



СОЦИАЛЬНО-ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ БАЙКАЛЬСКОГО РЕГИОНА И СОПРЕДЕЛЬНЫХ ТЕРРИТОРИЙ



ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ V ВСЕРОССИЙСКОЙ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ СТУДЕНТОВ, АСПИРАНТОВ И МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ,

посвящённой 120-летию со дня рождения профессора Е. В. Талалаева
Иркутск, 22 апреля 2022 г.



ISBN 978-5-9624-2095-0

Печатается по решению
ученого совета биолого-почвенного факультета ИГУ

Редакционная коллегия:

*А. Н. Матвеев, Е. А. Мишарина, А. В. Лиштва, О. Ф. Вятчина, В. П. Саловарова,
А. В. Третьякова, И. Н. Гутник, А. А. Приставка, Н. Д. Киселева, И. О. Батранина*

Социально-экологические проблемы Байкальского региона и сопредельных территорий : материалы V Всероссийской с международным участием научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. Иркутск, 22 апреля 2022 г. / ФГБОУ ВО «ИГУ» ; редкол.: А. Н. Матвеев [и др.] – Иркутск : Издательство ИГУ, 2022. – 1 электронный оптический диск (CD-ROM). – Заглавие с этикетки диска.

ISBN 978-5-9624-2095-0

Публикуются тезисы докладов, представленных на V Всероссийской с международным участием научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, посвященной обсуждению актуальных проблем биологии, экологии и почвоведения.

Предназначено для преподавателей высших учебных заведений, научных сотрудников, аспирантов, студентов магистратуры и бакалавриата, интересующихся актуальными проблемами и разработками в различных областях биологии, экологии и почвоведения.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Иркутский государственный университет»

664003, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 1; тел. +7 (3952) 51-19-00

Издательство ИГУ, 664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 124

тел. +7 (3952) 52-18-53; e-mail: izdat@lawinstitut.ru

Подписано к использованию 18.11.2022. Тираж 15 экз. Объем 13,5 Мб.

Тип компьютера, процессор, частота:	32-разрядный процессор, 1 ГГц или выше
Оперативная память (RAM):	256 МБ
Необходимо на винчестере:	320 МБ
Операционные системы:	ОС Microsoft® Windows® XP, 7, 8 или 8.1. ОС Mac OS X
Видеосистема:	Разрешение экрана 1024x768
Акустическая система:	Не требуется
Дополнительное оборудование:	Не требуется
Дополнительные программные средства:	Adobe Reader 6 или выше

Авторы благодарят Вишнякова Василия Сергеевича за помощь в идентификации видов *Draparwaldioides* sp.

Список литературы

1. Ижболдина Л. А. Атлас и определитель водорослей бентоса и перифитона озера Байкал (мей- и макрофиты) с краткими очерками по их экологии. Новосибирск : Наука, 2007. 248 с.
2. Nelson M. M., Phleger C. F., Nichols P. D. Seasonal lipid composition in macroalgae of the northeastern Pacific Ocean // *Botanica Marina*. 2002. Vol. 45. P. 58–65.

Научные руководители: д-р биол. наук, доцент Грабельных О. И., д-р биол. наук, профессор Тимофеев М. А.

УДК 577.21

ПОЛУЧЕНИЕ ВЕКТОРНОЙ КОНСТРУКЦИИ С ГЕНОМ *CTL2* ИЗ АМФИПОД ВИДА *EULIMNOGAMMARUS VERRUCOSUS*

А. Д. Власевская, Е. Д. Золотовская, П. Б. Дроздова, Ю. А. Лубяга

Иркутский государственный университет, г. Иркутск, Россия
ananastasi.vl@gmail.com

Rapid determination of the immune response can speed up many environmental monitoring processes. This work is the first step in the study of a potential pattern-recognition receptor CTL2 in Baikal endemic amphipods.

Озеро Байкал представляет собой уникальную среду обитания, разнообразие организмов которого поражает своей вариативностью. Особый интерес вызывают представители ракообразных – амфиподы, широко представленные в озере (около 350 видов и подвидов [1]). Высокое видовое разнообразие может приводить к приобретению отличий в системе иммунной защиты. Механизмы иммунного ответа активируются, когда ассоциированные с патогеном молекулярные структуры распознаются белками-рецепторами, циркулирующими во внутренней среде или расположенными на поверхности иммунных клеток хозяина. Паттерн-распознающие рецепторы – особый класс белковых молекул, способных узнавать консервативные молекулярные структуры (паттерны), характерные для патогенных микроорганизмов. К таким рецепторам относятся лектины. Лектинами называют белки, которые способны вызывать агрегацию остатков углеводов на поверхности микроорганизмов, тем самым выполняя функцию распознавания [2]. Так, белок CTL2 (рис. 1), обнаруженный в протеоме иммунных клеток эндемичных амфипод вида *Eulimnogammarus verrucosus* является потенциальным лектином. Изучение функций паттерн-распознающих рецепторов эндемичных байкальских ам-

филод необходимо для разработки методов быстрого определения иммунного ответа организма амфилод *in vitro* в отношении инородных объектов.

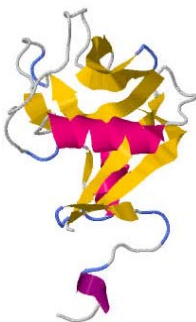


Рис. 1. Визуализация 3Д-структуры белка CTL2, полученная при помощи сервера Phyre v2.0

Таким образом, целью данной работы было создание векторной конструкции, содержащей ген *CTL2*, выделенный из эндемичных байкальских амфилод вида *Eulimnogammarus verrucosus*.

Отлов амфилод проводили в прибрежной зоне оз. Байкал в районе пос. Листвянка. Аклимацию ракообразных осуществляли в аэрируемых аквариумах при температуре 6 °С в течение 4 сут. На первом этапе работы из амфилод выделяли общую РНК, с последующим синтезом кДНК. Для амплификации гена интереса были сконструированы праймеры, специфичные к *CTL2*. Последовательности прямого и обратного праймеров подбирали на 5' и 3' кодирующие области транскрипта GHHK01014723, таким образом, чтобы содержание оснований Г и Ц находилось в пределах 40–60 %, длина праймера не превышала 35 п.н., а разница температуры отжига не превышала 2 °С. В последовательности праймеров также были внесены сайты рестрикции, необходимые для клонирования целевого гена в вектор. Дизайн праймеров *in silico* осуществляли с использованием программы SnapGene Viewer 5.2.4. Полученный ПЦР-продукт клонировали в коммерческий вектор pAL2-T (Евроген, Россия). Данный вектор содержит ген устойчивости к антибиотику ампициллину, а также ген *lacZ*, что дает возможность проведения бактериальной селекции. Полученной лигазной смесью были трансформированы клетки бактерий *Escherichia coli* штамма XL10-Gold. Несколько колоний, отобранных с помощью бело-голубой селекции, были проверены методом ПЦР на наличие вставки гена *CTL2*. Колонии, содержащие ген интереса, нарабатывали в жидкой среде, с последующей очисткой плазмид. С полученными плазмидами pAL2-T-CTL2 проводили проверочную ПЦР, с праймерами, специфичными к гену интереса, рестрикцию и секвенирование.

В ходе работы были сконструированы праймеры к гену интереса *CTL2*, а также подобраны оптимальные условия работы данных праймеров. Получена плаزمиды на основе промежуточного вектора pAL2-T (рис. 2), содержащая ген лектин-подобного белка CTL2. Результаты секвенирования pAL2-T-CTL2 показали наличие нуклеотидных замен в гене интереса, которые привели к замене 2 аминокислот. Тем не менее, данные замены не приводят к дестабилизации белка и не изменяют его свойства. Полученная генетическая конструкция будет использована для переноса гена интереса *CTL2* в окончательную плазмиду pPB-pCoBlast-actin5c-mScarlet, для изучения свойств белка интереса, как паттерн-распознающего рецептора, с использованием гетерологичной экспрессии в клеточных культурах.

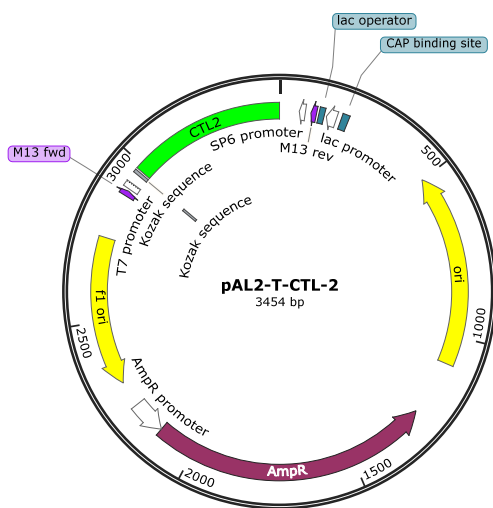


Рис. 2. Карта векторной конструкции pAL2-T-CTL2

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Иркутской области в рамках научного проекта № 20–44–383007.

Список литературы

1. Базикалова А. Я. Амфиподы озера Байкал // Труды Байкальской лимнологической станции. 1945. Т. 11. С. 1–440.
2. Drickamer K., Dell A., Fadden A. J. Genomic analysis of C-type lectins // Biochemical Society Symposia. Portland Press, 2002. Vol. 69. P. 59–72.

Научный руководитель: директор НИИ биологии ФГБОУ ВО «ИГУ», заведующий лабораторией «Стресс-физиологии и перспективных биотехнологий», д-р биол. наук, профессор Тимофеев М. А.