой, обнаружены сложные соединения полисахаридов с липидами и белками, которые находятся в капсульном материале и поступают во внешнюю среду в процессе жизнедеятельности бактерий. Кроме того, на поверхности клеток экспонированы О-специфические цепи липополисахаридов, встроенных во внешнюю мембрану бактерий, определяющие их серологическую уникальность.

Микробные гликополимеры формируют рыхлый поверхностный слой, содействующий выживанию бактерий в почве, посредством защиты их от высыхания, воздействия кислорода, негативного влияния других токсических веществ. Показано, что гликополимерный слой, экспонированный на внешней мембране, участвует в агрегации микроорганизмов, иммобилизации на твёрдых поверхностях и на корнях растений, что содействует сохранению популяции. Показано, что продолжительность и условия выращивания бактерий, а также действие вторичных метаболитов растений оказывают существенное влияние на состав полисахаридов азоспирилл.

Гликополимеры азоспирилл образуют комплексы с агглютинином зародышей пшеницы, присутствующим на поверхности корней злаков, индуцируют изменения морфологии корней. Показано участие лектин-углеводного связывания в формировании ассоциации бактерий со злаками.

В докладе для представителей трёх видов азоспирилл (*A. brasilense*, *A. lipoferum*, *A. irakense*) представлены приоритетные результаты структурных и серологических исследований липополисахаридов, участвующих во взаимодействии с корнями растений. Показаны направления адаптационных изменений структур О-специфических полисахаридов, связанных с увеличением продолжительности роста культур микроорганизмов, существованием бактерий в средах с различными источниками азота, углерода, в присутствии комплекса флавоноидов из корней пшеницы.

Работа поддержана грантом РФФИ 11-04-00533.

НАНОАССОЦИАТЫ – НОСИТЕЛИ БИОЭФФЕКТОВ, ПРОЯВЛЯЕМЫХ ВЫСОКОРАЗБАВЛЕННЫМИ ВОДНЫМИ РАСТВОРАМИ БАВ

А.И.Коновалов

Институт органической и физической химии им. А.Е.Арбузова Казанского
научного центра РАН, e-mail: konovalov@knc.ru

В докладе сообщается о сделанном автором с сотрудниками открытии неизвестного ранее явления: «образование наноразмерных молекулярных ансамблей (наноассоциатов) в высоко разбавленных водных растворах». Необходимым условием образования наноассоциатов, кроме наличия растворённого вещества, является действие внешнего (естественного) электромагнитного поля.

Образование наноассоциатов сообщает высокоразбавленным водным растворам физико-химические и, что особенно важно, биологические свойства, которых в соответствии с существующими воззрениями не должно быть. Сюда относятся проявления био-эффектов высоко разбавленными водными растворами биологически активных веществ и действие лекарственных препаратов в ультра - низких дозах, достигаемых разбавлением исходных растворов.

Таким образом, открытое явление «узаконивает» указанные эффекты.

РАЗРАБОТКА НОВЫХ СПОСОБОВ КОМПЕНСАЦИИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ. БИОХИМИЧЕСКИЙ, ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ И МЕДИЦИНСКИЙ АСПЕКТЫ

Куликов А.В., Архипова Л.В., Куликов Д.А., Смирнова Г.Н., Куликова П.А.,
Филюшкин Ю.Н., Машков А.Е.

Научный руководитель Куликов А.В., д.б.н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, г. Пущино, Факультет фундаментальной медицины Московского Государственного Университета им М.В.Ломоносова, Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф.Владимирского, г. Москва, Россия. 142292, Пущино, Моск. обл., ул.Институтская, 3, тел 8-915-334-55-54, 29.04.55@mail.ru

Главный принцип врача, - не навреди. В этой связи, для внедрения в практику здравоохранения новых инновационных методов необходима предварительная проработка предлагаемых методов на экспериментальных моделях. В своих разработках мы использовали как иммунопривилегированные области, так и зоны, не защищенные от действия иммунной системы гисто-гематическими барьерами, в последнем случае, как правило, трансплантировали антологические клетки.

В результате многолетних исследований удалось:

- значительно снизить темп необратимой возрастной инволюции тимуса в разных возрастных группах, другими словами, замедлить скорость старения Т-клеточного звена иммунологической системы, повышая защиту организма от инфекций, онко- и канцерогенов, последствий стрессов;

- достоверно увеличить среднюю (на $19\pm 5\%$) и максимальную (до 21%) продолжительность жизни животных;

- после радиационного стресса (4-8 Гр) добиться ускоренного восстановления иммунологического статуса организма;

- добиться пожизненной полной или частичной компенсации сахарного диабета у животных;

- добиться восстановления репродуктивной функции с нормализацией количества тестостерона при первичном мужском гипогонадизме у крыс;

- разработать способ лечения анальной инконтиненции (клиническое применение: 8 пациентов). Патент РФ на изобретении №2405573 от 19.02.2010 г.

- разработать метод клинической пересадки аутологичного костного мозга для лечения гематогенного остеомиелита (клиническое применение: 11 пациентов). Патент на изобретение РФ № 2405573.

Работа выполнена при финансовой поддержке программ президиума РАН «Поддержка инноваций и разработок», 2007, 2009, 2011; «Фундаментальные науки – медицине» 2012, 2013 гг.

ПОЛУЧЕНИЕ ТРЁХ СУБФРАКЦИЙ ФРАГМЕНТОВ АКТИВНОГО ХРОМАТИНА ПОСЛЕ МЯГКОЙ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ОБРАБОТКИ ЯДЕР КЛЕТОК ПЕЧЕНИ КРЫС

Котряхова Елена Николаевна, Прияткина Татьяна Николаевна

Прияткина Татьяна Николаевна, канд. биол. наук, доцент

Санкт-Петербургский государственный университет

Эукариотическая транскрипция представляет собой сложный процесс, который активно изучается в настоящее время. Проблема получения хроматина кодирующих и фланкирующих областей генов, находящихся в состоянии активной транскрипции, в виде отдельных фракций фрагментов не утратила своей актуальности. Важное значение в системе фракционирования хроматина имеет способ его фрагментации. Для этого применяют либо обработку нуклеазами, либо сонирование. Преимуществами ультразвуковой (УЗ) фрагментации являются скорость процесса (фрагменты контролируемой величины могут быть получены в пределах 1 мин) и дезинтеграция ядерного

матрикса и ламины, препятствующих выходу хроматина в экстрагирующие растворы после нуклеазной фрагментации ДНК. Мы исследовали содержание фрагментов экспрессируемого в клетках печени крыс гена триптофандиоксигеназы (*to*) во фракциях хроматина, выходящих в растворы средней ионной силы (0,2М NaCl, 0,005М MgCl₂, и тетрапирофосфата натрия, ТПФ) после ультразвуковой обработки ядер. Интенсивная УЗ-обработка (20 кГц, 1 кДж, 90 сек) продуцировала фрагменты длиной около 3000 пар нуклеотидов (п.н.) ДНК. При этом хроматин утрачивал исходные свойства растворимости: около 90% (по ДНК) растворялось в указанных растворах средней ионной силы. Хроматин, остающийся в осадке, содержал два низкомолекулярных пика ДНК (около 1500 и 3000 п.н.) с узким распределением по длине, изучение которых может представлять отдельный интерес. Нами были подобраны условия мягкой ультразвуковой обработки (20 кГц, 0,1 кДж, 60 сек), при которых были получены три субфракции хроматина, многократно обогащённые ДНК гена *to* (по данным блот-и дот-гибридизации). Фракция, выходящая в раствор 0,005 М MgCl₂, содержала протяжённые фрагменты кодирующей области *to* (около 10000 п.н.); экстрагируемая 0,2 М NaCl была представлена преимущественно короткими фрагментами (500-1000 п.н.), эффективно гибридизующимися с 5'-фланкирующей *to*-ДНК. В экстракте ТПФ присутствовали оба класса фрагментов *to*. Все хроматиновые субфракции обнаружили сниженное содержание гистона H1 и неэквивалентную представленность четырёх коровых гистонов, в частности, компонентов димера H3H4. Полученные данные указывают на существенное преобразование нуклеосомной структуры хроматина при активации транскрипции генов.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КАТИОННЫХ ФРАКЦИЙ БЕЛКОВ И ПЕПТИДОВ ЗРЕЛОГО МОЛОКА И СЫВОРОТКИ МОЛОКА ЧЕЛОВЕКА

Фатеева Светлана Евгеньевна, Курдюмова Инна Викторовна, Леонова Лариса
Евгеньевна

Леонова Лариса Евгеньевна, к.б.н., доц.

Санкт-Петербургский государственный университет, биолого-почвенный
факультет, кафедра биохимии

Грудное молоко обеспечивает защиту младенца от болезнетворных микроорганизмов, пока собственная иммунная система ребёнка не сформировалась. Изучение свойств минорных биологически активных белков и пептидов молока человека необходимо для более глубокого понимания роли грудного вскармливания в становлении иммунитета, роста и развития детей первого года жизни. Наряду с различными факторами роста, гормонами, казеином, иммуноглобулинами, в молоке присутствуют и такие многофункциональные белки и пептиды как лактопероксидаза, миелопероксидаза, лактоферрин, альфа-лактальбумин, лизоцим, дефенсины,

кателицидин LL-37 и другие, которые обладают антимикробными, противогрибковыми и противовирусными свойствами. Большинство антимикробных белков и пептидов обладают катионными свойствами.

Данные исследования направлены на изучение катионных белков и пептидов зрелого молока человека и сыворотки молока человека. Показано, что все препараты молока и сыворотки молока человека содержат три основные катионные фракции: высокоподвижные и наиболее активные, которые соответствуют по подвижности лизоциму, фракции со средней подвижностью, которые соответствуют подвижности альфа-лактальбумина и высокомолекулярные низкоподвижные фракции, соответствующие по подвижности высокомолекулярным белкам, таким как лактоферрин, лактопероксидаза, миелопероксидаза.

Сравнивая препараты молока и сыворотки молока человека мы определили, что концентрация дефенсинов, лактоферрина, лактопероксидазы и миелопероксидазы в молоке значительно выше, чем в сыворотке, а концентрация лизоцима в сыворотке молока и молоке примерно одинакова.

При анализе зрелого молока человека методом иммуноблоттинга было показано наличие низкомолекулярных белков - дефенсинов в менее подвижной катионной фракции, что косвенно говорит о возможности существования комплексов этих белков с другими белками молока. Для наиболее полного извлечения белков и пептидов была проведена экстракция цельного молока человека в растворе высокой ионной силы, затем отделение нерастворимой фракции центрифугированием с последующим обессоливанием. В ходе обессоливания часть белков выпала в осадок. При анализе осадка методом электрофореза и «дот»-иммуноферментного анализа в нем выявляли белки и пептиды, что указывает на способность их к образованию комплексов.

ВЛИЯНИЕ ПОВЫШЕННОГО УРОВНЯ ГОМОЦИСТЕИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ НА МЕТАБОЛИЗМ МИТОХОНДРИЙ СЕРДЦА КРЫС

Медведев Д.В.

Научный руководитель: Звягина В.И., кандидат биологических наук, доцент.

ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России

Повышение уровня гомоцистеина в крови является фактором риска развития атеросклероза, ишемической болезни сердца, артериальной гипертензии и некоторых других заболеваний сердечно-сосудистой системы. Таким образом, сердце является одним из органов, наиболее чувствительных к увеличению содержания этой аминокислоты. Имеются данные о том, что

высокие концентрации гомоцистеина вызывают митохондриальную дисфункцию. Нарушение функционирования митохондрий с одной стороны является звеном патогенеза атеросклероза сосудов, с другой – может напрямую вызывать повреждение органов. Механизмы развития и особенности митохондриальной дисфункции, вызываемой повышенной концентрацией гомоцистеина, не ясны. Их изучение поможет расширить представления о механизмах повреждения органов и тканей под действием гомоцистеина.

Материалы и методы. Исследование проводилось на 12 половозрелых крысах-самцах линии Wistar массой 250-350 г. Крысы были разделены на 2 группы. Первой (контрольной) группе (n=6) 2 раза в день ежедневно в течение 14 суток вводился 10% раствор Твина-80, приготовленный с добавлением 1% крахмала. Второй группе (n=6) 2 раза в день ежедневно в течение 14 суток вводилась суспензия метионина в дозе 1,5 г метионина/кг массы тела крысы. В сыворотке крови определяли содержание общего гомоцистеина с помощью набора для иммуноферментного анализа производства «Axis shield». Ткань сердца гомогенизировали и методом дифференциального центрифугирования выделяли митохондрии. В митохондриях спектрофотометрически определяли содержание лактата, общего белка и активность α -гидроксibuтиратдегидрогеназы (суммарную активность лактатдегидрогеназы 1 и 2), сукцинатдегидрогеназы и H^+ -АТФ-азы.

Для определения достоверности различий между независимыми группами использовали критерий Манна-Уитни.

Результаты и их обсуждение. Уровень общего гомоцистеина сыворотки крови крыс, получавших метионин, превосходил соответствующее значение контрольной группы на 56,7% (на 3,9 мкмоль/л, $p=0,02$). У крыс с повышенным уровнем гомоцистеина наблюдалось увеличение содержания в митохондриях лактата (на 122%, $p=0,02$), снижение активности α -гидроксibuтиратдегидрогеназы (на 51,8%, недостоверно), сукцинатдегидрогеназы (на 68%, $p=0,02$) и H^+ -АТФ-азы (на 24,3%, $p=0,02$).

Выводы. Повышение уровня общего гомоцистеина в сыворотке крови на 3,9 мкмоль/л приводит к выраженному нарушению функционирования митохондрий клеток сердца, сопровождающемуся накоплением лактата и снижением активности ферментов, участвующих в энергетическом обмене.

ДИНАМИКА ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТАХ ТЕРАПИИ НЕСТАБИЛЬНОЙ СТЕНОКАРДИИ В СОЧЕТАНИИ С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

Минин В.В., Ибрагимов М.С., Гаврилов И.В., Жарков С.В.,
Милащенко А.И., Мороз Г.А., Козлов П.А.

Научные руководители: д.м.н., профессор А.Н. Андреев, д.м.н.,
профессор В. Н. Мещанинов

ГБОУ ВПО Уральский государственный медицинский университет
Минздрава России, ЦГКБ №24,

ГБУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»,

г. Екатеринбург, Россия

Поиск альтернативных возможностей терапии нестабильной стенокардии при наличии у пациента другой соматической патологии: метаболического синдрома, ХОБЛ и др. является актуальной задачей. Перспективным представляется назначение ивабрадина при наличии противопоказаний к лечению бета-адреноблокаторами, однако метаболические эффекты различных схем с использованием этого препарата не изучены.

Цель работы. Выявление динамики лабораторных показателей при различных вариантах терапии нестабильной стенокардии в сочетании с метаболическим синдромом с использованием ивабрадина.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 37 пациентов. Первая группа – ивабрадин (среднесуточная дозировка 12 мг), вторая группа – ивабрадин+метопролола тартрат, третья группа – стандартная терапия. Биохимические показатели изучали иммуноферментным методом (Chem Well, Awareness Technology, США) с использованием наборов реактивов «R&D»(Англия). Исследовалась хемилюминесценция (люминометр - фотометр Lucy 3 Anthos Labtec Instruments, США). Статистическая обработка - в программе Statistic 6.0.

Результаты. В группе ивабрадина по сравнению с исходным уровнем происходило повышение содержания мочевины на 48% ($p<0,001$), хемилюминесценция плазмы увеличилась на 34,4% ($p<0,001$), что мы расцениваем как неблагоприятное действие препарата. В группе «ивабрадин+метопролола тартрат» среди позитивных эффектов отмечались достоверные: гиполипидемия, гипохолестеринемия и снижение концентрации мочевой кислоты. Несколько снижалась хемилюминесценция. В группе стандартной терапии наблюдалась гипертриглицеридемия ($p<0,05$), гиперлактацидемия ($p<0,001$) и гиперурикемия ($p<0,01$).

Заклучение. Совместное применение ивабрадина и метопролола тартрата с метаболических позиций является наиболее оптимальным.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДЕЙСТВИЯ КАЛЬЦИЙ-МАГ НА МЕТАБОЛИЗМ КОСТНОЙ ТКАНИ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ХЛОПРОИЗВОДНЫМИ АЛИФАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ

Меньшикова И.А., Бикметова Э.Р., Камиллов Ф.Х.,

Иванова Г.В., Фаршатова Е.Р.

Научный руководитель – Камиллов Ф.Х., д.м.н., профессор

ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава РФ, г. Уфа

Ранее проведенные нами исследования показали, что у работников химического предприятия, имеющих производственный контакт с хлорпроизводными низкомолекулярных углеводов (дихлорэтан, хлорвинил, хлорпропан, хлорпропен и др.) выявляется в 1,5-2 раза чаще развитие остеопенического синдрома, чем в общей популяции. Эксперименты с интоксикацией дихлорэтаном позволили установить, что остеоотоксические эффекты хлорированных углеводов обусловлены развитием в костной ткани окислительного стресса и снижением продукции гормонов, стимулирующих остеогенез [Ф.Х. Камиллов, И.А. Меньшикова и др., 2008; 2009, 2010]. Среди факторов риска развития остеопороза особое внимание привлекает низкое поступление кальция в организм и адекватное обеспечение организма кальцием с повышением его биодоступности, что является одним из основных способов профилактики нарушений костного обмена. Нанодисперсная аморфная форма глюконата кальция (Кальций-Маг) разработана с целью повышения биодоступности кальция (патент на изобретение РФ №2373185 от 20.11.2009г.).

Цель работы. Оценить эффективность применения Кальций-Маг на метаболизм костной ткани экспериментальных животных при хронической интоксикации дихлорэтаном.

Результаты. У крыс при хронической интоксикации дихлорэтаном (ДХЭ) наблюдалось нарушение метаболизма костной ткани с интенсификацией процессов катаболизма: повышение активности С-концевого телопептида коллагена типа I и свободного оксипролина, нарушение кальций-фосфорного обмена. В костной ткани крыс при интоксикации ДХЭ повышались показатели интенсивности радикалообразования, обнаруживаемые методом железоиндуцированной хемилюминесценции, наблюдалось накопление продуктов липопероксидации (первичных и вторичных продуктов ПОЛ, ТБК-реагирующих соединений). Общая антиокислительная активность и активность основных ферментов антиоксидантной защиты костной ткани при длительном поступлении малых доз ДХЭ снижались.

Введение подопытным животным препарата кальций-МАГ в дозе 253мг/кг на фоне интоксикации дихлорэтаном при хронической

интоксикации хлорпроизводными алифатических углеводов (дихлорэтаном) способствует нормализации показателей кальциевого обмена, снижению деструкции костной ткани, восстановлению баланса костной резорбции и остеогенеза и препятствует развитию остеопороза и остеопении.

СОДЕРЖАНИЕ КАТЕХОЛАМИНОВ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ ПЛОДОВ И НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫСЯТ, РАЗВИВАЮЩИХСЯ В УСЛОВИЯХ НАРУШЕННОГО МАТОЧНО-ПЛАЦЕНТАРНОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

Мешкова Е.М. Томилова И.К. д.м.н., доцент ГБОУ ВПО ИвГМА
Минздрава России

В настоящее время достоверно установлено, что антенатальная гипоксия способствует формированию психомоторных и неврологических заболеваний у детей. Функционирование центральной нервной системы (ЦНС) обеспечивается согласованной работой различных нейромедиаторных и нейромодуляторных систем, в том числе и катехоламинергической. Однако информация о влиянии хронической внутриутробной гипоксии на нейрональный обмен катехоламинов (КА) практически отсутствует. В связи с этим, целью исследования явилось определение содержания КА в головном мозге плодов и новорожденных крысят, развивавшихся в условиях нарушенного маточно-плацентарного кровообращения. Экспериментальная модель нарушения маточно-плацентарного кровообращения была воспроизведена на белых беспородных беременных крысах по методике М.М.Вартановой. Плоды (21 день гестации) и новорожденные крысята (на 2-е сутки после рождения), развивавшиеся в условиях недостаточности маточно-плацентарного кровотока были отнесены к опытной группе, без нарушения - к контрольной группе. Содержание КА в гомогенатах головного мозга плодов и новорожденных крысят определялось методом иммуноферментного анализа. Статистическая обработка была проведена по общепринятым методикам параметрической и вариационной статистики. Достоверность различий рассчитывалась по критерию Стьюдента. Результаты исследования показали достоверное увеличение содержания всех КА в опытной группе плодов по сравнению с контролем, причем в большей степени повысился уровень норадреналина (НА) и дофамина (ДА) (на 41% и 45% соответственно, $p \leq 0.05$), а концентрация адреналина (А) изменялась незначительно (на 7%, $p \leq 0.05$). В головном мозге опытных новорожденных повышение содержания А (на 25%, $p \leq 0.01$) и НА (на 14,5%, $p \leq 0.05$) сопровождалось снижением уровня ДА (на 11,06%, $p \leq 0.05$). Выявленное значительно более низкое содержание А в обеих группах подтверждает, что именно ДА и НА выполняют медиаторную функцию в ЦНС.

Обнаруженные изменения содержания КА в головном мозге при хронической гипоксии, с одной стороны, могут быть следствием увеличения активности ферментов их синтеза, как проявления адаптационной реакции нейронов на стресс. С другой стороны, выявленное смещение баланса КА в сторону возбуждающих и сосудосуживающих нейромедиаторов, может носить патогенетический характер, усугубляя гипоксическое повреждение ЦНС.

ГИДРОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МИКРОМИЦЕТА TRICHODERMA REESEI

Морозова Ю.А.

к.б.н. Скворцов Е.В., проф., д.б.н. Алимова Ф.К.

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»

Грибы рода *Trichoderma* являются продуцентами комплекса гидролитических ферментов – ксиланаз, целлюлаз, протеаз, глюкеназ и обладают высокой секреторной способностью. Указанные свойства делают ферменты штаммов *Trichoderma* универсальными для применения во многих биотехнологических процессах. Между тем, при производстве спирта из зерна получается довольно большое количество отработанной массы (послеспиртовой барды) прошедшего ферментацию зернового сырья, из которого путем дистилляции извлекается алкоголь. Барда содержит различные питательные компоненты: белки, жиры, углеводы, витамины. Также существует отход молочного производства – молочная сыворотка, содержащий лактозу, по данным литературы, являющуюся индуктором синтеза гидролитических ферментов. В связи с перечисленными свойствами, потенциально, эти отходы могут являться средой для культивирования микроорганизмов и получения ферментов.

Проведены культивирования микромицета *Trichoderma* на отходах спиртового и молочного производств - послеспиртовой барде и молочной сыворотке для определения ряда ферментативных активностей.

На исследуемых отходах у штамма *T. reesei* выявлена ксиланазная и целлюлазная активность. Динамика накопления ксиланаз показала, что максимальная активность, наблюдалась на 4 сутки культивирования и составляла 500 IU/ml на барде и 300 IU/ml на сыворотке. Динамика изменения активности целлюлаз в течение 7 суток роста показала, что максимальная активность наблюдалась на 6 сутки культивирования и составляла 0,5 FPU/ml на молочной сыворотке и 2 FPU/ml на послеспиртовой барде.

Исследование изменения концентрации редуцирующих сахаров в культуральной жидкости в процессе ферментации продуцента показало, что содержание редуцирующих сахаров снижается на протяжении всего процесса. В начале культивирования концентрация сахаров составляла в среднем 6,5 г/л к концу процесса – 1,1 г/л.

Таким образом, результаты исследования показали, что послеспиртовая барда является наиболее эффективной средой для биосинтеза ксиланаз и целлюлаз грибом *Trichoderma*. Ксиланазная и целлюлазная активности выше при культивировании на спиртовой барде, чем при культивировании на молочной сыворотке на 40 и 75% соответственно.

РОЛЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА ИНТЕГРИНА БЕТА 2 В ГАЗООБМЕНЕ КЛЕТОК ЛЕГКИХ МЫШИ

Мухаметшина Р.Т., Мехта А., Прайснер К.Т., Баррето Г., Багаева Т.В.

Аннотация

Проведено исследование влияния экспрессии гена интегрин *Itgb2* в клетках легких мыши на нормальное функционирование клеток организма животного. Эксперименты проводились на мышах дикого типа (C57BL/6) и мышах, у которых методом нокаута был ингибирован ген, ответственный за синтез интегрин *Itgb2* (*Itgb2*^{-/-}). Обнаружено, что у нокаутных мышей наблюдается достоверное снижение потребления кислорода по сравнению с мышами дикого типа, несмотря на видимое отсутствие морфологических изменений, как на уровне самого организма, так и на образцах гистологических срезов легких. Снижение потребления кислорода у нокаутных мышей приводит к количественному разобщению между процессами потребления кислорода и количеством выдыхаемого углекислого газа, что при длительном развитии организма животного может привести к возникновению необратимых изменений в клетках легкого. Полученные результаты свидетельствуют о том, что изучаемый нами интегрин *Itgb2* участвует в процессе газообмена легких.

Ключевые слова: интегрины, газообмен, легкие мыши

Введение

В настоящее время в исследованиях белковых структур многих органов человека и животных особое внимание уделяется интегринам. Интегрины это трансмембранные гетеродимерные белки, которые часто называют клеточными рецепторами, поскольку многие из них проявляют сродство к гликопротеидам базальной мембраны, и внеклеточного матрикса [1].

Структурно интегриновые рецепторы состоят из одной альфа- и одной бета-субъединицы. У млекопитающих известно 19 альфа- и 8 бета-субъединиц. Кроме того, альтернативный сплайсинг позволяет создать разнообразие комбинаций субъединиц, что увеличивает количество димеров. У человека описано 18 альфа- и 8 бета-субъединиц, при этом каждая альфа-субъединица образует комплекс только с определённым набором бета-единиц, что в итоге образуется 24 варианта димеров [2]. Каждый гетеродимер состоит из многочисленных внеклеточных доменов, которые связывают протеины во внеклеточной среде.

Разнообразие вариантов интегринов позволяет играть им значительную роль в функционировании клеток. Они способны передавать различные межклеточные сигналы, от них зависит форма клетки, её подвижность, они участвуют в регуляции клеточного цикла ряда клеток. Значительную роль интегрины выполняют в опухолевых клетках [3]. Так, избыток экспрессии генов интегринов при меланоме, плоскоклеточном раке полости рта, носоглотки гортани или отсутствие некоторых интегринов при раке молочной железы, раке предстательной железы, раке толстой кишки тесно связаны со степенью злокачественности опухоли [4]. В литературе имеются данные, что взаимодействие некоторых интегринов с белками внеклеточного матрикса в некоторых случаях препятствует апоптозу. С другой стороны, нейтрализация альфа (ню)-бета3-интегрина антителами, напротив, способствует апоптозу. Удаление некоторых интегринов, например, интегрина 1, приводит к летальному исходу у животных [5]. При этом известны работы, демонстрирующие обратную сторону функционирования интегринов, как антиопухолевых агентов [6].

Таким образом, нормальное функционирование клеток зависит от определенного набора интегринов. Однако зависимость нормального функционирования клеток от экспрессии отдельных интегринов изучена недостаточно.

Настоящая работа посвящена изучению роли экспрессии гена интегрина Itgb2 в клетках легких мыши.

Материалы и методы

В работе использовали 5-6 недельных мышей двух видов: мыши дикого типа (WT, C57BL/6) были получены из лаборатории Чарльза Ривера и мыши, с нокаутом гена интегрина бета 2 ($\beta 2$ Integrin-deficient), были получены из лаборатории кафедры Дерматологии и аллергических заболеваний Медицинского факультета Университета Ульма (Баден-Вюртемберг, Германия), которые предварительно выдерживали до 7-8 недель в контролируемых условиях, согласно принципам международных норм. Животных содержали при температуре 23-25°C и освещении (12/12-часовом

цикле света / темноты). Коммерческие корма и воду давали по желанию. В эксперименте использовали мыши в трех повторностях.

В опыте визуально контролировали изменения поверхностных тканей и органов мышей, а также определяли изменения набора веса животными.

Для определения физиологических изменений мыши дикого типа и мыши с удаленным геном *Itgb2*^{-/-} были анестезированы при помощи препарата Isofluran (Germany). Для удаления кровяных клеток из легких была выполнена перфузия через сердце с помощью натрий-фосфатного буфера (PBS).

Внутренние изменения структуры легких определяли визуально и с помощью анализа гистологических препаратов, которые анализировались с помощью электронного микроскопа Leica CTR 6000 [7].

Изменения основных физиологических особенностей легких, а именно изменения в обмене кислородом и углекислым газом через дыхательные мембраны, анализировались в аппарате Flexivent (США), позволяющим по изменению парциального давления мембран клеток легких, определить их нормальное функционирование или патологические сдвиги. Анализ проводили в течение 5 минут при комнатной температуре.

Результаты и обсуждение

Для изучения роли экспрессии гена интегрина *Itgb2* в клетках легких мыши были проведены опыты на мышах дикого типа (C57BL/6) и мышах, у которых методом нокаута был ингибирован ген, ответственный за синтез интегрина *Itgb2* (*Itgb2*^{-/-}).

Из данных литературы известно, что нокаут генов отдельных интегринов приводит к серьезным морфологическим и физиологическим изменениям в организме человека и животного [8], поэтому первоначально в течение 2-х недель были проведены исследования по контролю изменения поверхностных тканей и органов мышей и изменению набора веса животными (табл.1).

Таблица 1. Характеристика весового прироста мышей дикого типа и нокаут мышей

Время эксперимента	Средний вес мышей различного типа, г	
	Дикий тип (WT, C57BL/6)	Нокаут <i>Itgb2</i> ^{-/-}
5 недель	17,6 ±1,2	19,0 ±1,0
6 недель	18,3 ±1,2	19,5 ±1,3

7 недель	19,0 ±1,4	20,4 ±1,5
8 недель	22,8 ±1.5	23,0 ±1,6

Результаты исследований показали, что, как дикий тип мыши, так и нокаут мыши, нормально развивались, были подвижны и набирали вес. Не было отмечено значительных весовых отличий и изменений в поведении мышей изучаемых видов.

Интегрин 2 у животных и человека синтезируется в различных органах, но мы сосредоточили свое внимание на легких, поскольку значительный процент онкологических заболеваний связан именно с данным органом. В исследованиях основное внимание было уделено анализу структуры самих легких и легочной ткани (рис.1-2).

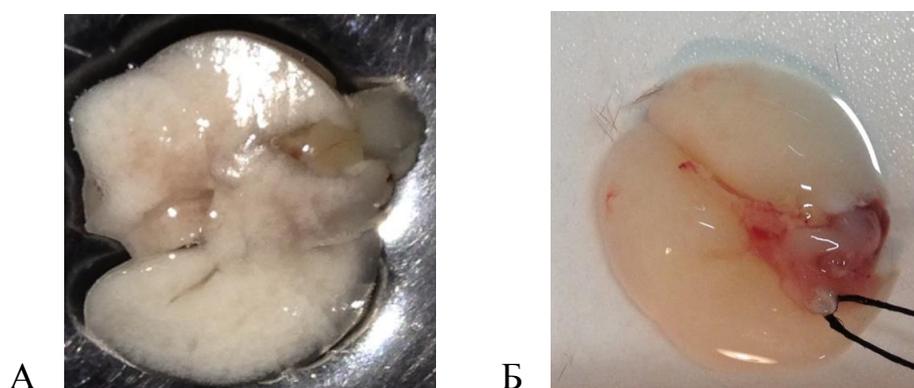
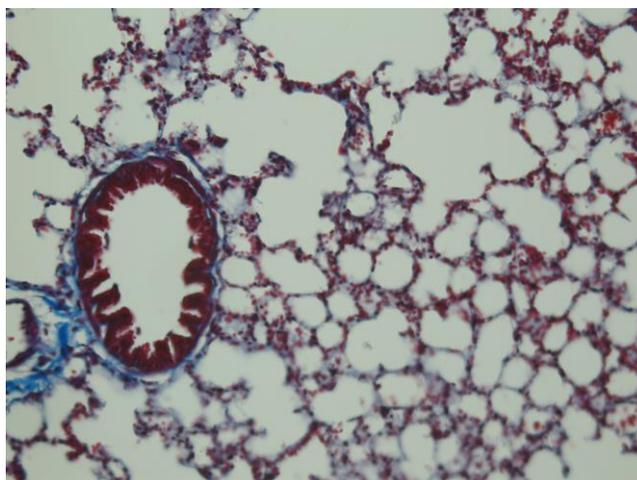


Рис.1. Внешний вид легких мышей: А. Легкие мыши дикого типа ; Б. Легкие мыши с удаленным геном *Itgb2*^{-/-}.

А.



Б.

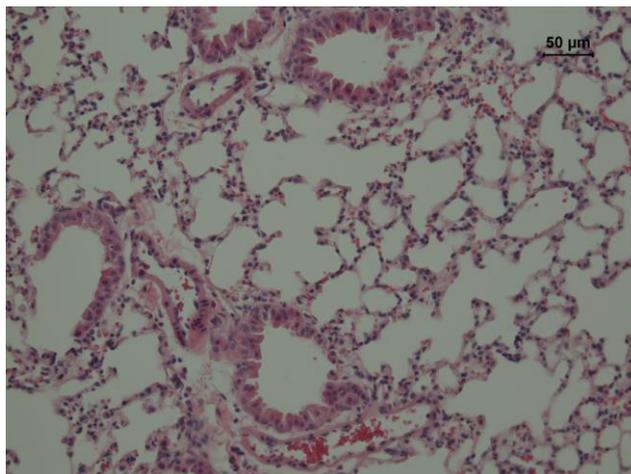


Рис.2. Гистологические срезы легких мышей: А .Легкие мыши дикого типа ,
Б.Легкие мыши с удаленным геном *Itgb2*^{-/-}.

Из представленных на рисунках фотографий легких мышей дикого типа и мышей *Itgb2*^{-/-} видно, что как визуально, так и гистологически они мало отличаются друг от друга. Во внешнем виде легких можно отметить, что они не нарушены и имеют идеально белый цвет. На гистологических срезах видны бронхиолы, газовые пузырьки, на поверхности которых имеются альвеолярные клетки. Однако и на данных фотографиях не было отмечено значительных различий между диким и нокаутным типом мышей.

Таким образом, по морфологическим признакам мыши подвергнутые нокауту не отличались от мышей дикого типа.

Основной функцией легких является газообмен, который связан с поступлением кислорода и выделением углекислого газа. В клетках легких в норме функционируют два основных процесса: альвеолярная вентиляция и альвеолярно-капиллярный кровоток. Обмен кислорода и углекислого газа через дыхательные мембраны, создают определенное давление, которое, как правило, в норме, составляет 104 мм рт., данный уровень находится между вдыхаемым воздухом (149 мм рт.ст.) и венозной кровью (40 мм рт.ст.).

Анализируя физиологические изменения в функционировании легких животных было показано, что, несмотря, на отсутствие морфологических отличий в легких, концентрация вдыхаемого кислорода для мышей дикого типа была достоверно выше, чем у мышей нокаута (рис.3).

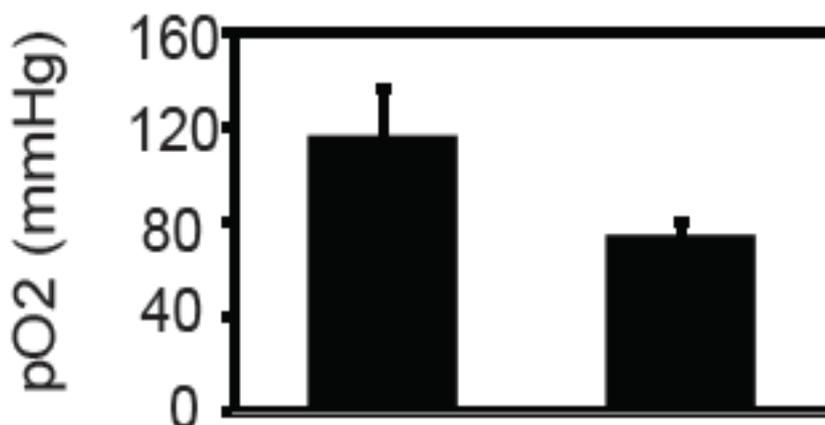


Рис.3. Измерения потребления кислорода клетками мышей легких: 1 – мыши дикого типа (WT, C57BL/6); 2 – нокаут мыши (Itgb2^{-/-}).

Однако, по количеству выдыхаемого углекислого газа достоверного отличия между мышами дикого типа и мышами с выключенным геном Itgb2^{-/-} не наблюдалось (рис.4).

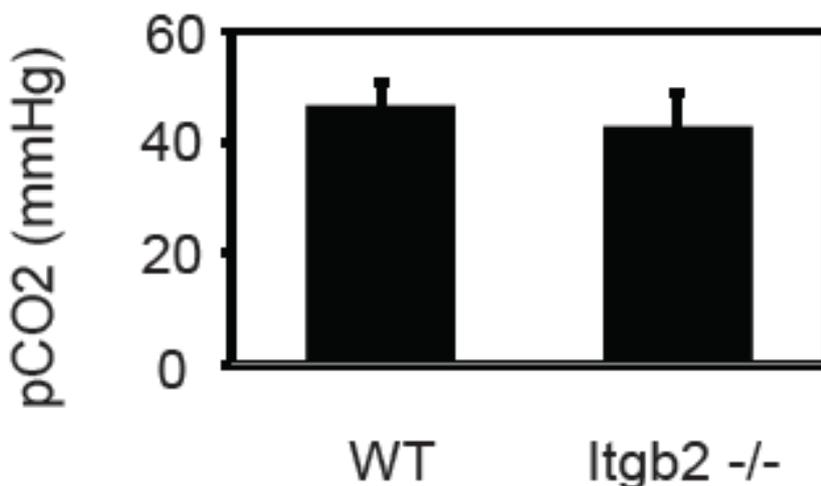


Рис.4. Измерения выделения углекислого газа клетками мышей легких: 1 – мыши дикого типа (WT, C57BL/6); 2 – нокаут мыши (Itgb2^{-/-}).

Таким образом, по результатам экспериментов можно сказать, что в клетках нокаутных мышей наблюдается количественное разобщение между процессами потребления кислорода и количеством выдыхаемого углекислого газа. Можно предположить, что наблюдаемый сдвиг в потреблении кислорода приводит к угнетению окислительных процессов, что приведет в дальнейшем к нарушению функции и структуры различных органов и систем животного.

Заключение

Анализируя полученные нами результаты можно сказать, что отсутствие экспрессии Интегрина 2 в легких мышей, не оказывает значительного влияния на функционирование молодого организма мыши. Однако, снижение потребления кислорода в 1,5-2,0 раза у нокаутных мышей, приводит к количественному разобщению между процессами потребления кислорода и количеством выдыхаемого углекислого газа, что при длительном развитии организма животного может привести к возникновению необратимых изменений в клетках легкого. Нарушения газообмена при патологии внешнего дыхания могут быть обусловлены снижением проницаемости альвеолярно-капиллярных мембран для газов (диффузионная недостаточность), недостаточным обменом воздуха в альвеолах при их сниженной или неравномерной вентиляции (вентиляционная недостаточность), а также нарушением вентиляционно-перфузионных отношений. Диффузионная дыхательная недостаточность из-за значительных различий в диффузии O_2 и CO_2 через альвеолярно-капиллярные мембраны может приводить к выраженной гипоксемии. Такое нарушение газообмена характерно для диффузных легочных фиброзов и гранулематозов различной этиологии, иногда наблюдается при раковом лимфангиите легких [9-11].

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что изучаемый нами интегрин Itgb2 участвует в важнейших процессах газообмена легких.

Литература

1. Srichai M.B., Zent R. Integrin Structure and Function / Cell-Extracellular Matrix Interactions in Cancer.- Department of Medicine, 2010.-P.19-41.
2. Hynes O.R. Integrins: Bidirectional, Allosteric Signaling Machines // Cell.- 2002.-V.110.-P. 673–687.
3. Jin H., Varner J. Integrins: roles in cancer development and as treatment targets //British Journal of Cancer.-2004.-V.90.-No3.-P.561 – 565.
4. Mercurio A.M., Bachelder R.E., Chung J., O'Connor K.L., Rabinovitz I., Shaw L.M., Tani T. Integrin laminin receptors and breast carcinoma Progression // J. Mammary Gland Biol. Neoplasia.- 2001.-V.6.-P. 299–309.
5. Fassler R., Meyer M. Consequences of lack of beta 1 integrin gene expression in mice //Genes Dev.-1995.-V.9.-No15.-P. 1896-1908.

6. Kerr J.S., Slee A.M., Mousa S.A. The alpha v integrin antagonists as novel anticancer agents: an update // *Expert Opin Investig Drugs*.- 2002.- V.11.-P. 1765–1774.

7. Ramos D.M., But M., Regezi J., Schmidt B.L., Atakilit A., Dang D., Ellis D., Jordan R., Li X. Expression of integrin beta 6 enhances invasive behavior in oral squamous cell carcinoma // *Matrix Biol*.- 2002.- V. 21.-P. 297–307.

8. Huang X., Wu J., Zhu W., Pytela R., Sheppard D. Expression of the Human Integrin b6 Subunit in Alveolar Type II Cells and Bronchiolar Epithelial Cells Reverses Lung Inflammation in b6 Knockout Mice//*Am. J. Respir. Cell Mol. Biol*.- 1998.-V.19.- P. 636–642.

9. Агаджанян Н.А., Елфимов А.И. Функции организма в условиях гипоксии и гиперкапнии.- М.:Медицина, 1986.-272с.

10. Вторичная тканевая гипоксия /под ред. А.З. Колчинской.- Киев:Наукова думка,1983.-255с.

11. Лосев Н.И., Хитров Н.К., Грачев С.В. Патопфизиология гипоксических состояний и адаптации организма к гипоксии.- М.:Медицина, 1982.-117с.

АНАЛИЗ МИКРОБНОЙ ДЕСТРУКЦИИ СТАРОТАТАРСКИХ РУКОПИСЕЙ

Надеева Г.В., Яковлева Г.В.

Руководитель: Усманова Д.М., д.и.н., профессор
Казанский (Приволжский) Федеральный Университет

Старинные татарские арабографические рукописи, собранные во время археографических экспедиций и хранящиеся в ОРРК НБЛ КФУ относятся к наиболее ценным раритетам национального достояния. Длительное хранение в неблагоприятных условиях, органическая природа материалов, из которых изготовлены рукописи, способствовали их активной биологической деструкции. Микробиологические исследования древних книг, в том числе рукописных памятников, проводятся в книгохранилищах всего мира [Michaelsen et al., 2010; Лаврентьева, 2000]. Колонизация и биодеструкция книг осуществляется консорциумом микроорганизмов, обязательными участниками которого являются целлюлозолитические организмы, использующие целлюлозу как питательный субстрат и переводящие его в низкомолекулярные и неорганические формы, доступные для других микроорганизмов. Предполагается, что ключевую роль в биодеградации целлюлозы играют различные микроскопические грибы [Zotti, Ferroni, 2008].

Целью работы был микробиологический анализ татарских арабографических книг из фонда ОРРК НБЛ КФУ. Был проведен количественный и качественный анализ микроорганизмов, высеваемых с поверхности бумаги и переплетов различных рукописей. С использованием классических микробиологических методов было выявлено микробное

сообщество, состоящее, главным образом, из микромицетов и спорообразующих бактерий, многие из которых целлюлозоразрушающие. Изоляты микромицетов были идентифицированы до родовой принадлежности. Результаты наших исследований показали, что наибольшей целлюлазной активностью обладали микромицеты, относящиеся к р. *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, что согласуется с данными литературы. Небольшое видовое разнообразие выделенных микроорганизмов свидетельствует о необходимости применения более широкого спектра питательных сред и современных методов индикации некультивируемых форм микроорганизмов.

Работа выполнена в рамках проекта РФФИ № 13-06-97069-р.

1. Лаврентьева Е.В. Микроорганизмы – деструкторы старомонгольских рукописей и ксилографов. // Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук.- Улан-Батор. 2000.

2. Michaelsen A., Pinar G., Pinzari F. Molecular and microscopical investigation of the microflora inhabiting a deteriorated Italian manuscript dated from the thirteenth century. // *Microb. ecol.*, 2010, V. 60, P. 69–80.

3. Zotti M., Ferroni A, Salvini P. Microfungal biodeterioration of historic paper: Preliminary FTIR and microbiological analyses. // *International Biodeterioration & Biodegradation* 2008, V. 62, 2, P. 186–194.

МЕТОД ПОВЕРХНОСТНОГО ПЛАЗМОННОГО РЕЗОНАНСА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕЖМОЛЕКУЛЯРНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ

Назарова Анна Ивановна, к. ф.-м. н.
ЗАО Найтек Инструментс, г. Долгопрудный

Метод поверхностного плазмонного резонанса (англ. Surface plasmon resonance, ППР) является современным высокочувствительным методом анализа биомолекулярных взаимодействий, не требующим введения меток.

Плазмонный резонанс — возбуждение поверхностного плазмона на его резонансной частоте внешней электромагнитной волной. Метод ППР использует функционализированный с помощью поверхностной химии биосенсор, на котором иммобилизованы молекулы лиганда. По поверхности биосенсора пропускают раствор аналита. Взаимодействия между лигандом и аналитом приводит к изменению характеристик поверхностного плазмона, которые выражаются в изменении резонансного угла. Это проявляется в изменениях яркости областей иммобилизации, детектируемых с помощью камеры ПЗС. По изменению резонансного угла определяют кинетические зависимости. Метод ППР позволяет определять константы связывания и диссоциации биомолекул, в режиме реального времени отслеживать

кинетику реакции связывания (образования молекулярного комплекса), изменения концентрации, проводить молекулярное распознавание веществ.

Метод визуализации ППР позволяет одновременно исследовать более 100 различных типов молекул на одном биосенсоре (более 100 сенсограмм параллельно). Метод позволяет работать с любыми типами биомолекул: пептидами, белками, ДНК, РНК, полисахаридами, низкомолекулярными кофакторами и т.д. Чувствительность метода позволяет работать с малым количеством реагентов. Можно также использовать высококонцентрированные растворы без разбавления (например, плазму крови).

Метод ППР может быть совмещен с методом масс-спектрометрии с МАЛДИ ионизацией, что принципиально важно в научных исследованиях в области протеомики. Метод ППР может использоваться как в научных исследованиях, так и в клинике, для иммунодиагностики и анализа новых лекарственных препаратов.

ТРИПТОФАНИЛ-ТРНК-СИНТЕТАЗА КАК ВАЖНЫЙ ЭЛЕМЕНТ ПЕРСОНИФИЦИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ В АСПЕКТЕ КОНЦЕПЦИИ «ГОРМЕЗИСА»

Нурбеков М.К.¹, Ярыгин Д.В.¹, Елов А.А.¹, Жданов Р.И.²

¹МГГУ им. М.А.Шолохова, Москва, РФ

²Казанский Федеральный университет, Казань, РФ

Аминоацил-тРНК-синтетазы (АРСазы) катализируют реакцию специфического аминоацилирования гомологичной тРНК соответствующей аминокислотой (АК). Исследуемая нами триптофанил-тРНК-синтетаза является наиболее изученным представителем этого класса ферментов. В ходе эволюции АРСазы, вообще, и ТРСаза, в частности, приобрели дополнительные регуляторные функции. Одними из важнейших можно назвать антиангиогенную активность усеченной формы ТРСазы, а также участие в каскаде реакций активации белкового фактора р53 имеющего ключевые функции онкосупрессора. В случае антиангиогенной функции усеченная форма ТРСазы через эффекторный триптофан-связывающий «карман» связывается с е-кадгерином и блокирует процессы ангиогенеза, в случае антионкогенной функции WHER домен ТРСазы, образуя мостик между С-концевым киназным доменом DNA-РКcs и N-доменом PARP-1, стимулирует модификацию DNA-РКcs, а DNA-РКcs киназа способствует фосфорилированию и активации фактора р53. В данном сложном комплексе регуляторных функций ТРСазы остаются открытыми вопросы механизмов переключения между каноническими и неканоническими функциями ТРСазы, а также роль открытой нами ранее активности ТРСазы по синтезу вторичного посредника Ар3А. Не совсем понятна, общая концептуальная

основа столь сложного сочетания регуляторных функций в одном ферменте (ТРСазе). Нами изучен комплекс посттрансляционных процессов регулирующих функции ТРСазы. В течение длительных исследований мы пришли к выводу, что одну из ведущих ролей играют процессы ограниченного протеолиза и связывающийся в важном с регуляторной точки зрения участке фермента («кармане») эндогенный триптофан. Анализ литературы показал второстепенную роль альтернативного сплайсинга (АС) в данных процессах. В результате длительных исследований закономерностей экспрессии ТРСазы на уровне белка и РНК, а также сравнительный анализ степени экспрессии ТРСазы и ряда связанных с ним регуляторных генов (в частности, PGC-1 alpha) в системах *in vivo* и *in vitro*, с параллельным изучением путей модуляции активности генов при действии оригинальных адаптогенных и иммуностимулирующих препаратов позволил выдвинуть концепцию участия ТРСазы в каскадах реакции «гормезиса» в комплексе с обеспечивающими «гормезис» витагенами.

ИНДУКЦИЯ ЭКЗОМЕТАБОЛИТАМИ *CLAVIBACTER MICHIGANENSIS* SSP. *SEPEDONICUS* СИСТЕМНОЙ ПРИОБРЕТЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ

Омеличкина Ю.В., Солдатенко А.С., Бояркина С.В., Шафикова Т.Н.

Руководитель: Шафикова Т.Н. к.б.н., с.н.с. лаб. Фитоиммунологии
Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН Иркутск, ул.
Лермонтова, 132, 664033. e-mail: omelichkina@ya.ru

Растения постоянно подвергаются агрессивному действию различных фитопатогенов. Выживают растения благодаря наличию иммунной системы – способности своевременно распознать инфекционный агент и активировать защитные реакции. Двухуровневая иммунная система, включающая неспецифический и рассоспецифичный эффектор-активируемый иммунитет, активируется при несовместимых взаимоотношениях. Эффекторы, продукты Avr-генов патогенов, распознаются растительными рецепторами, продуктами генов устойчивости. Для такого типа иммунитета характерна реакция сверхчувствительности (СЧ) – локальная гибель клеток в месте инфицирования, которая может сопровождаться развитием неспецифической системной приобретенной устойчивости растения (СПУ) к последующему инфицированию.

Цель работы – изучение способности экзометаболитов возбудителя кольцевой гнили картофеля *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* (Cms) вызывать СПУ у растений табака *Nicotiana tabacum*. Ранее нами было показано, что инокуляции в лист табака бактерий Cms вызывает развитие реакции СЧ и сопровождается СПУ. В данной работе проверялось, будет ли бактериальная суспензия лишенная клеток (cell free culture filtrate) CF, содержащая экзометаболиты Cms, а также бактериальная суспензия Cms обезвреженная автоклавированием (dead culture) DC, вызывать подобные

реакции. Было показано, что инокуляция CF Cms, а также DC Cms в равной степени вызывают развитие локальных некрозов в месте инокуляции на листьях, а также на корнях растений табака *in vitro* – при инокуляции CF и DC Cms в прикорневую зону. Во всех случаях индукция СЧ сопровождалась развитием долговременной СПУ к широкому ряду патогенов, в том числе к нетипичному для растений патогену человека и животных *Escherichia coli*. Таким образом, активация системной устойчивости растений происходит не только при непосредственном контакте с патогеном, но и при восприятии экзометаболитов бактерий. Кроме того, действие экзометаболитов, по-видимому, сохраняется и после продолжительной термической обработки. Практический интерес представляет проверить, оказывают ли схожее действие экзометаболиты Cms на растения картофеля – природного хозяина данного фитопатогена. Изучение возможности искусственной индукции СПУ с помощью безопасных в биологическом отношении метаболитов фитопатогенов может иметь колоссальное значение для сельского хозяйства и безопасности пищевых продуктов.

ЭВОЛЮЦИЯ ФЕРМЕНТОВ ЛИПОКСИГЕНАЗНОГО КАСКАДА

Осипова Е.В., Гоголев Ю.В.

Гречкин А.Н., д.х.н., акад. РАН

Ключевым ферментом липоксигеназного каскада являются ЛипОксигеназы (ЛО), встречающиеся у многих эукариот и прокариот. В зависимости от типа липоксигеназы, проходит двойное окисление жирной кислоты, несущей 1,4,-*cis,cis*-пентадиенил по (n-2) или (n+2) типу, где n-центр пентадиеновой системы с образованием S-гидроперекиси как основного продукта реакции. В растениях присутствуют ферменты семейства СУР74 цитохромов Р450, катализирующие дальнейшие превращения гидроперекисей с образованием сигнальных молекул. Эти ферменты (АлленОксидСинтазы – АОС, ГидроПероксидЛиазы – ГПЛ и ДивинилЭфирСинтазы – ДЭС) обладают строгим предпочтением либо к 9S-либо к 13S-гидроперекисям (образовавшимся по (n-2) или (n+2) типу соответственно). Совсем недавно появились данные о присутствии ферментов СУР74 в кораллах и ланцетнике. В связи с этим возникает вопрос об эволюции ферментов липоксигеназного каскада в растениях и других организмах.

Проведенный филогенетический анализ липоксигеназ и ферментов СУР74 включал более 1000 аминокислотных последовательностей белков (882 и 256 соответственно) и позволил выявить некоторые закономерности. Так реконструкция филогенетических деревьев показала возможность монофилетического происхождения ЛО животных и растений, а так же их возможного предок, объединяющего последовательности ЛО и фермента

CYP74. Следующий эволюционный этап – потеря последовательности CYP74 ферментов у животных и их сохранение у растений. Показана дивергенция ЛО в соответствии со специфичностью действия у высших растений и млекопитающих. Установлено монофилетическое происхождение 13-АОС и 13-ГПЛ среди ферментов CYP74, 9- и 13-ЛО среди липоксигеназ растений. Показана коэволюция 9-, 9/13- ЛО и 9-, 9/ 13- ферментов CYP74, т.е. (n-2) липоксигеназного пути в растениях. Обнаружено полифилетическое происхождение ДЭС среди ферментов CYP74 растений. Полученные данные подтверждаются ранее проведенными нами работами по сайт-направленному мутагенезу ЛО и ферментов CYP74 растений.

Работа поддержана грантами грантами по государственной поддержке ведущих научных школ Российской Федерации НШ-825.2012.4 и РФФИ 12-04-01140-а.

О ПРИРОДЕ И РОЛИ ОТРИЦАТЕЛЬНОГО АЛЬФА-ЭФФЕКТА В ХИМИИ, БИОХИМИИ И ТОКСИКОЛОГИИ

Офицеров Е.Н., Миронов В.Ф.¹, Калистратова А.В.

Российский химико-технологический университет им. Д.И.Менделеева
(г.Москва)

¹Институт органической и физической химии им. А.Е.Арбузова (г.Казань)

В практическом плане на сегодняшний день метаболомика все ещё остается «новой» областью. Дальнейший прогресс в этой области зависит не только от развития технической базы аналитических методов, как считают многие, но и от знания природы и роли молекул, управляющих образованием метаболитов, в частности, кофакторов, к которым относят и липоевую кислоту (ALA). Безусловно, роль её гораздо шире, и обусловлена она строением молекулы. Почему природа выбрала пятичленный дитиолановый цикл, а не шестичленный или семичленный? Почему многочисленные синтезы аналогов, предпринятые после открытия её защитных свойств, в 50-60 гг прошлого века в Беркли (США) не привели к успеху? Почему "не работают" линейные дисульфиды октановой кислоты?

В природе есть аналоги, содержащие дисульфидные фрагменты ALA – это конотоксины, исследования которых интенсивно развиваются в последние годы и дисульфидные связи которых рассматриваются только в качестве структурирующих реагентов, хотя, как полагаем обоснованно мы, функции их гораздо шире.

Из выше приведенного следует, что и роль дисульфидных связей в белках приуменьшена. Некоторые дисульфидные связи белков могут выполнять функции кофакторов, и для таких белков кофакторы типа ALA не нужны. Эти же белки должны обладать антиоксидантными свойствами. К сожалению, мимо этих уникальных особенностей белков прошли мимо, так как не была известна природа явления.

С другой стороны, непонятной представляется уникальная устойчивость некоторых природных соединений ряда артемизина, содержащих пероксидный фрагмент С-О-О-С, хотя ациклические и ряд циклических аналогов крайне неустойчивы и при нагревании взрываются.

Все эти особенности и много других отклонений от общепринятых воззрений в химии, биохимии и токсикологии объясняются в докладе наличием отрицательного альфа-эффекта, природа которого впервые была детально проанализирована в работе [1] на примере соединений, содержащих Р(III)-S(II)-фрагмент.

В литературе хорошо известен альфа-эффект, когда наличие у нуклеофильного центра или нуклеофила в α -положении гетероатома с неподделенной электронной парой (НЭП) приводит к многократному увеличению до тысяч раз реакционной способности. В частности, эффект наблюдается при гидролизе диизопропилфторфосфата и других отравляющих веществ, когда замена воды или OH^- -аниона на HOO^- или AlkOO^- -анионы и другие подобные нуклеофилы на несколько порядков увеличивает скорость дезактивации отравляющего вещества. Суть альфа-эффекта состоит в увеличивающейся компенсации возникающего положительного заряда на нуклеофильном центре при продвижении по координате реакции в сторону переходного состояния за счет сопряжения с НЭП соседнего атома.

Однако существует большое число соединений, как отмечалось выше, отвечающих исходным требованиям альфа-эффекта, но ведущих себя противоположно. Введение другого атома с НЭП к реакционному центру не увеличивает реакционную способность нуклеофила, и не просто ее понижает, но и в отдельных случаях потенциальный нуклеофил превращается в электрофильный реагент. С точки зрения общепринятых представлений органической и биорганической химии, основанных на электроотрицательности, индуктивных и мезомерных эффектах, такое изменение реакционной способности выглядит абсурдным.

Показателен пример белого фосфора или P_4 , который наряду с PCl_3 является основой промышленной химии фосфорорганических соединений. Замена более электроотрицательных по сравнению с фосфором алкильных заместителей в триалкилфосфине (Alk_3P) на атомы фосфора должна приводить к усилению нуклеофильных свойств атома фосфора. Циклическое

напряжение должно работать в том же направлении. Это констатируют все авторы, однако не приводят примеров, где фосфор в P_4 выступает в качестве нуклеофила [2]. Аналогичная ситуация наблюдается и в случае замены трех алкоксильных групп на менее электроотрицательные атомы хлора при переходе от триалкилфосфитов к треххлористому фосфору. Последний при такой замене полностью теряет свои нуклеофильные свойства и основность.

Причиной уменьшения нуклеофильности и повышения устойчивости являются стереоэлектронные взаимодействия неподеленных электронных пар в исходном состоянии, а не реализация их по пути к переходному состоянию. В этом заключается принципиальное отличие отрицательного альфа-эффекта от положительного или просто α -эффекта.

Кроме качественного описания отрицательного альфа-эффекта в докладе многие примеры представлены и разобраны на количественном уровне, что позволяет наглядно представить последствия стереоэлектронных взаимодействий.

Таким образом, в природе реализуется альфа-эффект, имеющий две составляющие – положительную и отрицательную. Следствием реализации последней является изменение типа реакционной способности с гетеролитической на гомолитическую.

Литература

[1] Офицеров Е.Н. Конкуренция процессов замещения и присоединения в реакциях производных трехвалентного фосфора. Дисс. на соиск. уч. степени д.х.н. Казань. 1990 г.

[2] M.Peruzzini, L.Gonsalvi, A.Romerosa. Chem. Soc. Rev., 2005, 34, 1038-1047.

МЕХАНИЗМЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ БЕЛКОВ СИСТЕМЫ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ С ТРОМБОЦИТАМИ

Пантелеев М.А., Артеменко Е.О., Захарова Н.В., Котова Я.Н., Обыденный С.И., Подоплелова Н.А., Свешникова А.Н., Якименко А.О.

Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН,
Москва ФНКЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии МЗСР РФ,
Москва МГУ им. М.В. Ломоносова

Система гемостаза человека отвечает за остановку кровотечения при ранениях и, вместе с тем, ее нарушения являются ведущей причиной

смертности и инвалидности в современном мире. Она включает в себя два главных звена - клеточное, связанное с агрегацией тромбоцитов крови, и плазменное, определяемое свертыванием крови. Между этими звеньями идут многочисленные взаимодействия, определяющие функционирование системы гемостаза в норме и патологии: активация тромбоцитов тромбином, их агрегация при участии фибриногена, протекание многочисленных мембранно-зависимых реакций свертывания на поверхности тромбоцитов. В последние годы в биохимии взаимодействия белков свертывания крови и тромбоцитов произошли радикальные изменения: были открыты субпопуляции тромбоцитов, драматически отличающиеся по своему участию в мембранных реакциях и агрегационных процессах; были выявлены молекулярные механизмы процессов, определяющих это участие; были получены первые сведения о физиологической значимости деления этих клеток на субпопуляции. Настоящее сообщение будет сосредоточено на обзоре этого прогресса и обсуждении возможных перспектив развития в данной области.

ИССЛЕДОВАНИЕ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ ПИЯВКИ С ПОМОЩЬЮ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ ЗОНДОВ

Пиняев С. И., Максимов Г. В., Ревин В. В., Громова Н. В.

Д.б.н., профессор Ревин В.В.

Мордовский Государственный Университет им. Н. П. Огарева

Флуоресцентные методы с каждым годом все чаще используются исследователями различных областей наук, наблюдается широкое их применение и в биологических науках. Связано это с преимуществами этих методов над другими.

Флуоресцентные исследования внесли существенный вклад в изучение и понимание клеточных и молекулярных механизмов нейронной сигнализации. Несмотря на то, что в настоящее время накоплено большое количество фактического материала о механизмах работы нервной системы и её организации, мы все ещё не можем с уверенностью сказать, что мы знаем все о работе нервной системы. Следовательно, работа в данной области является актуальной на данный момент.

Метод оптического имиджинга на основе системы визуализации IVIS[®] Lumina II использовался нами для неинвазивной прижизненной (*in vivo*) визуализации живых объектов малых размеров с целью изучения их клеточной и тканевой активности в режиме реального времени.

Он использовался для определения интенсивности флуоресценции от целого животного (пиявки) и нервных ганглиев, вызванной специфическими зондами флуоресцеином, хлортетрациклином и нильским красным.

В ходе исследования было выяснено, что зонд флуоресцеин нельзя использовать для картирования внутриклеточных отделов нервной системы пиявки, т.к. он не проникает в полость её организма при инкубации в

растворе зонда. Данный зонд можно применять для диагностики изменений на поверхности живой пиявки или, возможно, для экологического мониторинга её местообитания, так как слизь, которую пиявка выделяет, выполняет защитную функцию, и чем больше загрязнена среда, тем больше животное выделяет слизи.

Так же определено место локализации вышеуказанных специфических зондов в нервной системе пиявки: флуоресцеин - проникая через мембрану клетки, далее распределяется по цитоплазме, связываясь с белковыми молекулами, входящими в её состав. Хлортетрациклин, адсорбируется на клеточной мембране, образуя комплекс с ионами кальция, связанными с биомембранами. Нильский красный, являясь липофильным зондом, связывается с неполярными молекулами, входящими в состав цепочки нервных ганглиев.

В.А. ЭНГЕЛЬГАРДТ И А.А.БАЕВ. НАУКА И ЖИЗНЬ

О.Л. Поляновский

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН,

119991 Москва, ул. Вавилова 32

Настоящее, и тем более будущее общества, зависит от тонкой прослойки людей, являющихся хранителями интеллектуальных и этических традиций. Именно к таким людям относятся Владимир Александрович Энгельгардт и Александр Александрович Баев. Их жизнь и творческая деятельность были связаны в течение 50-ти лет.

В научной жизни В.А. Энгельгардта после краткого по продолжительности периода гражданского самоопределения – службы военврачом в 1-ой Конной армии – можно выделить три основных периода. Первый из них совпал с работой в Казанском университете. Именно здесь он открыл процесс окислительного фосфорилирования, что легло в основу нового направления биологической науки – биоэнергетики. Мировое научное сообщество не отдало в своё время этому открытию должного. Второй период – открытие АТФ-азной активности миозина имеет внутреннюю связь с первым. АТФ, накапливаемый в процессах окислительного фосфорилирования и гликолиза, является топливом для любых биологических двигателей. Третий, наиболее продолжительный этап – синтетическая концепция молекулярной биологии. Владимир Александрович видел молекулярную биологию как молекулярную жизнь клетки. Это прослеживается по структуре созданного им Института: от строения и функционирования биополимеров (нуклеиновых кислот, белков и ферментов) до проблем клеточной биологии. До конца жизни Энгельгардт отличался особым умением отбирать, просеивать идеи и формировать направления. Не признавал линейной экстраполяции, гладкой эволюции,

когда одна и та же тематика могла существовать десятки лет, постепенно загнивая.

Александр Александрович в числе первых в мире установил первичную структуру тРНК, активно участвовал в динамичном развитии молекулярной биологии и генетики, биотехнологии, формировании новых исследовательских подразделений и институтов, был одним из инициаторов принятия правительственных постановлений. Эти постановления принесли значительные материальные средства новым направлениям биологии. Программа геном человека, которую он возглавил, в течение нескольких лет была единственным источником финансирования исследований в области молекулярной биологии гена и геномики.

Для руководства людьми нужна латентная сила, которую ощущают соратники. Здесь недостаточно академических знаний и жизненного опыта – необходимо обаяние личности, талант, который даётся не всем. И еще уверенность в правильности избранного пути. А дальше – успех порождает успех. Прошло немало лет. Фигуры учителя и ученика объединены их 50-ти летней дружбой, стремлением к истине, утверждению моральных ценностей. В.А. Энгельгардт и А.А. Баев – великие создатели школы, для учеников которой наука является источником творческих сил и жизненного оптимизма.

ДИНАМИЧЕСКОЕ ЯМР ИССЛЕДОВАНИЕ СЕМИЧЛЕННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИДОКСИНА¹.

Рахматуллин И.З., Галиуллина Л.Ф., Гарипов М.Р., Стрельник А.Д.,
Штырлин Ю.Г., Клочков В.В.
Клочков В.В., д.х.н., профессор
Казанский (Приволжский) Федеральный Университет

Кислородсодержащие гетероциклические соединения входят в состав большого числа сложных молекул, представляющих практически полезный интерес для различных отраслей науки, техники и медицины в качестве лазерных преобразователей, новых лекарственных препаратов, биологически активных соединений, высокоэффективных материалов.

В настоящее время ЯМР спектроскопия является одним из мощнейших методов, используемых для определения пространственной структуры соединений и исследования процессов конформационного обмена. В этом смысле семичленные гетероциклы являются особенно интересными объектами с точки зрения методов ядерного магнитного резонанса вследствие широкого набора различных структурных типов этих молекул.

В данной работе методом динамической ЯМР ¹N спектроскопии были изучены следующие соединения: 9-(2,4-динитрофенилокси)-3-(трет-бутил)-8-

метил-1,5-дигидро-[1,3]диоксепино[5,6-с]пиридин(I), 9-(2,4-динитрофенилокси)-3,3,8-триметил-1,5-дигидро-[1,3]диоксепино[5,6-с]пиридин (II), 9-(2,4-динитрофенилокси)-8-метил-1,5-дигидро-[1,3]диоксепино[5,6-с]пиридин (III), содержащих семичленные ацетали, полученные из витамина B₆.

В результате исследования конформационных особенностей и динамики данного ряда производных пиридоксина были выявлены процессы конформационных изменений, в которых участвуют исследуемые соединения, а также определены энергетические характеристики конформационных переходов.

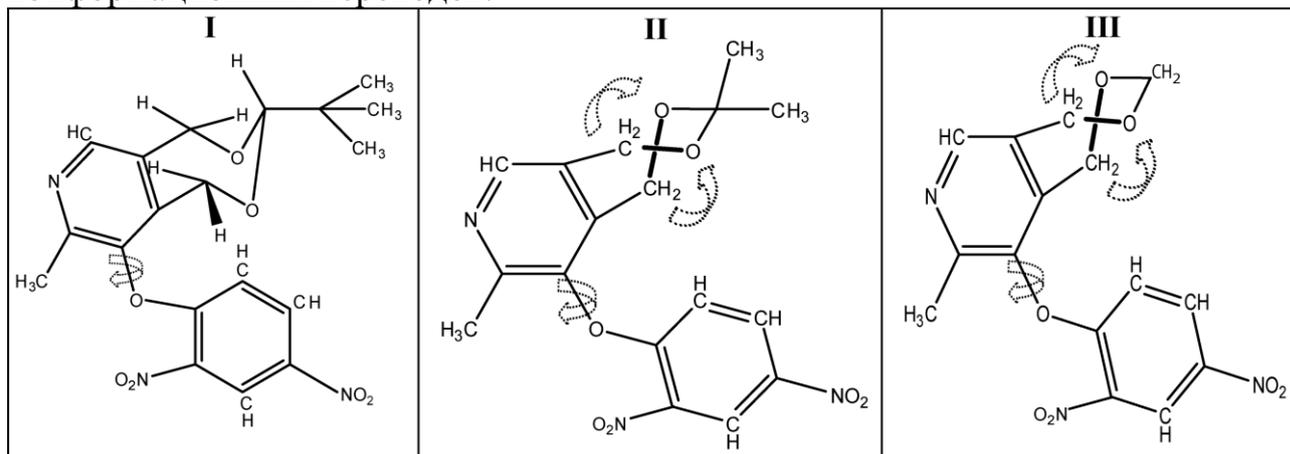


Рис. 1. Схема внутримолекулярных динамических процессов для соединений I, II, III.

¹Работа выполнена при финансовой поддержке Федеральной Программы Министерства Образования и Науки Российской Федерации (№ 16.552.11.7083).

ВЛИЯНИЕ ПОЧВЕННЫХ МИКРОМИЦЕТОВ РОДА TRICHODERMA И FUSARIUM НА АКТИВАЦИЮ ФЕНОЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА CUCUMIS SATIVUS

Романова И.В.^{1,2}, Алимова Ф.К.¹

к.б.н., Тазетдинова Д.И.^{1,2}

¹ФГАОУВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет,

²ООО «НПП АгротехБио»

В природной среде растения подвергаются действию не только патогенной микрофлоры, но и антагонистических микроорганизмов, сокращающих численность фитопатогенов и благоприятно влияющих на физиологию растений. Среди таких биологических агентов известны грибы рода *Trichoderma*. Ранее нами была показана высокая антагонистическая активность *Trichoderma asperellum* против фитопатогена *Fusarium* spp. Однако вопрос о влиянии почвенных микромицетов рода *Trichoderma* на иммунные реакции растений является до конца не исследованным и на

сегодняшний день актуальным. Известно, что одной из защитных реакций растений на действие фитопатогенов является активация фенольного метаболизма.

Цель работы явилась оценка влияния сапрофитных штаммов *T. asperellum* 302 и 551 и фитопатогена *F. oxysporum* на общее содержание фенольных соединений в растениях огурца *Cucumis sativus*.

Семядневные проростки огурца обрабатывали путем внесения в почву 10 мл суспензии спор как фитопатогена, так и микроорганизмов-антагонистов в концентрации 10^6 спор/мл. В качестве контроля выступали растения, обработанные только *Trichoderma*, только *Fusarium* и растения без обработки. На 14-е сутки после интродукции микроорганизмов определяли общее содержание фенольных соединений (ФС) вытяжках корней и листьев огурца.

На 14-е сутки после обработки *T. asperellum* 302 и *T. asperellum* 551 содержание ФС было выше на 17,5% и 66,6%, соответственно, чем в растениях обработанных стерильной водой. Через 14 суток после внесения фитопатогена в почву содержание ФС возросло на 29,9%. Совместное внесение штаммов *Trichoderma* с *Fusarium* привело к еще большему увеличению содержания фенольных соединений в листьях по сравнению с вариантом без обработки или обработки только *Fusarium*.

В корнях и в листьях огурца как внесение патогена, так и *T. asperellum* привело к увеличению содержания ФС. Максимальное содержание ФС отмечено в растениях, обработанных совместной культурой *T. asperellum* 302 и *F. oxysporum* – 33,6 мг/г, что на 110% больше чем в необработанном контроле и на 38,5% больше чем, в вариантах, обработанных только фитопатогеном.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что при действии патогена *F. oxysporum* и исследуемых штаммов *Trichoderma* за счет увеличения содержания ФС происходит активация фенольного метаболизма, что является важным процессом, связанным с формированием устойчивости растений.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДОВ МНОГОМЕРНОЙ ЯМР-СПЕКТРОСКОПИИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ СПЕЦИФИЧЕСКОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА СЕМЕЙСТВА NF1 С ДНК

Романовская Е.В., Фролов В.В.

СПбГУ, биолого-почвенный факультет, кафедра биохимии

Взаимодействие транскрипционных белковых факторов со специфическими последовательностями ДНК лежит в основе такого фундаментального процесса как регуляция экспрессии генов. Нами проводятся исследования роли транскрипционных факторов-пионеров семейства NF1 в становлении тканеспецифической транскрипционной

программы гормон-зависимого гена триптофандиоксигеназы. Данные, полученные в последнее время, позволяют предположить, что транскрипционные факторы этого семейства участвуют в формировании и поддержании специфической структуры хроматина в регуляторных областях генов, ответственной за состояние компетенции гена к транскрипции [1]. Однако, имеются данные, что эти факторы также являются активными участниками в процессе формирования энхансеосомы и передачи регуляторного сигнала на транскрипционный аппарат.

Для понимания механизмов взаимодействия NF1 и транскрипционной машины необходима информация о молекулярных структуре и динамике образующихся ДНК-белковых и белок-белковых комплексов. С этой целью планируется провести исследование динамических и структурных параметров ДНК-связывающего домена NF1 на образцах, обогащенных изотопом ^{15}N , методами многомерной ЯМР спектроскопии TROSY, HSQC и NOESY [2]. Одной из практических трудностей реализации подобных экспериментов являются малые доступные количества образца. Однако второе поколение надежных и высокопроизводительных биосенсорных платформ, включающих микрофлюидную систему, позволяет получать спектры ЯМР от образцов объемом 1 мкл, что открывает широкие перспективы для фундаментальных комплексных биохимических и ЯМР-исследований.

Необходимо отметить, что изучение механизмов действия факторов семейства NF1, как транскрипционных факторов-пионеров, может внести существенный вклад в развитие представлений о регуляции экспрессии генов на уровне хроматиновой матрицы.

1. Чихиржина Г. И., Назарова Н. Ю., Чихиржина Е. В., Романовская Е. В. Ремоделирование нуклеосом в регуляторной области гормонзависимого гена триптофандиоксигеназы (tdo) крысы при транскрипции *in vivo*//Цитология, 2010, 52 (6): 459-465

2. Campagne S., Gervais V., Milon A. Nuclear magnetic resonance analysis of protein–DNA interactions//J. R. Soc. Interface, 2011, 8 (61): 1065-1078

СИСТЕМНАЯ БИОЛОГИЯ: ПЕРСПЕКТИВЫ И ПРОБЛЕМЫ

Серебрянский И.Г., к.б.н., Associate Member

Fox Chase Cancer Center, Philadelphia, USA

Современная системная биология является междисциплинарной областью познания на стыке классической биологии, медицины, физики и химии, а также математики и компьютерных технологий. Это одна из самых быстро растущих областей познания, хотя идеи системного подхода к изучению жизни (как и других сложных феноменов) существовали по крайней мере со времён Аристотеля, провозгласившего, что «целое больше,

чем сумма его частей».

Важнейшими задачами системной биологии являются:

- изучение структуры системы, что включает в себя построение сетей взаимодействий между генами, белками, и другими клеточными компонентами.

- понимание динамики системы - изучение того, как система реагирует на изменения параметров окружающей среды.

- определение правил саморегуляции системы.

Эти задачи решаются путём интеграции данных геномики, транскриптомики, протеомики и метаболомики (и других «омик»), полученных в ответ на планомерное воздействие на систему с помощью различных методов, для построения математической модели, которая бы всесторонне описывала систему и предсказывала её ответы на индивидуальные воздействия [1].

Особую роль в системной биологии играет интерактомика, основная задача которой заключается в определении взаимодействий молекул (белков, ДНК, РНК) на уровне клетки, а также в изучении динамики этих взаимодействий. Карты сетей взаимодействия можно считать первым приближением к модели, поскольку их анализ позволяет получить информацию, не очевидную из анализа отдельных компонентов - например, об устойчивости сети к внешним воздействиям. Построение сети взаимодействий для отдельного гена или группы генов может стать ценным подспорьем в их изучении, и существует множество протоколов, детально описывающих базы данных и методики (например, [2]).

Для описания путей передачи сигнала, метаболических путей, регуляции генов, биохимических реакций был разработан универсальный формат SBML, а также построены сотни собственно математических моделей, описывающих отдельные биохимические пути, процессы, клеточные структуры (<http://systems-biology.org/>). Недавно была опубликована и первая модель живой клетки – *M. genitalium*. Создавая свою модель, авторы использовали данные из более чем 900 работ и функциональные характеристики всех 525 генов для создания отдельных модулей, объединённых в иерархическую структуру. Эти модули описывают 28 отдельных процессов в клетке, используя около 2000 параметров [3].

Системная биология обещает внести важный вклад в развитие молекулярной и персонализированной медицины. Основными задачами считаются построение глобальных сетей генетических взаимодействий; идентификация биомаркеров заболевания на основе моделирования биохимических путей и путей передачи сигнала; идентификация генов, изменения в которых приводят к заболеваниям [1].

Существуют ценные общедоступные ресурсы, позволяющие использовать данные и методы системной биологии в рутинных медико-биологических работах.

Примером таких ресурсов являются базы данных клеточных линий (www.broadinstitute.org/ccle, www.cancerrxgene.org, discover.nci.nih.gov/cellminer). Для более чем 1000 клеточных линий, производных от опухолей от практически всех человеческих тканей, были систематически определены уровни экспрессии генов, хромосомные аномалии, мутации в ключевых генах, а также устойчивость к лекарственным препаратам. Используя эти базы данных, можно сравнивать и визуализировать для каждого конкретного гена данные по частоте мутаций и уровню экспрессии в отдельных тканях, или выявить, от инактивации каких именно генов зависит чувствительность к определённым лекарствам, или определить набор генов, уровни экспрессии которых наиболее сильно различаются при сравнении двух групп клеточных линий (например, принадлежащих к разным тканям или отличающихся по чувствительности к определённому воздействию). Необходимо подчеркнуть, что выводы, полученные на основе исследования клеточных линий, можно переносить на целый организм лишь с большой осторожностью.

База данных cBioPortal.org хранит молекулярно-генетическую и медицинскую информацию по более чем 13 000 образцам опухолевых тканей, систематически исследованным в более чем 40 крупномасштабных экспериментах. Эти данные включают в себя информацию по геномным перестройкам, уровню экспрессии РНК и белка, мутациям в кодирующих последовательностях генов. Возможности анализа включают в себя идентификацию и предварительную проверку кандидатов в биомаркеры заболевания, либо в биомаркеры чувствительности к лечебным препаратам. Получить такую предварительную информацию можно, прослеживая связь молекулярно-генетических данных с клиническим исходом.

Системная биология имеет ряд немаловажных проблем, по большей части связанных с масштабированием негативных тенденций, ранее описанных для общебиологических исследований [5]. В последнее время были намечены пути к их разрешению [6].

1. Chuang H.Y., Hofree M., Ideker T. A decade of systems biology. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2010;26:721-744.
2. Liu H., Beck T., Golemis E., Serebriiskii I. Integrating in silico resources to map a signaling network. 2013 In M. Ochs (Ed.), *Methods*, New York, NY: Springer, in press.

3. Karr J.R., Sanghvi J.C., Macklin D.N., et.al. A whole-cell computational model predicts phenotype from genotype. *Cell*. 2012 150:389-401
4. Ioannidis J. Why most published research findings are false. *PLoS Med*. 2005 2 e124.
5. McShane L.M., Cavenagh M.M., Lively T.G. et al. Criteria for the use of omics-based predictors in clinical trials. *Nature*. 2013 502:317-320

ИЗУЧЕНИЕ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ПЕПТИДОВ ИЗ КУЛЬТУРЫ LACTOBACILLUS PLANTARUM 8PA-3

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

Научный руководитель м.н.с. Колобов А.А.

Санкт-Петербургский государственный университет, биолого-почвенный факультет, кафедра биохимии

В основе межбактериального антагонизма лежит продукция различных антагонистически активных веществ, таких как, например, органические кислоты, перекись водорода, мурамидазы и бактериоцины. Бактериоцины - антибактериальные вещества белковой природы, продуцируемые бактериями и подавляющие жизнедеятельность других микроорганизмов, в связи с чем рассматриваются исследователями в качестве потенциальных антимикробных лекарственных веществ и консервантов, подавляющих рост и развитие патогенных и условно патогенных бактерий и дрожжевых грибов.

Для выделения и характеристики фракций низкомолекулярных пептидов, обладающих антимикробной активностью, был отобран штамм лактобактерий *L. plantarum* 8PA-3, проявляющий наивысшую антагонистическую активность в отношении большинства тест-культур. Пептиды экстрагировали из культуры препаративными методами, такими как кислотная экстракция раствором 5% уксусной кислоты и ультрафильтрация через фильтры из регенерированной целлюлозы с диаметром пор 10 кДа и 1 кДа. Группу низкомолекулярных пептидов фракционировали с помощью хроматографических методов - твердофазной экстракции на картридже C18 и ОФ ВЭЖХ на аналитической колонке C18. Спектр катионных пептидов и чистоту полученных препаратов оценивали электрофоретическими методами в кислых и денатурирующих условиях. Для определения антимикробной активности выделенных фракций были использованы бактериологические методы: метод радиальной диффузии белков и пептидов в агарозном геле и метод overlay (наложение геля). Для определения молекулярной массы полученных проб проводили хромато-масс-спектрометрический анализ.

Результаты электрофоретического разделения концентрата супернатанта, содержащего белки с молекулярной 1-10 кДа, показали превалирование катионных белков с молекулярной массой 8 и 9 кДа. Было отмечено, что полученная белковая фракция обладает антимикробной активностью против грамположительных, грамотрицательных бактерий и низших грибов. В исследуемой пробе наблюдалось присутствие множества однозаряженных компонентов белковой низкомолекулярной матрицы, входящей в состав питательной среды MRS, что безусловно, затрудняло хромато-масс-спектрометрический анализ проб.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ МОДЕЛИРОВАНИЯ И ВЫЧИСЛИТЕЛЬНОЙ ХИМИИ - КАК ВЕКТОР В РАЗВИТИИ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И МОДЕРНИЗАЦИИ УЧЕБНОГО ПРОЦЕССА НА КАФЕДРЕ БИОХИМИИ СПбГУ

Стефанов В. Е.

Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра
биохимии

Время на рубеже нового столетия и тысячелетия заслужило в нашей стране противоречивые по многим позициям оценки. В значительной мере это коснулось науки и образования. С одной стороны, резко сократилось финансирование науки, что особенно отрицательно сказалось на возможности проводить высокотехнологичные эксперименты. С другой стороны, безусловно, позитивным процессом, происходившим в это время, стала интенсивная и экстенсивная компьютеризация всех сфер деятельности.

В науке быстрыми темпами формировалась идеологическая техническая и методологическая база, позволившая существенно расширить спектр и увеличить удельный вес «виртуальных» (компьютерных) экспериментов. Они стали дополнять, а в ряде случаев и заменять, реальные физические эксперименты, там где последние оказывались особенно дорогостоящими и технически трудно осуществимыми или даже просто невозможными. Особенно стремительно стали развиваться такие области науки, как вычислительная физика, вычислительная химия, биоинформатика и т.д. Это не могло не сказаться и на наполнении программы научных исследований и даже структуре научно-исследовательских подразделений в университете и, конечно же, на учебной программе.

На кафедре биохимии биолого-почвенного факультета Санкт-Петербургского университета была создана новая лаборатория, сфокусировавшая свои исследовательские интересы на компьютерном моделировании и анализе методами квантовой механики биомолекулярных структур и процессов, происходящих на уровне молекулярном и надмолекулярном уровнях. В частности, методами молекулярной динамики и лиганд-рецепторного докинга были начаты исследования механизмов

регуляции протеинкиназы, основанные на связывании сАМР ее А и В-доменами. Проводятся работы по моделированию биологической мембраны и анализу методами молекулярной динамики ее взаимодействия с биологически значимыми малыми молекулами. С использованием методов квантовой химии изучается связанный с триплет-синглетными переходами механизм спин-зависимого катализа индуцируемых магнием биохимических реакций, обеспечивающих сопряжение с процессами полимеризации биомолекул (сборка микротрубочек, ион-радикальная полимеризацию адениновых моноклеотидов и спинзависимый синтез ДНК/) Исследуются спиновые эффекты, связанные с образованием комплексов GTP/АТР с Mg²⁺ и другими катионами и позволяющие им функционировать в роли биологических моторов. Проводятся и другие исследования, связанные с использованием указанных методов и соответствующих современных пакетов программ. Количество публикаций кафедры, приходящихся на эти исследования, стали превалировать над другими публикациями кафедры.

Не могли не сказаться описанные тенденции и на учебном процессе. На кафедре были созданы необходимые методологические предпосылки для привлечения студентов к проблемам, решаемым методами компьютерного моделирования и вычислительной химии. В очень короткое время были опубликованы соответствующие пособия, организован межфакультетский семинар. Гибкость системы обучения, особенно на этапе перехода к двухуровневой системе образования, открыли большие возможности по формированию индивидуальных траекторий для подготовки студентов из числа обучающихся на кафедре биохимии, заинтересованных в теоретических исследованиях, связанных с использованием методов компьютерного моделирования и вычислительной химии и способных их проводить. Для таких студентов составляется индивидуальный план, включающий ряд дисциплин, преподаваемых на физическом, химическом и математико-механическом факультете. Таких студентов-биологов, конечно, оказывается очень мало, но они очень мотивированы и сдают экзамены не только не хуже, но даже лучше, чем свои студенты соответствующих факультетов. В отдельных случаях магистранты и аспиранты могут параллельно обучаться по сокращенным программам на интересующих их факультетах университета. Указанные тенденции носят двухсторонний характер, особенно в отношении магистратуры. Возникающие при этом трудности заключаются в том, что выпускникам других факультетов приходится ликвидировать пробелы, относящиеся к многочисленным биологическим дисциплинам и практикам, необходимость чего они не всегда готовы воспринять. Разумеется, важнейшей составляющей подготовки студентов-теоретиков является их активнейшее участие в научной работе с того момента, как только они выбрали для себя этот профиль. Такая работа проходит параллельно с освоением теоретических курсов на других факультетах, и в первую очередь, таких как квантовая механика на физическом факультете и квантовая химия на химическом.

Таким образом, резко сократившееся финансирование науки, отрицательно сказавшееся на высокотехнологичной и дорогостоящей экспериментальной науке, задало новый вектор в развитии научных исследований и учебного процесса на нашей кафедре, связанный с использованием методов моделирования и вычислительной химии. Разумеется, такой прием, в значительной мере относящийся к арсеналу «шоковой терапии» не должен и не может быть панацеей. Но на переходном этапе в жизни нашей кафедры он привел к последствиям, которые не могут быть оценены как однозначно негативные. В завершающей выступление демонстрации приведены примеры исследований, выполняемых на кафедре с участием студентов, проходивших подготовку по специально сконструированному плану, а также показана печатная продукция (исследовательские статьи и методические пособия), относящаяся к тематике выступления.

ВЛИЯНИЕ ГЕТЕРОЛОГИЧНОГО ГЛОБУЛИНА НА МЕТАБОЛИЗМ РАДИОНУКЛИДОВ В ОРГАНИЗМЕ

Сычев К.В., Конюхов Г.В., Низамов Р.Н., Тарасова Н.Б.

Научный руководитель Низамов Р.Н. д.б.н., профессор

ФГБУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», Казань, Татарстан, Россия

Ведя целенаправленный поиск радиозащитных средств, сотрудниками ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» разработана технология изготовления противорадиационного лечебно-профилактического иммуноглобулина, обладающего высоким радиофармакологическим эффектом при острой лучевой болезни. Однако сведения о влиянии данного препарата на метаболизм радионуклидов при инкорпорированном облучении отсутствуют.

В опытах, проведенных на затравленных смесью радиоизотопов ^{90}Sr и ^{137}Cs белых крысах установлено, что лечебно-профилактический иммуноглобулин оказывает влияние на динамику накопления радиостронция: к концу эксперимента (на 28-е сут) препарат адсорбирует и выводит 72,3% стронция-90 (по отношению к контрольной группе). Однако если проследить динамику его накопления, оказывается, что в первые сутки введения радионуклида в организм животных лечебно-профилактический иммуноглобулин связывает максимальное количество радиоизотопа (44,4%). В последующие дни степень эффективности препарата снижается и к 28 дню составляет 24,5%.

Цезий-137 менее активно, чем стронций-90, метаболизируется в организме животных: в 1-е сут введения накапливается 37% (в контрольной группе), к 3-м сут его количество увеличивается до 40,7%. После этого начинается постепенное снижение уровня радиоцезия и к 28-м сут содержание изотопа составляет 21,7% (от количества введенного радиоизотопа).

Таким образом, противорадиационный лечебно-профилактический иммуноглобулин оказывает не только лечебный, но и декорпорирующий эффект, усиливая метаболизм радионуклидов и выведение их из организма.

ПРИМЕНЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО ПОДХОДА ДЛЯ ОПИСАНИЯ ИНФЕКЦИЙ В АРХЕОЛОГИЧЕСКИХ ПАМЯТНИКАХ

Тухбатова Р. И.¹, Кравцова О. А.¹, Газимзянов И. Р.², Фаизов Т. Х.³,
Алимова Ф. К.¹

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, ²Институт истории им. М. Ш. Марджани АН РТ, ³Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности

Известно несколько источников, позволяющих изучать распространение и существование определенных заболеваний человека в древности и способах врачевания их. Как правило, палеопатологи в своих исследованиях опираются на исторические письменные источники, произведения художественного творчества с изображениями больных и немощных, на археологические находки медицинских инструментов и предметов быта. Но основным фактическим источником для ученых являются костные или мумифицированные останки древних людей.

Палеопатология - наука, позволяющая ставить медицинские диагнозы по костным и мумифицированным останкам, является пограничной между медициной и антропологией, в полной мере используя методы обеих наук. Палеопатология сравнительно молода. Историографы считают, что она возникла около 200 лет назад и в последние десятилетия развивается бурными темпами, используя новейшие достижения науки и техники.

Одним из таких достижений является применение молекулярно-генетических методов для изучения остатков ДНК патогенных микроорганизмов, что дает неоценимые данные для реконструкции временных и географических путей распространения инфекций в человеческой истории.

Целью нашей работы было определение возбудителей чумы (*Y. pestis*), дифтерии (*C. diphtheriae*), сифилиса (*T. pallidum*) и туберкулеза (*M. tuberculosis*) в древних захоронениях, датируемых 8-6 вв. до н.э. – 16 в. н.э. (Мурзахинский II могильник, г. Булгар, Старокуйбышевский, Танкеевский, Усть-Иерусалимский могильники, Мавзолей Казанского Кремля).

Из 140 образцов человеческих костей из захоронений была выделена тотальная ДНК с помощью набора QIAamp DNA Investigator Kit (Qiagen), согласно протоколу производителя. Далее была проведена амплификация со специфическими наборами праймеров. Детекцию ПЦР-продуктов проводили в 1,5% агарозном геле после окрашивания этидиум бромидом.

ДНК возбудителей сифилиса и дифтерии не были обнаружены, в то время как в 5 образцах были выявлены остатки ДНК чумы и в 14 – туберкулеза. Размеры продуктов амплификации составили 390 п. н. для *M. tuberculosis* и 300 п. н. для *Y. pestis*. Эти данные получены впервые на территории Татарстана и могут быть использованы для характеристики древних популяций.

Работа выполнена при поддержке РФФИ № 11-04-008050а.

СТРУКТУРА АМИЛОИДОГЕННЫХ АВ ПЕПТИДОВ В КОМПЛЕКСЕ С МОДЕЛЬНЫМИ МЕМБРАНАМИ

Усачев К.С.¹, Абдрахманов Р.Ж.¹, Колосова О.¹, Филлипов А.В.^{1,2}, Анцуткин О.Н.^{2,3}, Клочков В.В.¹.

науч. рук: Клочков В.В. д.х.н., профессор

¹Казанский (Приволжский) Федеральный Университет

²Технический университет Лулео, Швеция ³Отделение физики Уорикского университета, Великобритания

Нейротоксичное действие Аβ пептидов проявляется в результате их взаимодействия с клеточной мембраной. Предполагается, что Аβ пептиды, непосредственно нарушают работу мембран нейронов вызывая образование пор, что приводит к изменениям ионного гомеостаза. Отсюда описание пространственного строения комплекса «Аβ пептид–мембрана», также как и строение Аβ пептидов в растворе, позволит подойти к пониманию механизмов протекающих на поверхности клеток, что может дать возможность поиска лекарственных препаратов, ингибирующих образование сенильных бляшек.

На основе экспериментальных данных экспериментов ЯМР и теоретического моделирования молекулярной структуры определены конформации и геометрические параметры амилоидогенных Аβ пептидов: Аβ₁₋₄₀, arc-Аβ₁₋₄₀ (E22G), Аβ₁₀₋₃₅, Аβ₁₃₋₂₃, Аβ₁₆₋₂₂ и их комплексов с модельными биологическими мембранами в растворе. Установлено, что процесс комплексообразования пептида с мицеллой происходит посредством аминокислотных остатков L17, F19, F20 и G29-M35.

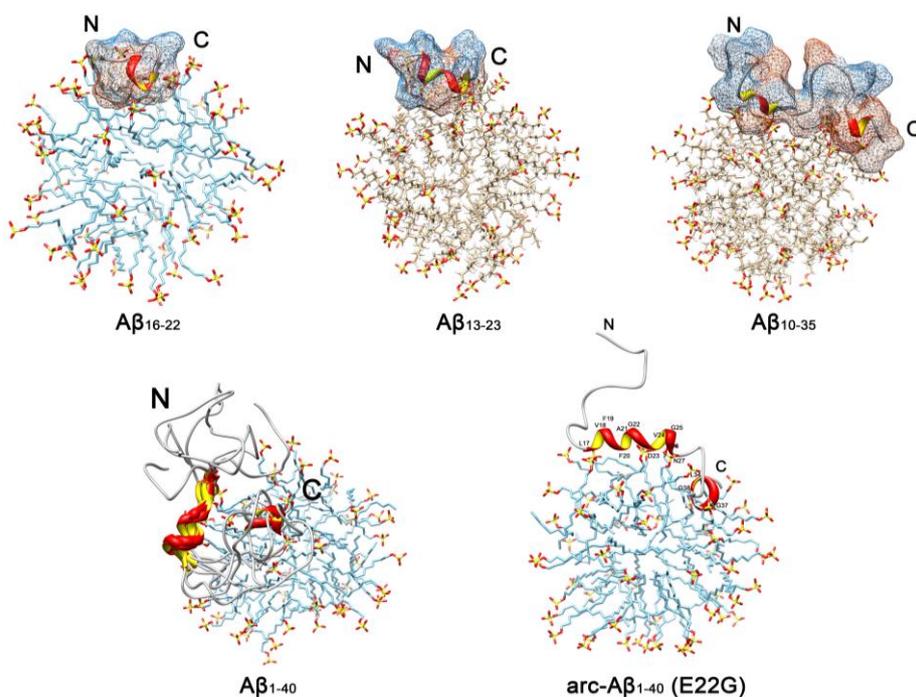


Рисунок 1. Строение комплексов «пептид – мицелла» определенное с помощью 2D экспериментов ЯМР.

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ СПЕКТРОСКОПИИ ЯМР В ИЗУЧЕНИИ ПРОСТРАНСТВЕННОГО СТРОЕНИЯ БЕЛКОВ

Хайрутдинов Б.И., Зуев Ю.Ф.

Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН

Современная спектроскопия ЯМР высокого разрешения претерпевает бурное развитие за последнюю четверть века. В частности разработаны импульсные последовательности, которые позволяют получать многомерные спектры ЯМР, в том числе такие, которые связывают в трехмерном пространстве сигналы ядер ^1H , ^{13}C и ^{15}N . Наряду с достигнутыми успехами в области получения и очистки рекомбинантных белков обогащенных изотопами ^{13}C и ^{15}N , эти спектры тройного резонанса позволяют производить расшифровку трехмерной структуры белков. Неоспоримым преимуществом методов спектроскопии ЯМР является чувствительность метода к процессам химического обмена, что позволяет изучать внутримолекулярную подвижность белков и их взаимодействие с различными лигандами.

В докладе на примере белков CDT1 [1] и hZ \square DAI [2] будут рассмотрены возможности спектроскопии ЯМР высокого разрешения в области изучения динамической белковой структуры. Белок Cdt1 входит в субмолекулярный белковый комплекс, ответственный за запуск процесса

репликации ДНК. Спектроскопия ЯМР высокого разрешения позволила определить третичную структуру белка. По данным времен релаксаций T_1 , T_2 и гетероядерному эффекту Оверхаузера на ядрах ^{15}N - ^1H , используя формализм Липари-Сзабо, рассчитаны значения параметра порядка, локальные времена корреляции и константы химического обмена.

Второй белок - ДНК зависимый активатор IFN-регуляторного фактора (DAI), также известный как DLM-1/ZBP1, инициирует иммунный ответ организма, связываясь с чужеродной ДНК в цитозоле. Определена структура белка hZ \square DAI и его комплексов с В- и Z-ДНК. По сравнению с комплексом белка с Z-ДНК конформация свободного белка hZ \square DAI имеет заметные отличия в \square 3-спирали. ЯМР эксперимент по определению изменения химических сдвигов ядер N и H основной цепи показал, что белок способен также слабо связываться с В-ДНК.

Работа сделана при поддержке гранта РФФИ 12-04-01286-а.

1. Structure of the Cdt1 C-terminal domain: Conservation of the winged helix fold in replication licensing factors/ Khayrutdinov, B.I., Won Jin Bae, Young Mi Yun, Jie Hye Lee, et al // Protein Science – 2009. – Vol. 18, - P. 2252-2264.
2. Solution structure of the Z β domain of human DNA-dependent activator of IFN-regulatory factors and its binding modes to В- and Z-DNAs/ Kim Kyungmin, Bulat I. Khayrutdinov, Chung-Kyung Lee, Hae-Kap Cheong, et al // PNAS – 2011. – Vol. 108, - P. 6921-6926.

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ИЗОЛЯТОВ BOVINE LEUKEMIA VIRUS, ВЫЯВЛЕННЫХ В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН

¹Хазипов Н.З., ¹Закирова З.Р., ¹Шаева А.Ю., ^{1,2}Вафин Р.Р., ²Зайнуллин Л.И.

Хазипов Н.З., доктор ветеринарных наук, профессор

¹ФГБОУ ВПО «Казанская государственная академия ветеринарной
медицины»

²ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»

Целью исследования являлось генотипирование выявленных нами изолятов Bovine leukemia virus (BLV), циркулирующих в животноводческих хозяйствах Республики Татарстан Российской Федерации, на основе филогенетического анализа секвенированных последовательностей локуса env-гена провируса, с апробацией усовершенствованной нами стратегии ПЦР-ПДРФ-генотипирования, согласующейся с филогенетической классификацией возбудителя.

На основании филогенетического анализа секвенированных последовательностей локуса env-гена провируса BLV и усовершенствованной нами стратегии ПЦР-ПДРФ-генотипирования, согласующейся с филогенетической классификацией возбудителя, определена генотипическая принадлежность изолятов BLV, выявленных у крупного рогатого скота в животноводческих хозяйствах РТ РФ, идентифицированных как представители 4-го, 7-го и 8-го генотипов BLV.

Так, из 100 исследованных изолятов, 64 принадлежали 4-му генотипу, 28 относились к кластеру 7-го генотипа, а оставшиеся восемь идентифицированных образцов провируса характеризовались признаком 8-го генотипа BLV, соответственно.

Следует отметить, что из 100 просеквенированных образцов, в GenBank NCBI были депонированы только 43 уникальные последовательности локуса env-гена BLV. Номера доступа (Accession Number, A/N) депонированных в GenBank NCBI в 2013 г. нуклеотидных последовательностей локуса env-гена выявленных нами изолятов провируса BLV: KC867136-KC867150, KC886607-KC886634.

Усовершенствованная и апробированная нами стратегия ПЦР-ПДРФ-генотипирования BLV с применением пяти отобранных эндонуклеаз рестрикции (PvuII, SspI, HphI, HaeIII и BstYI) обеспечила корректную процедуру генотипической идентификации данного возбудителя, в связи с ее согласованностью с филогенетической классификацией изучаемого вирусного агента.

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ МИКОБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПАТОГЕНОВ ПУТЕМ АНАЛИЗА РЕГИОНА IS6110

Хаммадов Н.И., Алексадрова Н.М., Усольцев К.В., Семенова М.Е.,
Фаизов Т.Х.

Фаизов Тагир Хадиевич, доктор ветеринарных наук, профессор
ФГБУ Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности,
г. Казань

Туберкулёз животных занимает одно из ведущих мест в структуре инфекционных заболеваний. Несмотря на значительные достижения ветеринарной службы в борьбе с туберкулезом, эта опасная зооантропонозная инфекция регистрируется в ряде регионов Российской Федерации.

Для диагностики этой болезни применяются различные методы. Среди них нужно выделить молекулярно-генетические методы, которые имеют ряд преимуществ по сравнению с традиционными методами. Но кроме индикации, необходимо проводить и дифференциацию видов и штаммов

микобактерий. Существует несколько методов, которые можно широко применять для типирования видов и штаммов микобактерий, такие как: VNTR; RFLP; PCR-RFLP; AFLP; RAPD-PCR и другие. Среди этих методов наиболее специфичным является ПЦР-ПДРФ. Суть метода состоит в том, что происходит амплификация локуса ДНК, который имеется только у микобактерий, а после электрофореза продуктов рестрикции можно установить вид микобактерии.

Для ПЦР были использованы праймеры Tb11 (нуклеотидная последовательность 5' - АССААСГАТGGTGTGTCCAT - 3') и Tb12 (нуклеотидная последовательность 5' - СТТGTСGAАССGCАТАСССТ - 3'). Рестриктаза AspLE имеет сайт опознавания 5'-GCG↓C-3'.

После амплификации образцы с ДНК, не принадлежащей микобактериям, не образовали ампликонов и не нуждались в последующей рестрикции. Гидролиз при рестрикции происходит между G и C на участке ДНК, где встречается последовательность GCGC.

Исходя из данных электрофореза было установлено, что рестрикция ферментом AspLe амплифицированного фрагмента IS6110 не обнаруживает полиморфизма в пределах вида микобактерии, однако хорошо определяет межвидовые различия *Mycobacterium scrofulaceum*, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium bovis* и *Mycobacterium tuberculosis*. Все изоляты *Mycobacterium tuberculosis* дали характерную картину электрофореза, аналогичную контрольному образцу *Mycobacterium tuberculosis*, контрольный образец *Mycobacterium bovis* показал картину электрофореза аналогичную вакцинному штамму *Mycobacterium bovis* BCG, а *Mycobacterium scrophulatum* и *Mycobacterium avium* показали полиморфизм длин рестрикционных фрагментов не схожий ни с одним из исследуемых образцов, следовательно, в данном эксперименте достигнута высокоспецифичная межвидовая дифференциация.

АКАДЕМИК А.Я. ДАНИЛЕВСКИЙ – СОЗДАТЕЛЬ ФИЗИОЛОГОХИМИЧЕСКОЙ НАУЧНОЙ ШКОЛЫ В РОССИИ

А.М.Чайка, А.М. Иванов

А.Я.Данилевский (1838-1923) – один из основоположников отечественной биохимии, доктор медицины (1863), ординарный профессор кафедры физиологической химии (1892-1909), академик ВМА (1898), начальник ВМА (1906-1910), Тайный Советник, крупный биохимик. Он окончил медицинский факультет Харьковского университета (1860), совершенствовался в лабораториях Гоппе-Зейлера, Кюне, Дюбуа-Реймона (1860-1962). В диссертации на степень доктора медицины на тему «О специфически действующих телах натурального и искусственного соков поджелудочной железы», используя метод избирательной адсорбции для разделения амилолитического и протеолитического ферментов, доказал раздельное существование в поджелудочном соке трипсина и амилазы (1863).

В 1863-1871 г.г. являлся ординарным профессором кафедры медицинской химии и физики в Казанском университете. С 1875 г. работал в Министерстве народного просвещения, выезжая на значительные сроки с научными целями за границу. В 1885-1892 г. г. – ординарный профессор кафедры медицинской химии Харьковского университета. В 1892 г. приглашен для создания и руководства кафедрой физиологической химии в ВМА. В 1910 г. ушел в отставку. С октября 1917 г. – приват-доцент кафедры физиологической химии ВМА.

Многочисленные исследования А.Я.Данилевского посвящены протеолитическим ферментам, химии белков и вопросам питания. В работе

«Очерк органопластических сил организма» впервые показал возможность синтеза белковоподобных веществ при участии ферментов, указал на наличие в клетках агентов, стимулирующих активность ферментов (1886). В 1901 г. доказал присутствие в тканях антиферментов (антипенсина, антитрипсина). В 1865 году он изобрел первую гематокритную центрифугу для разделения сыворотки и форменных элементов крови. В 1888-1891г.г. совместно с братом, известным физиологом В.Я.Данилевским, издавал в Харькове «Физиологический сборник» – прообраз первого русского физиологического журнала.

Для изучения структуры белковых тел Данилевский применил воздействие на них слабых растворов щелочей. Исследования 1888-1891г.г. привели его к предположению о чередовании в молекуле белка группировки – NH–CO – , как в биурете, и о вхождении аминокислот в состав белка через связь –CO – NH–, которая позднее была названа пептидной. Применяя для расщепления белков пищеварительные ферменты, он подробно охарактеризовал промежуточные продукты распада белков. Им проведены обширные исследования казеина, тканевых белков (мышечных и белков мозга). Изучая методом последовательного извлечения водой альбуминовую фракцию, солевыми растворами глобулиновую (миозин, нейроглобулин) и растворами щелочей строминовую (миостромин, нейростромин) фракции белков, в сравнительно-биохимическом разрезе Данилевский высказал интересные предположения о строении и филогенетическом развитии протоплазмы. Им и его сотрудниками изучались азотистый и фосфорный обмен животного организма, питательная ценность белков мяса, рыбы, некоторых растительных пищевых продуктов. Он возглавлял комиссию по пересмотру пищевого довольствия солдат русской армии. Под руководством Данилевского проведен большой цикл работ по возрастной физиологической химии совместно с кафедрой детских болезней ВМА.

Данилевский был прекрасным лектором и руководителем. И в Казани, и в Харькове, и в Петербурге в его лаборатории работали многие студенты и врачи. Данилевским создана первая крупная отечественная биохимическая школа физиологохимиков. Под его руководством защищено около сорока

докторских и магистерских диссертаций. Многие его ученики (А.Я. Щербаков, Д.И. Кураев, И.Г. Мезерницкий, В.И. Словцов, М.Д. Ильин, А.Н. Шкарин, Н.И. Красногорский, Д.М. Лавров, М.Я. Галвяло и др.) стали позднее профессорами, руководителями кафедр, крупными учеными.

КАРТИРОВАНИЕ ПРОМОТОРНЫХ ОБЛАСТЕЙ ГЕНОВ СЕРИНОВЫХ ПРОТЕИНАЗ *BACILLUS PUMILUS*

Черёмин А.М.¹, Захарова М.В.²

Научный руководитель – д.б.н., проф., Шарипова М.Р.¹

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, г.Казань

²Институт биологии и физиологии микроорганизмов им. Скрябина, г.Пушино

Проблема регуляции активности генов является одной из главных проблем молекулярной биологии. Выяснение механизмов регуляции генной активности необходимо для понимания того, как функционирует клетка в целом или отдельно взятая генетическая система. Бактерии рода *Bacillus* в постэкспоненциальной фазе роста продуцируют в среду различные гидролазы, в том числе внеклеточные протеиназы. Среди них наиболее широко используемыми в практике являются сериновые протеиназы. С помощью методов биоинформатики мы идентифицировали потенциальные стартовые точки и направление транскрипции генов сериновых протеиназ *Bacillus pumilus* - субтилизиноподобной протеиназы (AY754946.2) и глутамилэндопептидазы (Y15136.1). Для подтверждения данных, полученных анализом *in silico*, проводили эксперименты *in vitro*. Цель работы – определить направление и стартовые точки транскрипции генов субтилизиноподобной протеиназы и глутамилэндопептидазы путем *in vitro* выравнивания нуклеотидных последовательностей генов протеиназ с последовательностями их мРНК. Для определения направления транскрипции, с помощью ПЦР-реакции получили произвольные фрагменты для каждого из генов сериновых протеиназ. Каждый фрагмент включал 5'-регуляторную (до 400 нуклеотидов) область каждого из генов и прилегающие к промоторной ДНК фрагменты структурной области обоих генов. При проведении *in vitro* транскрипции с амплифицированных ДНК-фрагментов получили меченую мРНК в соответствии с амплифицированными последовательностями, включающими регуляторную и частично кодирующую области генов сериновых протеиназ. Полученные данные позволили нам установить, что транскрипция генов сериновых протеиназ идет со смысловой цепи в 5'→3' направлении. Для определения стартовой точки транскрипции мы проводили реакцию удлинения праймера (primer extension). По выравниванию фрагментов кДНК субтилизиноподобной протеиназы и глутамилэндопептидазы с секвенсом соответствующего

участка геномной ДНК мы определили стартовые точки транскрипции: нуклеотид «А» для гена субтилизиноподобной протеиназы и нуклеотид «Т» для гена глутамилэндопептидазы. Таким образом, в структуре генов сериновых протеиназ *Bacillus pumilus* установлены нуклеотиды, с которых начинается транскрипция генов, что важно для картирования промоторов этих генов.

ЦИКЛИЧЕСКАЯ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЯ В ИССЛЕДОВАНИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ МИКРОБНЫХ КЛЕТОК

Черенков И.А., Кропачева Т.Н., Сергеев В.Г., Перевозчиков Е.А.

ФГБОУ ВПО «Удмуртский государственный университет»

Циклическая вольтамперометрия (ЦВА) является одним из информативных аналитических методов в электрохимии. Анализ вольтамперных зависимостей позволяет получить информацию о природе и количестве вещества подвергающегося электрохимическим превращениям, а также выяснить механизмы реакции протекающей на электроде. ЦВА нашла приложение и в биохимических исследованиях при анализе каталитических эффектов окислительно-восстановительных ферментов и целых клеток.

Целью настоящей работы стало изучение влияния иммобилизованных на графитовом электроде клеток родококков на электрохимическое поведение метиленового синего (N,N,N',N'-тетраметилтионина хлорид тригидрат) (МС).

Показано, что в отсутствии клеток вольтамперные кривые МС соответствуют обратимому переносу заряда. Иммобилизация клеток путём адсорбции на поверхность электрода с последующим покрытием агарозным гелем приводит к изменениям кривых ЦВА, которые выражаются в уменьшении амплитуды катодного и анодного пиков и увеличении расстояния между пиками. Очевидно, что иммобилизованные клетки увеличивают коэффициент диффузии МС. Введение в ячейку раствора МС, содержащего глюкозу, вызвало увеличение плотности тока окисления при несущественных изменениях плотности тока восстановления.

Был проведён расчёт количества электричества, прошедшего через систему за один цикл. Для этого была определена площадь, ограниченная кривой анодного и катодного пиков в координатах «плотность тока – время». Для исходного состояния системы «электрод-МС-клетки» общее количество электричества за один цикл составило $5,48 \times 10^{-6}$ Кл. При введении в систему глюкозы количество электричества возрастает почти в 2 раза ($10,09 \times 10^{-6}$ Кл). Наиболее значительный вклад в изменение количества электричества вносит

процесс электроокисления метиленового синего (площадь окислительного пика соответствует $7,57 \times 10^{-6}$ Кл). При этом площадь пика восстановления изменяется незначительно ($2,19 \times 10^{-6}$ Кл в исходном состоянии системы и $2,52 \times 10^{-6}$ Кл при введении глюкозы).

Глюкоза служит субстратом внутриклеточных окислительных процессов, в которые включается окисленная форма МС, принимая протоны и электроны от окислительных ферментов, что приводит к образованию восстановленной формы медиатора. Ещё одним фактором, способствующим формированию дефицита окисленной формы МС в системе, является потребление клетками кислорода, способного окислять лейкоформу МС. Таким образом, ЦВА является информативным методом исследования окислительной активности клетки.

МЕХАНОАКТИВАЦИЯ МАГНИЯ ОРОТАТА ПРИВОДИТ К ПОВЫШЕНИЮ СОДЕРЖАНИЯ ГИДРОКСО-ФОРМ ОРОТАТ-АНИОНА И БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА

Чучкова Н.Н.^{1,3}, Канунникова О.М.², Соловьев А.А.³, Канунников М.М.³, Аксенова В.В.², Мухгалин В.В.², Комиссаров В.Б.³, Кормилина Н.В.³
¹ИИФ УрО РАН (Екатеринбург), ²ФТИ УрО РАН, ³ГБОУ ВПО ИГМА МЗ России (Ижевск)

Магний является важнейшим макроэлементом, с его участием протекает более трёх сотен ферментативных реакций. Оротовая кислота принимает не только участие в магниевом обмене, но и обладает самостоятельным метаболическим действием, является непосредственным предшественником пиримидиновых оснований. Применение магния оротата в медицине ограничивает его плохая растворимость и, как следствие, низкая усвояемость. Механоактивация в шаровой планетарной мельнице приводит к получению аморфной формы магния оротата, преимуществом которой является повышенная растворимость и скорость растворения, обуславливающие изменение биологических свойств, а, следовательно, терапевтической эффективности. Технический результат достигается получением механоактивированной аморфной соли оротовой кислоты в результате обработки кристаллических солей в измельчительных активаторных устройствах. Элементный состав поверхностных слоев частиц порошков (толщиной порядка 7 нм) по данным РФЭС (рентгеновские фотоэлектронные спектры возбуждались MgK α -излучением в спектрометре С-2401) следующий: исходный оротат магния (по содержанию элементов, ат. %): С – $43,5 \pm 2$; О – $35 \pm 1,5$; N – $17,5 \pm 0,8$. После 3-х часов механоактивации: С – 43 ± 2 ; О – $36 \pm 1,5$; N – $17,5 \pm 0,8$. После 6-и часов механоактивации: С – 43 ± 2 ; О – $36 \pm 1,5$; N – $17,5 \pm 0,8$. Анализ спектра оротата магния, полученный на спектрометре ЭС-2401, оснащённом полусферическим энергоанализатором, свидетельствует, что в Cls-спектрах механоактивированного оротата магния

интенсивность составляющей от атомов углерода в составе O=C-N остается относительно высокой. После механоактивации в ИК-спектре образца оротата магния исчезает тонкая структура полос поглощения 950-1100, 1500-1800 и 2800-3700см⁻¹, что может быть следствием индуцированного дипольного взаимодействия с увеличением межмолекулярного расстояния в результате аморфизации. Проведенные прижизненные исследования клеток буккального эпителия при воздействии механоактивированного магния оротата (6 часов обработки) свидетельствуют о повышенной биологической активности препарата (отмечается активация плазмолеммы и ядра), увеличивается доля активных лимфоцитов, регистрируемых по величине амплитуды колебаний в переменном электрическом поле. Подобные изменения объясняются формированием аморфной структуры препарата, ОН-групп взамен С=О при образовании гидроксо-формы оротата, что приводит к увеличению гидрофобности молекул и, как следствие, повышению липофильности, способствующей улучшению проникновения в клетки и усвоения организмом.

МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ ИЗ СЕМЕЙСТВА КАТЕЛИЦИДИНОВ НА БАКТЕРИАЛЬНЫЕ И ЭУКАРИОТИЧЕСКИЕ КЛЕТКИ

Шамова О.В.^{1,2}, Орлов Д.С.^{1,2}, Пазина Т.Ю.¹, Артамонов А.Ю.¹, Жаркова М.С.¹, Юхнев А.В.¹, Кокряков В.Н.^{1,2}

¹ – ФГБУ НИИ Экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург;

² – ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский Государственный университет

Катионные антимикробные пептиды (АМП), содержащиеся в фагоцитах, являются одними из важнейших факторов системы врожденного иммунитета, участвующими в элиминации патогенных микроорганизмов. Многие АМП проявляют токсическое действие и в отношении эукариотических клеток. Целью данной работы явилось сравнительное изучение особенностей механизмов реализации биологической активности структурно отличных АМП из семейства кателицидинов - протегрина 1 (PG1), обладающего конформацией β-шпильки, и обогащенных пролином линейных бактенецинов ChVac5 и ChVac3.4 – в отношении микроорганизмов и культивируемых клеток человека.

Показано, что PG1 характеризуется широким спектром активности, его действие сопровождается повреждением мембран бактериальных клеток и осуществляется в течение 10-15 мин; бактенецины активны преимущественно против грамотрицательных бактерий и проявляют более низкую активность в отношении стафилококков. Антимикробное действие бактенецинов реализуется в течение 60-90 мин и сопровождается

сниженными, по сравнению с PG1, эффектами на барьерную функцию цитоплазматической мембраны *E.coli* ML-35p. Установлено, что пептиды, имеющие различный механизм антимикробного действия, обладают и различным характером воздействия на клетки макроорганизма. Бактенецины демонстрируют низкую гемолитическую активность в отношении эритроцитов человека в концентрациях до 100 мкМ, в то время как PG1 вызывает лизис эритроцитов уже в концентрациях 5-10 мкМ. PG1 и бактенецин ChVac3.4, но не ChVac5, проявляют цитотоксическое действие в отношении культивируемых эукариотических клеток, опухолевых и нормальных. При этом, мембраноактивный пептид PG1 вызывает быструю гибель клеток K-562 (клетки эритроидного лейкоза человека) и U-937 (клетки гистиоцитарной лимфомы человека), не индуцируя в них апоптоз, в то время как бактенецин ChVac3.4, имеющий менее выраженное действие на мембраны бактерий, вызывает гибель клеток-мишеней в течение 3-5 часов и имеет механизм цитотоксического действия, связанный преимущественно с инициацией апоптоза в клетках. Таким образом, ChVac3.4 является единственным из известных обогащенных пролином антимикробных пептидов животного происхождения, обладающим выраженной цитотоксической активностью в отношении клеток млекопитающих. Это свойство пептида, по-видимому, объясняется более высокой по сравнению с другими бактенецинами, в частности ChVac5, гидрофобностью. Полученные данные предоставляют информацию, важную для понимания молекулярных механизмов функционирования эффекторных молекул врожденного иммунитета. Работа поддержана грантами РФФИ № 13-04-02102а; 12-04-01573а; 12-04-01498а.

ВЛИЯНИЕ РАСТЕНИЙ НА ОБРАЗОВАНИЕ БИОПЛЕНОК *CLAVIBACTER MICHIGANENSIS* SSP. *SEPEDONICUS*

Шафикова Т.Н., Орлова О.А., Омеличкина Ю.В., Еникеев А.Г., Волкова О.Д.

Руководитель: Шафикова Т.Н. к.б.н., с.н.с. лаб. Фитоиммунологии
Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН Иркутск, ул.
Лермонтова, 132, 664033.

e-mail: Olga_696@list.ru

Известно, что бактерии в природе существуют не как отдельные клетки, а как сообщества клеток в составе биопленок. Биопленки представляют собой высокоорганизованное микробное сообщество клеток прикрепленных к поверхности или друг к другу и заключенных в матрикс синтезированных ими полимеров. Существование бактерий в составе биопленок обеспечивает им защиту в условиях окружающей внешней среды и в инфицируемых ими макроорганизмах. В настоящее время экспериментально доказана роль микробных биопленок в этиологии и патогенезе инфекционных болезней у

человека. Нельзя исключить также участие биопленок в возникновении и развитии заболеваний у растений. Поэтому не только теоретический, но практический интерес представляет выявление способности к образованию биопленок у фитопатогенов и определения роли биопленкообразования в развитии заболеваний у сельскохозяйственных растений.

Целью исследования явилось выявление образования биопленок бактериальным фитопатогеном *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* (Cms) при взаимодействии с растительным организмом и определение влияния растения на этот процесс.

С помощью световой и флуоресцентной микроскопии был визуализирован процесс формирования биопленок бактериями Cms как на листовой поверхности, так и на клеточных конгломератах суспензионных культур клеток исследуемых растений. Были определены различия в интенсивности биопленкообразования Cms при взаимодействии с культурами клеток растений в зависимости от видовой или сортовой резистентности. Так, при взаимодействии Cms с культурами клеток картофеля (хозяин Cms) восприимчивых сортов (Удача, Лукьяновский, Жуковский ранний) образование биопленок было значительно выше, чем при взаимодействии Cms с устойчивым сортом картофеля (Луговской) и табаком (не хозяин Cms), где образование биопленок было минимальным. Табак не является хозяином Cms и, обладая видовой устойчивостью к Cms, на вторжение патогена отвечает реакцией сверхчувствительности, что сопровождается генерацией метаболитов губительных для патогена и, вероятно, и для образования биопленок. При взаимодействии культур клеток табака и картофеля с патогеном человека и животных *Escherichia coli* интенсивность биопленкообразования не различалась в зависимости от сортовой или видовой устойчивости растений. Таким образом, различные по резистентности виды растений влияют на биопленкообразование нетипичного для растений патогена по однотипным, неспецифическим механизмам.

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ-МАРКЕРОВ И ГЕНОВ-ГОРМОНОВ НА МОЛОЧНУЮ ПРОДУКТИВНОСТЬ КОРОВ

Юльметьева Ю.Р., Шакиров Ш.К., Миннахметов А.Х., *Фатхутдинов Н.Р., *Гафурова Л.И.

ГНУ ТатНИИСХ Россельхозакадемии, *ИФМиБ КФУ

Для анализа состояния селекционно-генетической работы в племязаводе им. Ленина Атнинского района Республики Татарстан генотипировано 160 коров из племенного ядра.

Исследованиями установлена взаимосвязь между генотипами по изучаемым генам с молочной продуктивностью коров. Преобладание генотипов AA в группе животных наблюдается при рассмотрении генов каппа-казеина (71%) и пролактина (77%). В отношении гена бета-

лактоглобулина чаще встречаются гетерозиготный генотип АВ (58%), доля гомозиготных генотипов АА (18%) и ВВ (24%). Распределение генотипов по остальным маркерам предстало следующим образом: по гену GH, LEP и DGAT1 в изучаемой группе преобладали коровы с гетерозиготным генотипом, что соответствует числовым значениям 56%, 58% и 51%.

По локусу гена каппа-казеина (CSN3) с молочной продуктивностью преимущество имели коровы с генотипом ВВ. Так по сравнению с особями с генотипом АА от них получено более жирное молоко на 0,28%, с более высоким содержанием в нем белка на 0,19% ($P \leq 0,01$). По гену бетта-лактоглобулину более высокая молочная продуктивность выявлена у коров с генотипом АА, по сравнению с животными с генотипом АВ их преимущество составило 360 кг молока, что повлияло на выход молочного жира на 19,1 кг и белка на 13,3 кг ($P \leq 0,01$). Аналогичные тенденции наблюдаются и при изучении влияния вариации генотипа по гену пролактину на молочную продуктивность коров. Более высокая молочная продукция получена от животных с генотипом АА. Анализ полиморфного состояния гена соматотропина показало, что более высокая молочная продуктивность наблюдается у коров с генотипом LL, от которых получено по сравнению с животными с гетерозиготным генотипом более жирное молоко на 0,27% и более белковое молоко на 0,13% ($P \leq 0,05$). Однако у коров с генотипом CSN3^{ВВ} обнаружен высокий коэффициент устойчивости лактации.

Изучение генов TG5 и LEP показало, что у особей с генотипом ТТ получено более жирное молоко. При сопоставлении их с коровами с генотипом СС их преимущество составляет 0,55% и 0,05% соответственно. Аналогичная закономерность проявляется и при рассмотрении влияния полиморфизма генотипов гена DGAT1. Особи с DGAT1^{KK} по отношению к коровам с генотипом КА характеризовались более жирномолочными на 0,35% ($P \leq 0,05$).

Исследованиями по изучению полиморфизма и определения аллельных вариантов генов-маркеров молочной продуктивности, выявлена система variability, что свидетельствует о возможности повышения генетического потенциала стада по показателям белкомолочности и жирномолочности молока.

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МЕТАБОЛИТОВ НЕКОТОРЫХ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ ОБРАБОТАННЫХ МАСЛОМ ЧЕРНОГО ТМИНА

С.М.А. Эльшафей, Т.А. Невзорова, А.А. Абдельрахман, Р.И Тухбатова, Е.В. Иванова, Е.А. Акинина, Ю.Е. Воронкова, Ф.К. Алимова

Научный руководитель: Алимова Фарида Кашифовна, Доктор биологичках наук, профессор

Казанский (приволжский) федеральный университет

Тмин черный (*Nigella sativa*) является одной из традиционно используемых трав, с хорошо известными целебными свойствами. С давних времен ученые изучали воздействие черного тмина на человека, особенно в процессе заживления ран. При изучении состава семян тмина было обнаружено, что тмин содержит множество витаминов, минералов и растительного протеина, а также жирные нерастворимые кислоты. Большая часть лечебных свойств этого растения имеется благодаря наличию тимохинона, главного биологически активного компонента эфирного масла.

Целью данной работы явилась хроматографическая характеристика метаболитов *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* и *Aspergillus awamori* до и после обработки маслом *Nigella sativa*.

Все исследуемые штаммы грибов высевали в жидкой среде картофельного глюкоза. Обработку грибов проводили маслом *Nigella sativa*: 50 мкл масла на 50 мл среды. В качестве контроля высевали грибы без масла. На одни сутки помещали грибы в термостат при 28°C. Культивировали их на качалке со скоростью 128 об./мин в течение 7 дней, 28°C. В дальнейшем культуральную жидкость освобождали от мицелия фильтрацией. Метаболиты исследуемых грибов в культуральной жидкости определяли методом гель-фильтрации на хроматографе АКТА™ avant 25, колонка Superose 12 10/300 GL (GE Healthcare, Швеция). Колонку уравнивали 0.05 М фосфатным буфером, 0.15 М NaCl, pH 7.0 при скорости потока 0,5 мл/мин согласно инструкции фирмы производителя.

В результате было выявлено, что масло *Nigella sativa* влияет на состав метаболитов фитопатогенных грибов стимулируя выработку метаболитов нуклеинового и белкового происхождения у *Aspergillus niger* и *Aspergillus awamori* ингибируя выработку данных метаболитов у *Aspergillus flavus* и *Fusarium oxysporum*.

Данные результаты свидетельствует о том, что масло черного тмина отменяет и/или стимулирует выработку у некоторых фитопатогенных грибов определенных веществ, которые могут влиять на фитотоксическую или антагонистическую активность гриба.

Содержание

Marvin h. Caruthers Oligonucleotide synthesis interfaced with molecular biology and nanotechnology	21
Ismail Amal, Yasmine Chebaro, Annick Dejaegere, Roland H. Stote Mechanisms of allosteric regulation in nuclear receptor proteins elucidated by molecular dynamics simulations	22
Алимов А.М Достижения казанской школы ветеринарных биохимиков	23
Абаленихина Ю.В. Влияние модуляторов синтеза оксида азота на окислительную модификацию белков спленоцитов крыс	24
Абрамова З.И., Скибо Ю.В. биохимические аспекты аутофагии в патогенезе заболеваний (на модели т-лимфоцитов больных атопической бронхиальной астмой)	25
Аганова О.В., Галиуллина Л.Ф., Аганов А.В., Пугачев М.В., Штырлин Н.В., Штырлин Ю.Г., Ключков В.В. Исследование конформационной структуры и динамики новых четвертичных фосфониевых солей методами ямр спектроскопии	30
Атауллаханов Ф.И. Новая концепция гемостаза. Клинические аспекты	31
Аюпов Р.Х. Моделирование взаимодействия фермент-лигандного комплекса у входа в канал, ведущий в активный центр ахэ	39
Байгильдина А.А. Система «тканевой активатор плазминогена - ингибитор активаторов плазминогена 1 типа» при геморрагической лихорадке с почечным синдромом	44
Балуева М.В., Молостова О.О., Гаврилов И.В. Метаболиты нейронов и тироцитов как потенциальные биохимические предвестники старения	45
Басов А.А., Мелконян К.И., Литвинова М.Г., Быкова Н.И. Изменение содержания цитокинов и активности ферментного звена антиоксидантной системы в ротовой жидкости при ишемической болезни сердца с нормальным и нарушенным углеводным обменом	46
Баташева С.Н., Бакирова Г.Г., Саяхова Г.А., Хамидуллина Л.А., Шамова Л.И., Чиков В.И. Участие инвертазы клеточной стенки в ингибировании транспорта фотоассимилятов в условиях повышенного нитратного питания растений	48

Бахтюков А.А., Галкина О.В., Ещенко Н.Д. Активность супероксиддисмутазы в субклеточных фракциях головного мозга и печени крыс в ходе раннего постнатального развития	49
Абрамова З.И., Алимова Ф.К., Барсуков А.К., Боталова И.А., Бохан А.Н., Желтышев Е.Н., Зарубаев В.В., Кожевникова О.В., Кузнецов А.И., Макарова Е.А., Минаева Е. В., Нестерова О.Ю., Полещук Л.Ф., Решетников С.М., Слита А.В., Тойдорова А.А., Шарафуллин Х.Х., Шульц В.Л. Безопасно-бесконфликтное развитие прикладной направленности наук для обеспечения надлежащего качества биотехнологических нововведений	50
Абрамова З.И., Алимова Ф.К., Барсуков А.К., Боталова И.А., Бохан А.Н., Желтышев Е.Н., Зарубаев В.В., Кожевникова О.В., Кузнецов А.И., Макарова Е.А., Минаева Е. В., Нестерова О.Ю., Полещук Л.Ф., Решетников С.М., Тойдорова А.А., Шарафуллин Х.Х., Шульц В.Л. Неопределённости теоретических воззрений современной биохимии, генерируемые частными достижениями геномных и постгеномных исследовательских технологий	53
Бахтюков А.А., Галкина О.В., Ещенко Н.Д. Активность супероксиддисмутазы в субклеточных фракциях головного мозга и печени крыс в ходе раннего постнатального развития	55
Бикмуллин А.Г., Усачев К.С., Аганов А.В., Клочков В.В., Алимова Ф.К. Анализ гидролиза белков на основе ¹H спектроскопии ямр	56
Блохин Д.С., Филиппов А.В., Анцуткин О.Н., Клочков В.В. Структура начального фрагмента рар248-261 вич-активного пептида рар248-286 в растворе и в комплексе с модельными мембранами	60
Бобров Е. А., Чихиржина Г. И. Распределение транскрипционных факторов семейства nf1 в хроматине регуляторной области гена триптофандиоксигеназы (tdo) при транскрипции in vivo	61
Бокша И.С, Бурбаева Г.Ш., Савушкина О.К., Терешкина Е.Б. Применение данных об активности тромбоцитарных ферментов в целях предикции эффективности антипсихотической фармакотерапии больных шизофренией	62
Бурова Ю.А., Ибрагимова С.А. Изучение биологически активных веществ бактерии	63

pseudomonas aureofaciens	
Ветрова О.В, Тюлькова Е.И. Особенности активности системы фосфоинозитидов в гиппокампе крыс, подверженных тяжелой гипоксии на разных сроках перинатального развития	64
Вихнина В.М., Романовская Е.В., Чихиржина Г.И., Участие транскрипционных факторов семейства nf1 в формировании структуры хроматина регуляторной области гормон-зависимого гена триптофандиоксигеназы	66
Галимов Ш.Н., Галимова Э.Ф. Убихинон ограничивает степень окислительного повреждения днк сперматозоидов при идиопатическом бесплодии	67
Гришина Т.В., Мюльберг А.А. Низкомолекулярные белки из ядер клеток головного мозга и селезенки иммунизированных крыс, активирующие экспрессию гена интерлейкина-2	68
Гусев О.А., Шагимарданова Е., Евтюгин В., Такахиро Кикавада Биохимия выживания: метаболические адаптации личинок криптобиотического насекомого к полному обезвоживанию	69
Довженко Н.А. Поверхностное натяжение сыворотки крови как интегральный показатель физиолого-биохимического статуса собак	71
Жданов Р.И., Ибрагимова М.Я. Ассоциация кардиолипина с днк по данным Физико-химических методов	72
Зайцев С. Ю. Супрамолекулярные биохимические системы для биологии, бионанотехнологии и медицины	77
Ибрагимова М.Я., Скальный А.В; Ибрагимов Я.Х., Валеева И.Х., Жданов Р.И. Металлом и пероксилипидом при действии лекарственных препаратов с мутагенным эффектом	78

Иванова В.В., Рябичко С.С., Невзорова Т.А., Богданов М.В., Алимова Ф.К. Кардиолипиды участвуют в стабилизации мембранных белковых комплексов e.coli	80
Каминская Л.А., Мещанинов В.Н. Перспективы протеомики в современном медицинском образовании	81
Клочков В.В., Блохин Д.С., Галиуллина Л.Ф., Ефимов С.В., Усачев К.С. Исследование пространственного строения олигопептидов и лекарственных препаратов в растворах и в комплексах с модельными мембранами современными методами ямр спектроскопии	85
Козлова О.С., Коннова Т. А., Галиева А.Р., Алишева Д. А., Тарасов Д. С. Создание силовых полей методом символьной регрессии на примере системы из 3 атомов газообразного ар	89
Коннова С.А., Федоненко Ю.П., Игнатов В.В. Гликополимеры поверхности бактерий рода azospirillum, структурные особенности и роль в коммуникации организмов	90
Соновалов А.И. Наноассоциаты – носители биоэффектов, проявляемых коразбавленными водными растворами	91
Куликов А.В., Архипова Л.В., Куликов Д.А., Смирнова Г.Н., Куликова П.А., Филюшкин Ю.Н. Машков А.Е. Разработка новых способов компенсации патологических состояний. Биохимический, физиологический и медицинский аспекты	91
Котряхова Е.Н., Прияткина Т.Н. Получение трёх субфракций фрагментов активного хроматина после мягкой ультразвуковой обработки ядер клеток печени крыс	92
Фатеева С.Е., Курдюмова И.В., Леонова Л.Е. Сравнительная характеристика катионных фракций белков и пептидов зрелого молока и сыворотки молока человека	93
Медведев Д.В. Влияние повышенного уровня гомоцистеина в сыворотке крови на метаболизм митохондрий сердца крыс	94

Минин В.В., Ибрагимов М.С., Гаврилов И.В., Жарков С.В., Милащенко А.И., Мороз Г.А., Козлов П.А. Динамика лабораторных показателей при различных вариантах терапии нестабильной стенокардии в сочетании с метаболическим синдромом	96
Меньшикова И.А., Бикметова Э.Р., Камилев Ф.Х., Иванова Г.В., Фаршатов Е.Р. Эффективность действия кальций-маг на метаболизм костной ткани крыс при хронической интоксикации хлорпроизводными алифатических углеводов	97
Мешкова Е.М. Томилова И.К. Содержание катехоламинов в головном мозге плодов и новорожденных крысят, развивавшихся в условиях нарушенного маточно-плацентарного кровообращения	98
Морозова Ю.А. Гидролитическая активность микромицета <i>trichoderma reesei</i>	99
Мухаметшина Р.Т., Мехта А., Прайснер К.Т., Баррето Г., Багаева Т.В. Роль экспрессии гена интегрин бета 2 в газообмене клеток легких мыши	100
Надеева Г.В., Яковлева Г.В. Анализ микробной деструкции старотатарских рукописей	107
Назарова А.И. Метод поверхностного плазмонного резонанса для исследования межмолекулярных взаимодействий	108
Нурбеков М.К., Ярыгин Д.В., Елов А.А., Жданов Р.И. Триптофанил-трип-синтетаза как важный элемент персонифицированной медицины в аспекте концепции «гормезиса»	109
Омеличкина Ю.В., Солдатенко А.С., Бояркина С.В., Шафикова Т.Н. Индукция экзометаболитами <i>clavibacter michiganensis ssp. Sepedonicus</i> системной приобретенной устойчивости растений	110
Осипова Е.В., Гоголев Ю.В. Эволюция ферментов липоксигеназного каскада	111

Офицеров Е.Н., Миронов В.Ф., Калистратова А.В. О природе и роли отрицательного альфа-эффекта в химии, биохимии и токсикологии	112
Пантелеев М.А., Артеменко Е.О., Захарова Н.В., Котова Я.Н., Обыденный С.И., Подоплелова Н.А., Свешникова А.Н., Якименко А.О. Механизмы взаимодействия белков системы свертывания крови с тромбоцитами	114
Пиняев С. И., Максимов Г. В., Ревин В. В., Громова Н. В. Исследование нервной системы пиявки с помощью флуоресцентных зондов	115
Поляновский О.Л. В.А. Энгельгардт и А.А.Баев. Наука и жизнь	116
Рахматуллин И.З., Галиуллина Л.Ф., Гарипов М.Р., Стрельник А.Д., Штырлин Ю.Г., Клочков В.В., Клочков В.В. Динамическое ямр исследование семичленных производных пиридоксина	117
Романова И.В; Алимова Ф.К. Влияние почвенных микромицетов рода trichoderma и fusarium на активацию фенольного метаболизма cucumis sativus	118
Романовская Е.В., Фролов В.В. Перспективы использования методов многомерной ямр-спектроскопии для изучения молекулярных механизмов специфического взаимодействия транскрипционного фактора семейства nfi с днк	119
Серебряйский И.Г. Системная биология: перспективы и проблемы	120
Соболева А.В., Колобов А.А., Гришина Т.В. Изучение низкомолекулярных пептидов из культуры lactobacillus plantarum 8pa-3	123
Стефанов В. Е. Использование методов моделирования и вычислительной химии - как вектор в развитии научных исследований и модернизации учебного процесса на кафедре биохимии спбгу	124

Сычев К.В., Конохов Г.В., Низамов Р.Н., Тарасова Н.Б. Влияние гетерологичного глобулина на метаболизм радионуклидов в организме	126
Гухбатова Р. И., Кравцова О. А., Газимзянов И. Р., Фаизов Т. Х., Алимова Ф. К. Применение молекулярного подхода для описания инфекций в археологических памятниках	127
Усачев К.С., Абдрахманов Р.Ж., Колосова О., Филипов А.В., Анцуткин О.Н., Ключков В.В Структура амилоидогенных аβ пептидов в комплексе с модельными мембранами	128
Хайрутдинов Б.И., Зуев Ю.Ф. Современные методы спектроскопии ямр в изучении пространственного строения белков	129
Хазипов Н.З., Закирова З.Р., Шаева А.Ю., Вафин Р.Р., Зайнуллин Л.И. Генотипирование изолятов bovine leukemia virus, выявленных в республике татарстан	130
Хаммадов Н.И., Алексадрова Н.М., Усольцев К.В., Семенова М.Е., Фаизов Т.Х. Генотипирование микобактериальных патогенов путем анализа региона is6110	131
Чайка А.М., , Иванов А.М. Академик а.я. данилевский – создатель физиологохимической научной школы в россии	132
Черёмин А.М., Захарова М.В. Картирование промоторных областей генов сериновых протеиназ bacillus pumilus	134
Черенков И.А., Кропачева Т.Н., Сергеев В.Г., Перевозчиков Е.А. Циклическая вольтамперометрия в исследовании окислительной активности иммобилизованных микробных клеток	135
Чучкова Н.Н., Канунникова О.М., Соловьев А.А., Канунников М.М., Аксенова В.В., Мухгалин В.В., Комиссаров В.Б., Кормилина Н.В. Механоактивация магния оротата приводит к повышению содержания гидрокси-форм оротат-аниона и биологической активности препарата	136

Шамова О.В., Орлов Д.С., Пазина Т.Ю., Артамонов А.Ю., Жаркова М.С., Юхнев А.В., Кокряков В.Н. Механизм действия антимикробных пептидов из семейства кателицидинов на бактериальные и эукариотические клетки	137
Шафикова Т.Н., Орлова О.А., Омеличкина Ю.В., Еникеев А.Г., Волкова О.Д. Влияние растений на образование биопленок <i>clavibacter michiganensis ssp. Sepedonicus</i>	138
Юльметьева Ю.Р., Шакиров Ш.К., Миннахметов А.Х., Фатхутдинов Н.Р., Гафурова Л.И. Влияние полиморфизма генов-маркеров и генов-гормонов на молочную продуктивность коров	139
Эльшафей С.М.А., Невзорова Т.А., Абдельрахман А.А., Тухбатова Р., Иванова Е.В., Акинина Е.А., Воронкова Ю.Е., Алимова Ф.К. Хроматографический анализ метаболитов некоторых фитопатогенных грибов обработанных маслом черного тмина	140

БИОХИМИЯ – ОСНОВА НАУК О ЖИЗНИ: Международный симпозиум, посвященный 150-летию образования кафедры биохимии Казанского университета: сборник трудов (Казань, 21-23 ноября 2013 г.) / ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», кафедра биохимии; сост. Акберова Н.И. – Казань, 2013. – 151 с.

ISBN 978-5-9905051-1-7.

Спонсоры

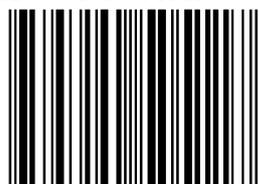


ХИМЭКСПЕРТ



Agilent Technologies

ISBN 978-5-9905051-1-7



9 785990 505117